

УДК 551.465

ЦЕНОЗЫ ФОТОТРОФНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ УЛЬТРАГАЛИННЫХ ОЗЕР КУЛУНДИНСКОЙ СТЕПИ (АЛТАЙСКИЙ КРАЙ, РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ)

© 2016 г. Ф. В. Сапожников¹, О. Ю. Калинина¹, М. А. Никитин², О. С. Самылина³

¹Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва

²Научно-исследовательский институт Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, МГУ

³Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр,
“Фундаментальные основные биотехнологии” РАН, Москва

e-mail: fil_aralsky@mail.ru

Поступила в редакцию 19.06.2014 г.

После доработки 29.01.2015 г.

В 2011 и 2012 гг. экспедиции ИНМИ РАН доставили образцы альго-бактериальных матов из содовых озер Кулундинской степи (Петуховского содового, Танатар VI и Горчина III). Эдификатором матов служила нитчатка *Stenocladus circinnatus* (Chlorophyta). Также в состав альго-компоненты ценозов входили хлорофиты *Dunaliella viridis* и *Picocystis salinarum*, диатомеи *Anomeoneis sphaerophora*, *Brachysira brebissonii*, *B. zellensis*, *Mastogloia pusilla* var. *subcapitata*, *Nitzschia amphibia*, *N. cf. communis*, *Nitzschia* sp. 1. Состав и структура ценозов фототрофных водорослей (в т.ч. диатомовых таксоценов) описаны для изученных озер впервые. С 2011 на 2012 гг. в озерах существенно выросла общая минерализация. Это повлекло ощутимые перестройки ценозов. Самым постоянным компонентом диатомовых таксоценов в оба сезона была *B. zellensis*. Летом 2011 г. ей часто сопутствовали *A. sphaerophora* и *B. brebissonii*. Летом 2012 г. *A. sphaerophora* отмечен единично в оз. Горчина III, а в отдельных биотопах оз. Танатар VI в массе жила *N. cf. communis* — в т.ч. в колониях, не описанных ранее для вида. Генетический анализ трех диатомей, хорошо различимых внешне и взятых из разных озер, но определенных как *Nitzschia cf. communis*, показал их 100%-ное сходство между собой по фрагменту гена 18S рРНК — и наибольшее сходство всех трех с видом *Nitzschia communis*.

DOI: 10.7868/S0030157416010172

ВВЕДЕНИЕ

Природными примерами ультра-минерализованных водных местообитаний аталассофильного происхождения, имеющих стабильно высокий рН около 10, являются содовые озера. В своем происхождении и распространении такие водоемы связаны с аридными зонами. Расположенные в криоаридном климате содовые озера Кулундинской степи являются примером ультрагалинных содовых озер на территории России.

Эти озера отличаются переменным гидрологическим режимом, а также существенным перепадом температуры и минерализации воды по сезонам.

Рассолы всегда остаются содовыми, но меняется баланс карбонат/бикарбонат ионов при незначительных колебаниях рН (9.7–10.5).

В этих местообитаниях способны развиваться экстремофильные альгоценозы, оксигенными продуцентами которых служат цианобактерии и водоросли.

Исследования альгологического и микробного разнообразия содовых озер Кулундинской степи

проводят с начала XX века [6, 3, 1, 2, 8]. Были описаны доминирующие формы синезеленых и зеленых водорослей. Присутствие диатомей было отмечено, однако их состав и структуру ценозов не изучали.

Целью данной работы является описание состава и структуры диатомовых таксоценов содовых озер Кулундинской степи (по материалам экспедиций 2011–2012 гг.), а также изменений, произошедших в диатомовой флоре озер при увеличении солености.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучали образцы плавающих фототрофных сообществ, собранные в ходе экспедиций ИНМИ РАН в начале июля 2011 и конце июня 2012 гг., из 3-х содовых озер Кулундинской степи (рис. 1): Петуховское содовое (Ключевской р-н, Алтайский край), Горчина III и Танатар VI (Михайловский р-н, Алтайский край).

Показатели рН и общей минерализации были измерены Д.Ю. Сорокиным (ИНМИ РАН) в по-

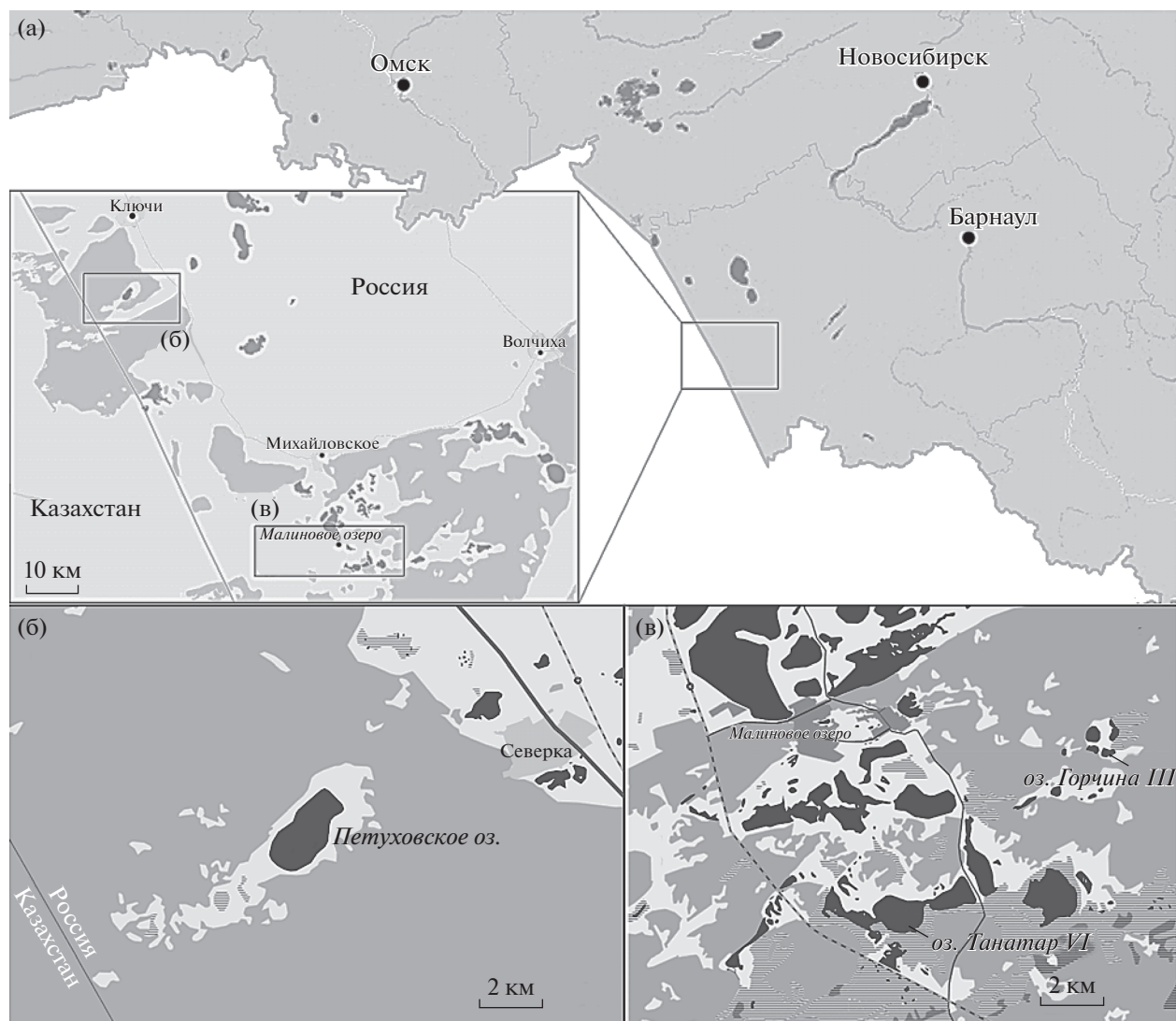


Рис. 1. Схема географического расположения ультраминерализованных озер Кулундинской степи, на которых был отобран материал для изучения альгоценозов. “а” – расположение района изученных озер относительно крупных населенных пунктов Юга Западной Сибири. На врезках: (б) – оз. Петуховское, (в) – озера Танатар VI и Горчина III.

левых условиях с помощью потенциометра-кондуктометра (WTW, Germany). Значения растворимой карбонатной щелочности в разных местобитаниях были измерены им с применением метода титрования рассолов 1 М HCl, по методикам, описанным ранее [9].

Пробы биомассы фототрофных сообществ отбирали в стерильные пластиковые пробирки из нагонных скоплений у берега, а на оз. Танатар VI также с влажного ила среди зарослей солероса (*Salicornia altaica* Lomon.) на берегу озера. Живые образцы в воде из озера, предназначенные для выделения культур, хранили в пластиковых пробирках в объеме, не превышающем половины объема пробирки. Параллельные пробы фиксировали добавлением 96%-го этанола в объемном соотношении 1 часть этанола на 4 части биомас-

сы. Данный способ фиксации приведен в Диатомовом сборнике [4]. Наши наблюдения показывают, что при фиксации сильно минерализованных проб даже слабым раствором формальдегида, происходит выпадение кристаллической массы карбонатов и сульфатов из раствора. Это затрудняет разбор и идентификацию микроводорослей. Поэтому в качестве фиксатора был использован этанол.

Выделение альгологически чистых культур диатомей проводили из накопительных культур, полученных при росте на карбонатных средах, имитирующих состав воды содовых озер. Для этого из накопительных культур производили последовательные высевы на агаризованную селективную питательную среду, на чашки Петри. Из колоний, выросших на чашках Петри, затем делали отсевы

на пробирки с косым агаром, приготовленным на элективной питательной среде. После соответствующей инкубации, спустя 1–2 недели, все посе́вы контролировали на чистоту. Также критерием альгологической чистоты культур послужили результаты молекулярно-генетических исследований, не показавшие загрязнения культур чужеродной эукариотической ДНК.

Таксономическую принадлежность диатомей (Bacillariophyta), динофлагеллят (Pyrrophyta) и эвгленофитов (Euglenophycota) определяли по живому и фиксированному этанолом материалу. Использовали микроскопы Leica DMLS и Leica DM 2500 с рабочим увеличением для идентификации $\times 1000$.

Попытка создания постоянных препаратов, с выжиганием панцирей диатомей от органической компоненты с применением холодной обработки концентрированной азотной кислотой, не принесла ожидаемых результатов. Створки от мертвых панцирей *Brachysira* и *Anomoeoneis*, а также панцири клеток этих видов, бывших живыми в момент фиксации, растворялись. Сохранялись лишь панцири видов *Nitzschia*. При обработке этим методом панцирей из других местообитаний, включая гипер- и ультрагалинные, такие как Большое Аральское море и прилегающие водоемы, панцири сохранялись во всем видовом и размерном диапазоне. Для оценки элементного состава и соотношения химических элементов в структуре панцирей была применена процедура микрозондирования с использованием СЭМ “LEO”. Результаты микрозондирования показали, что в панцирях *Brachysira* из рассматриваемых озер содержание Si составляло от 0.11 до 1.44% по весовой доле. В панцирях видов *Nitzschia* содержание Si было более 2.3% по весовой доле. Для сравнения, по нашим результатам для диатомей из Большого Арала содержание Si в створках составляло 4.5–13.9% по весовой доле. Возможно, что метод очистки азотной кислотой не подходит для панцирей *Brachysira* и *Anomoeoneis* из трех изученных озер Кулундинской степи, поскольку содержание Si в них слишком низкое, ввиду чего они растворяются целиком.

Виды диатомей определяли по морфологии и орнаментации панцирей на сыром материале. Молекулярно-генетическая идентификация была произведена для штаммов *Nitzschia* cf. *communis*, выделенных из различных озер. В качестве генетического маркера нами был выбран ген рибосомной РНК малой субъединицы (18S), наиболее широко используемый в мировой практике для идентификации видов и реконструкции филогенетических отношений различных групп эукариот, в том числе диатомовых водорослей [14, 28]. Выделение ДНК производили с использованием набора DiatomDNAprep 100 (Изоген). Фрагмент

гена рибосомной РНК малой субъединицы (18S) был амплифицирован с помощью стандартных праймеров Q5 (GTATCTGGTTGATCCTGCCAGT) и Q39 (TAATGATCCWTCYGCAGGTTCCACCTAC) и набора реактивов для ПЦР Encyclo PCR kit (Евроген). Использовали следующую программу амплификации: 95°C – 3 мин; 38 циклов (93°C – 20 с, 56°C – 30 с, 72°C – 1.5 мин), 72°C – 5 мин. Продукты ПЦР были очищены препаративным электрофорезом в агарозном геле и секвенированы на капиллярном секвенаторе в ЦКП “Геном” (г. Москва). Отдельные чтения были собраны в контиг в программе SeqMan. Для построения филогенетического дерева использовали 13 последовательностей из баз данных, включая 8 определенных до вида представителей рода *Nitzschia* и 2-х представителей других родов (*Tryblionella* и *Bacillaria*). Выравнивание нуклеотидных последовательностей генов 18S рРНК различных штаммов диатомей производили в программе MEGA 5.1 [31] при помощи алгоритма Muscle [12]. Филогенетические деревья были построены также в программе MEGA 5.1 двумя алгоритмами: Neighbor-Joining [29] и Maximum Likelihood, [22] с использованием гамма-распределения скоростей эволюции по сайтам и наличия инвариантных сайтов (GTR+I). Для оценки статистической достоверности деревьев было проведено 100 реплик бутстрэпа.

Таксономическую принадлежность цист хризомонад (Chrysophyta), формирующихся при высокой солености и имеющих ряд существенных отличий от диагноза [5], не определяли.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В изученных озерах обнаружено несколько типов фототрофных сообществ (табл. 1, [9]):

1) Цианобактериальные биопленки, где эдификаторами являются нитчатые цианобактерии *Geitlerinema* sp. группа IV по [23] и *Nodosilinea* sp. [24]. В исследуемых озерах такие биопленки были обнаружены только в оз. Танатар VI в 2011 г.

2) Альго-бактериальные, с нитчатой эукариотной водорослью *Ctenocladus circinnatus* в качестве эдификатора, среди нитей которой развиваются другие фототрофы – цианобактерии, диатомей и т.д. (Петуховское содовое, Горчина III, 2011 и 2012 гг.). Массовое развитие этого вида было также отмечено ранее в ультрагалинном оз. Моно, в Северной Америке [17].

3) Планктонные, с массовым развитием одноклеточной эукариотной *Picocystis salinarum* (Танатар VI, 2012).

Таким образом, альгологический состав фототрофных сообществ исследованных содовых озер был представлен эукариотными и прокариотными формами.

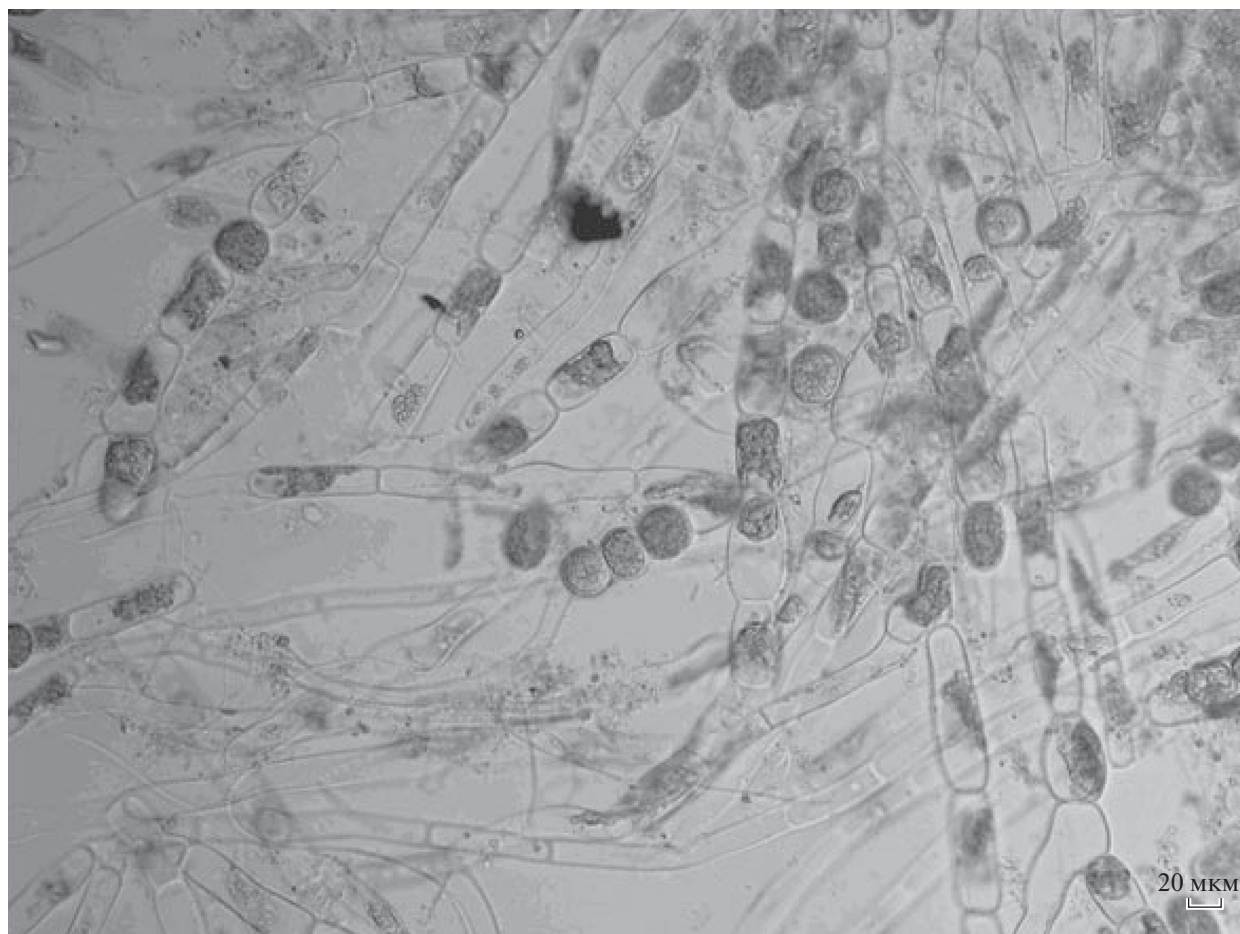


Рис. 2. Нитчатая зеленая макроводоросль *Ctenocladus circinnatus* Borzì (фрагмент при увеличении в 400 раз) из Петуховского содового озера, Кулундинская степь (2011 г.) [9].

Наибольшее разнообразие и обилие диатомовых водорослей было обнаружено нами в составе альго-бактериальных сообществ с эдификатором *C. circinnatus* (рис. 2).

Фототрофные сообщества, эдификатором которых является *C. circinnatus*, представляют собой

альго-бактериальные агрегаты, плавающие во всей толще рассола и часто образующие нагонные скопления с наветренной стороны озера, где фитобиомасса концентрируется и уплотняется [9]. Такую картину мы наблюдали в 2011 г. в Петуховском содовом озере и в Горчине III при минерализации

Таблица 1. Изученные озера и альгоценозы, отмеченные для них в разные годы наблюдений. Карбонатную щелочность определяли титрованием по фенолфталеину, бикарбонатную щелочность – титрованием по метилоранжу

Озеро		Петуховское содовое		Горчина III		Танатар VI	
Год		2011	2012	2011	2012	2011	2012
pH		10.18	9.80	10.30	9.90	10.04	9.80
Общая минерализация, г/л		100	200	90	200	160	250
Щелочность, М	Na ₂ CO ₃	0.96	2.4	0.80	2.6	1.3	3.2
	общая	1.11	2.7	1.0	3.0	1.7	3.4
Альгоценозы (по преобладающим фототрофам)		Сплавина из <i>C. circinnatus</i> и цианобактерий <i>Geitlerinema</i> , <i>Nodosilinea</i>		Сплавина из <i>C. circinnatus</i> и цианобактерий <i>Geitlerinema</i> , <i>Nodosilinea</i>		Придонные и плавающие биопленки с преобладанием <i>Geitlerinema</i> и <i>Nodosilinea</i> , присутствует <i>C. circinnatus</i>	
						Цветение <i>Picocystis salinarum</i> в планктоне	

Таблица 2. Общий видовой список диатомей – представителей класса Bacillariophyceae, обитавших в озерах Петуховском, Горчина III и Танатар VI в летние периоды 2011–2012 гг. Для каждого вида приведена его краткая экологическая характеристика

№	Вид или разновидность	Экологическая характеристика
1	<i>Anomeoneis sphaerophora</i> (Ehrenberg) Pfitzer	Интропсаммический вид, часто населяет соленые континентальные водоемы
2	<i>Brachysira brebissonii</i> R. Ross in Hartley	Эпипсаммические и эпифитные виды, способны к образованию колониальных поселений (клетки сидят на концах полимерных тяжей), эвригалоб
3	<i>Brachysira zellensis</i> (Grunow) Round & D.G. Mann	
4	<i>Mastogloia pusilla</i> Grunow var. <i>subcapitata</i> Hustedt	Эпифит, клетки развиваются в полимерных капсулах, эвригалоб
5	<i>Nitzschia</i> sp. 1	Два последних вида – интропсаммические эвригалобы, для <i>N. cf. communis</i> мы впервые описываем образование лентовидных колоний
6	<i>Nitzschia amphibia</i> Grunow	
7	<i>Nitzschia cf. communis</i> Rabenhorst	

90–100 г/л. Среди талломов *C. circinnatus*, обильно и мелко ветвящихся, обитали цианобактерии, диатомеи, цисты хризифитов, кокковые формы динофлагеллят и подвижные хлорофилл-содержащие эвглениды. В 2012 г., при минерализации рапы 200 г/л и выше, основная масса талломов *C. circinnatus* концентрировалась у самого уреза рапы, подвергалась разложению микробным сообществом, но сохранялась в виде обособленных зеленых скоплений площадью до нескольких квадратных метров на поверхности пурпурного прокарриотного мата.

При высыхании озер и связанном с ним эвапоритовом концентрировании рапы происходит изменение береговой линии, и биомасса *C. circinnatus* оказывается на воздухе. Происходит ее постепенное высыхание и превращение в войлок, а затем – в растрескавшиеся корки. При последующем обводнении возможно прорастание новых колоний *C. circinnatus*. При этом основное количество водорослевой массы, не успевшей разложиться, захоранивается в иле, постепенно отлагаясь слоями.

В изученных озерах отмечено присутствие одноклеточных эукариотных водорослей, морфологически идентифицированных как *Dunaliella viridis* и *Chlorella cf. minutissima*, развивавшихся массово при крайне высоких минерализациях. В результате длительного (более года) наблюдения за накопительной культурой из оз. Танатар VI было установлено, что часть популяции *Chlorella cf. minutissima* преобразуется из сферических клеток в трехлопастные, что соответствует особенностям вида *Picocystis salinarum* (Chlorophyta) [21]. Этот вид широко распространен в содовых озерах по всему миру: оз. Моно (Калифорния) [27], озера Восточно-Африканского Рифта [19], Внутренней Монголии [15]. Таким образом, систематическое положение одноклеточной эукариотической водоросли, идентифицированной ранее как *Chlorel-*

la cf. minutissima [9], уточнено и определено как *Picocystis salinarum*.

Динофлагелляты и фототрофные эвглениды были представлены по одному виду: *Phytdinium simplex* и *Euglena* sp.

Присутствие *Ph. simplex* в биотопах с высокой минерализацией было отмечено нами ранее для Большого Аральского моря, где этот вид жил при общей минерализации >100 г/л [5]. На мелководьях в северной части Большого Арала, в зоне действия сгонно-нагонных ветров (на глубинах до 25 см), мы отмечали также и представителей рода *Euglena*. Идентификация цист хризомонад, отмеченных в оз. Танатар VI, с необходимой степенью достоверности по морфологии в условиях высокой минерализации затруднена, поскольку здесь возможна их существенная фенотипическая модификация.

Анализ видового состава и таксоценотической структуры диатомей в составе альго-бактериальных матов и сплавин в изученной группе озер (Петуховское содовое, Горчина III и Танатар VI) сделан впервые.

Согласно результатам анализа двухгодичных сборов, совокупная флора всех трех изученных содовых водоемов с минерализацией свыше 100 г/л включала 7 видов диатомей, относимых к одному классу и четырем родам (табл. 2). Найденные рода были ранее отмечены нами в континентальных водоемах с высокой степенью минерализации хлоридно-сульфатного типа [30, 5].

Присутствие видов *Anomeoneis sphaerophora* и *Nitzschia amphibia*, а также отдельных видов *Mastogloia*, характерно для большой группы содово-соленых озер восточной части экваториальной Африки [16]. Развитие *A. sphaerophora*, *Nitzschia communis* и *N. amphibia* отмечали также в природных экосистемах ультрагалинного оз. Моно и в искусственных мезокосмах с более широким интервалом минерализации, созданных на базе этого во-

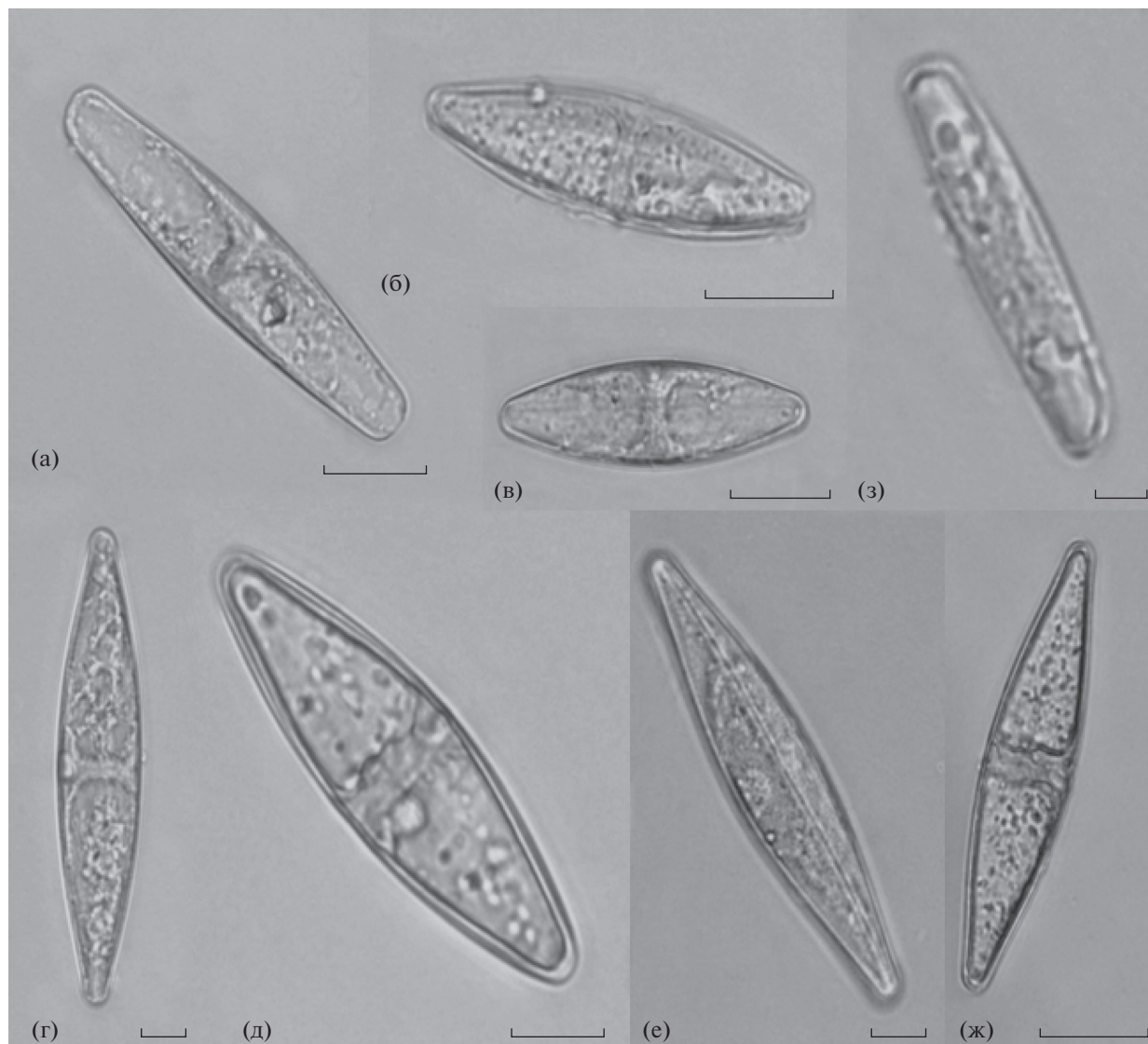


Рис. 3. Клетки диатомей *Anomoeoneis sphaerophora* (а–ж) и *Brachysira brebissonii* (з) из озер Кулундинской степи. Видны хроматофоры сравнительно небольшой площади и обильные включения липидной природы. Размерная шкала: (а, б, в, ж) – 20 мкм, (г, д, е) – 10 мкм, (з) – 5 мкм.

доема. При этом первые два вида развивались в мезокосмах до уровня общей минерализации в 150 г/л, а третий – только до 75 г/л [17].

Все идентифицированные диатомеи способны к автономному движению и в изученных образцах не образовывали прикрепленных форм. Таким образом, “щеточный” диатомовый микроэпифитон из клеток *Brachysira* spp., в ряде случаев отмеченный нами в других ультрагалинных водоемах (Западный Арал и прилегающие водоемы [5]), на трихомах *C. circinnatus* отсутствовал.

Диатомовые таксоцены существенно различались по составу и наборам доминантов не только между водоемами, но были неодинаковы даже для одного и того же озера в середине лета в разные годы. Мы относим это за счет изменения об-

щей минерализации и воздействия рапического фактора (как соотношения солей в растворе) [11, 5] в конкретно взятые периоды отдельных лет.

Так, в частности, в оз. Петуховском содовом в июле 2011 г. среди диатомей доминировал *A. sphaerophora*, массовой была *Brachysira zellensis*, а *Mastogloia pusilla* var. *subcapitata* встречалась единично. Первые два вида зачастую имели очень тонкие, местами аморфные и даже складчатые оболочки. Единично встречалась *Euglena* sp. Через год в тех же биотопах озера была отмечена только *B. zellensis* – как крайне редко встречающийся вид с аморфной, пленчатой оболочкой.

Отметим, что и в этом озере, и в остальных клетках *Anomoeoneis* и *Brachysira* в избытке содержали липидные включения (рис. 3), а площадь их

Таблица 3. Морфометрические параметры панцирей штаммов *Nitzschia cf. communis*, выделенных из разных ультраминерализованных щелочных озер Кулундинской степи

Вид	<i>Nitzschia cf. communis</i>			<i>Nitzschia cf. communis</i>			<i>Nitzschia cf. communis</i>		
Штамм	G3-Nc12			T3-Nc11			T6-Nc11		
Морфометрический параметр	Дл. ср., мкм	Шир. ср., мкм	Выс. ср., мкм	Дл. ср., мкм	Шир. ср., мкм	Выс. ср., мкм	Дл. ср., мкм	Шир. ср., мкм	Выс. ср., мкм
Среднее значение	11.92	5.45	5.48	20.69	5.36	5.08	25.73	5.44	5.31
Среднее квадратическое отклонение	0.58	0.51	0.50	2.21	0.85	0.90	1.55	0.76	0.69

Примечание. Дл. ср., мкм – средняя длина створки, Шир. ср., мкм – средняя ширина створки, Выс. ср., мкм – средняя высота створки.

хлоропластов была сравнительно небольшой. Подобное явление мы наблюдали в условиях высокой минерализации, интенсивной инсоляции и повышенных температур в каменистых и макрофитных биотопах полосы прибоя в морях субтропического и тропического поясов. Оно не является аномальным и обусловлено тем, что хроматофор малой площади в условиях высокой инсоляции способен обеспечить энергетические потребности клетки. Крупные липидные вакуоли при этом играют роль не только резервуаров с запасным веществом, но и маскирующих линз, рассеивающих избыток света.

В оз. Горчина III в образцах 2011 г. наибольшей массовости достигали *A. sphaerophora* и *B. zellensis*, несколько реже встречалась *Brachysira brebissonii*, а случаи обнаружения *Nitzschia* sp. I носили единичный характер. Панцири у всех четырех видов были довольно тонкими, но имели довольно четкие очертания и орнаментацию. На второй год *A. sphaerophora* в ценозах встречался единично, оба вида *Brachysira* были массовыми примерно в равной степени, а единично встречались *N. amphibia* и мелкая форма *Nitzschia*, в дальнейшем идентифицированная генетическими методами как *Nitzschia cf. communis*.

В оз. Танатар VI в ходе обеих съемок материал брали как из нагонной массы нитчаток, так и с поверхности обсыхающей корочки водорослей в периферической части водоема, где минерализация была заведомо выше.

В первый год в сплаvine *C. circinnatus* было отмечено массовое развитие *A. sphaerophora* и *B. zellensis* при единичной встречаемости *M. pusilla* var. *subcapitata*. На второй год образцы из сплавины уже не содержали клеток диатомей.

На поверхности обсыхающей водорослевой массы в 2011 г. доминировала *B. zellensis*, массовой была *B. brebissonii*, а *Nitzschia cf. communis*, отличавшаяся от диагностического описания вида более узкими и длинными клетками, встречалась единично. На следующий год мы наблюдали це-

нозы двух типов: в одних из них, менее обсохших, массово развивалась *Nitzschia cf. communis*. При этом клетки этой диатомеи, в норме обладающей подвижностью, встречались здесь не только одиночно, но и в виде коротких лентовидных, завернутых в трубки колоний, макроморфологически аналогичных колониям *Fragilaria* – до 8-ми особей в ряд, что, в целом, для данного вида не характерно. В более обсохших местообитаниях встречалась только *B. zellensis*, и то единично. Цисты хризомонад массово присутствовали во всех биотопах этого озера в периоды обеих съемок, клетки *Phytodinium simplex* – только на обсохшем дне, в 2011 г. и единично.

Мы можем заключить, что наиболее постоянным компонентом диатомовых таксоценозов изученной группы содовых озер в оба сезона наблюдений была *B. zellensis*. В условиях, характеризовавших биотоп нитчатковых сплавин в июле 2011 г., ей часто сопутствовали *A. sphaerophora* и *B. brebissonii*. В июле 2012 г. *A. sphaerophora* в ценозах отмечен не был, но в отдельных биотопических условиях получила массовое развитие *N. cf. communis*, отмеченная в том числе и в колониях, не описанных ранее для вида.

Для подтверждения таксономической принадлежности диатомей, отмеченных в озерах Горчина III и Танатар VI как *N. cf. communis*, они были выделены в альгологически чистые культуры и, затем, идентифицированы молекулярно-биологическими методами.

Для этого были амплифицированы фрагменты и определены нуклеотидные последовательности гена 18SpPНК от мелкой формы *N. cf. communis* штамма G3-Nc12, выделенной из оз. Горчина III, имеющая длину 1730 нуклеотидов, *N. cf. communis* T6-Nc11 из оз. Танатар VI, имеющая длину 1688 нуклеотидов, и *Nitzschia communis* T3-Nc11, ранее выделенного из оз. Танатар III, имеющая длину 1675 нуклеотидов.

Клетки штамма G3-Nc12 отличались сравнительно малыми размерами (табл. 3), эллиптиче-

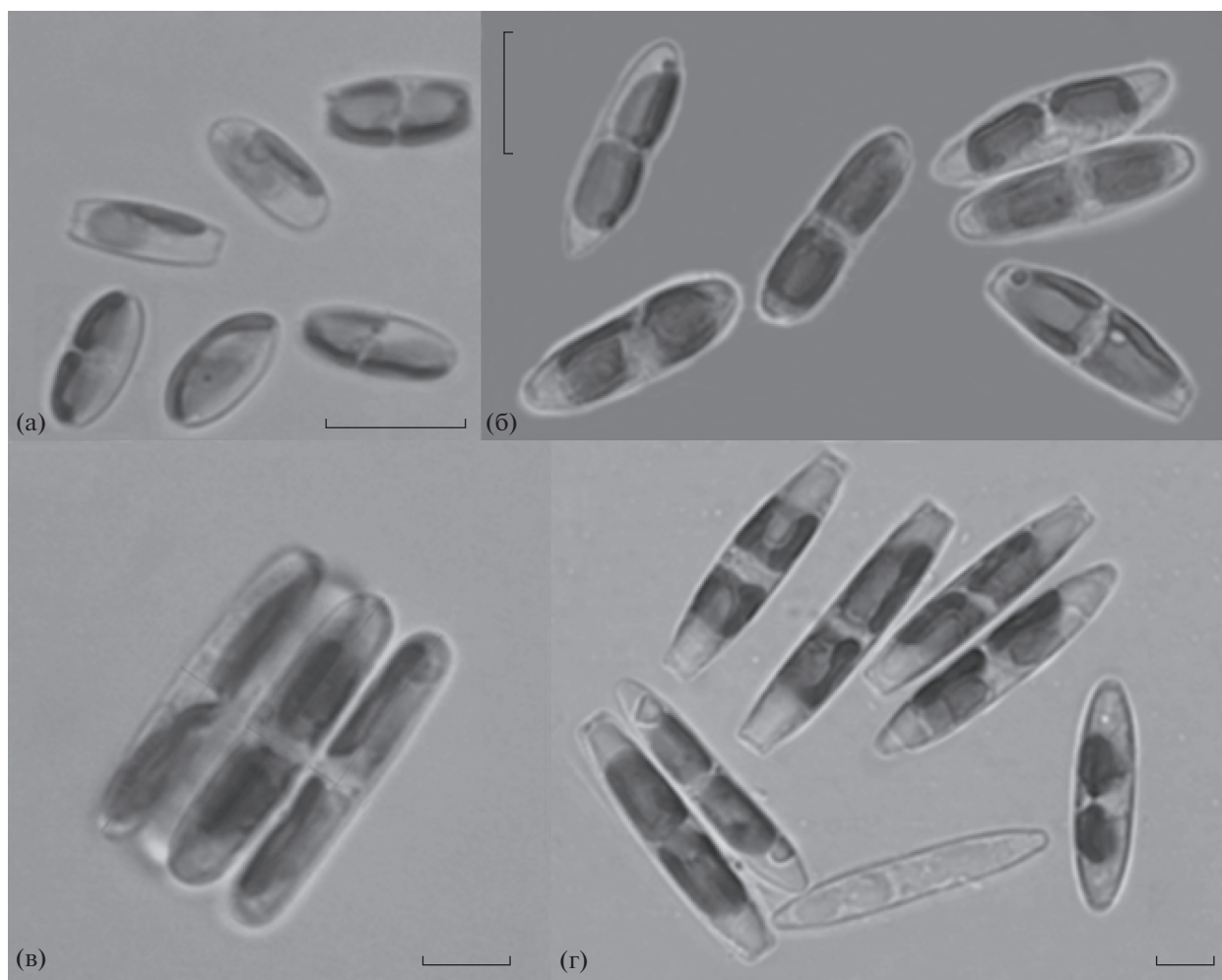


Рис. 4. Выделенные из озер Кулундинской степи в культуры штаммы *Nitzschia cf. communis*: (а) – штамм G3-Nc12 из оз. Горчина III; (б) – морфотипическая вариабельность штамма T3-Nc11, выделенного из оз. Танатар III; (в) – форма клеток штамма T3-Nc11, выделенного из оз. Танатар III, образующих коротко-лентовидные колонии; (г) – морфологическая вариабельность штамма T6-Nc11, выделенного из оз. Танатар VI. Размерная шкала: (а, б) – 10 мкм, (в, г) – 5 мкм.

скими или же ланцетными створками с остро закругленными, не оттянутыми концами (рис. 4а). В свою очередь, клетки штамма T3-Nc11 имели стабильно бóльшие, чем у первого штамма, линейные размеры (табл. 3), а также удлинненно-овально-ланцетную форму створки, зачастую с неглубокой перешнуровкой посередине, сообщающей панцирю слегка гитаровидные очертания, и широко скругленные концы (рис. 4б). Кроме того, в пределах данного штамма мы отмечали образование в культуре коротко-лентовидных колоний, состоявших, как и в природе, из 4–8-ми клеток, соприкасающихся боковыми поверхностями панцирей. В таких колониях, способных к слаженному перемещению в виде спирально свернутых лент, клетки имели сильно удлинненно-овальные очертания (при почти параллельных краях) и скругленные, не оттянутые концы створки (рис. 4в). Наконец, клетки штамма T6-Nc11 отличались от

предыдущих штаммов наибольшими размерами (табл. 3), а также удлинненно-ланцетной формой панциря с почти параллельными (в большинстве случаев) краями и клиновидно-зауженными, слегка клювовидно-оттянутыми и широко скругленными концами (рис. 4г). В пределах этого штамма были отмечены также более мелкие особи с более отчетливо клювовидно-оттянутыми, почти головчатыми концами, а также формы, образующие коротко-лентовидные колонии (до 4-х клеток) – они имеют удлинненно-овальные очертания с широко-клиновидно-суженными, слегка клювовидно-оттянутыми концами. Штаммы G3-Nc12 и T3-Nc11 совершенно различны по длине панциря, а T6-Nc11 и T3-Nc11 пересекаются крайне незначительно – за счет наличия мелких форм в пределах штамма T6-Nc11. Отметим, что условия культивирования всех трех штаммов были идентичны.



Рис. 5. Лишенные пигментации пластид (возможно, гетеротрофные) формы *Nitzschia* cf. *communis* (отмечены (a) по концам створок на фото) в составе культуры штамма ТЗ-№11. Размерная шкала 5 мкм.

В культурах всех трех штаммов присутствовали формы, лишенные пигментации пластид (рис. 5). Их доля от общей численности культуры колебалась от 1 до 3%. Наблюдения, проведенные с помощью люминесцентного микроскопа Leica DM2500 (аналогично методу, приведенному Сухановой И.Н. [10]), показали полное отсутствие хлорофилла в их клетках. Тем не менее, поскольку клетки активно двигались и успешно размножались делением, а также не имели внешне различимых признаков отделения протопластов от панцирей, мы не можем говорить об их общем угнетенном состоянии, на фоне которого могла бы развиться деструкция фотосинтетического аппарата. В литературе есть упоминания о том, что “существование в природе диатомей с бесцветными хлоропластами и лишенными их давно привело исследователей к заключению, что среди автотрофных диатомей существуют и гетеро-

трофные [13, 26, 18]”. В исследованиях питания таких форм особо много внимания было уделено апохлоретическим (бесхлорофилльным) бентосным видам из рода *Nitzschia* [13]. Так, в частности, физиологические исследования диатомей *Nitzschia putrida*, *N. leucosigma* и *N. alba* с отсутствующими или бесцветными хлоропластами являются облигатными гетеротрофами [25, 20]. В более поздних литературных источниках также есть указания на возможность роста диатомей в фотогетеротрофных и гетеротрофных условиях [7]. Мы вполне допускаем, что отмеченные в культурах бесхлорофилльные клетки *N. cf. communis* также были гетеротрофными.

Результаты сиквенса показали полную идентичность последовательности гена 18S рРНК между всеми тремя штаммами *N. cf. communis* из разных озер, что свидетельствует об их принадлежности к одному виду. Таким образом, в раз-

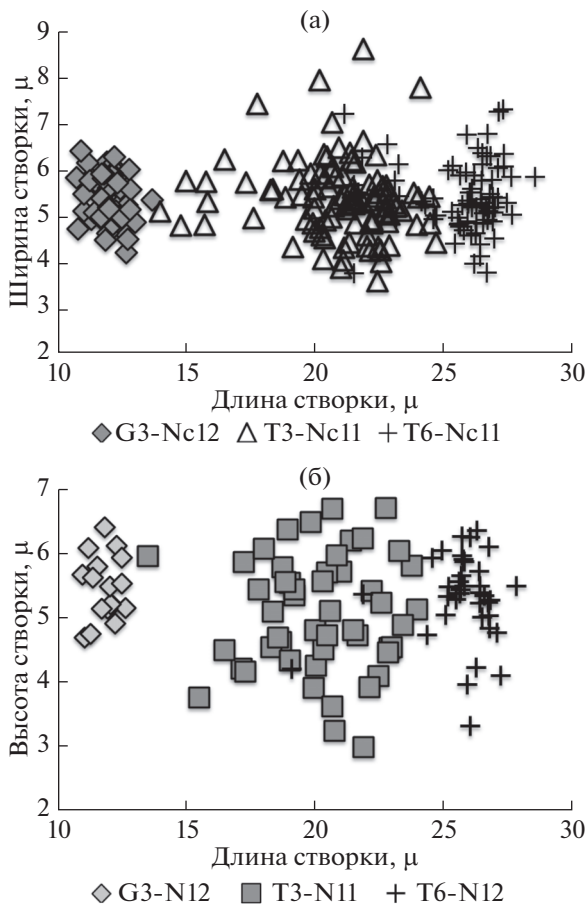


Рис. 6. Соотношения морфометрических параметров панцирей *Nitzschia cf. communis* штаммов G3-Nc12, T3-Nc11 и T6-Nc11: (а) – длина створки к ее ширине, (б) – длина створки к ее высоте.

ных биотопических условиях этих водоемов мы отмечаем развитие трех устойчивых морфотипов одного вида *N. cf. communis*, отличающихся между собой размерами (табл. 3, рис. 6), формой панциря (рис. 4) и способностью к образованию коротко-лентовидных колоний.

Уровень сходства с депонированными в мировых базах данных последовательностями этого гена других видов *Nitzschia* оказался весьма высоким (97–99%). Топология деревьев, построенных алгоритмами Neighbor-Joining и Maximum Likelihood, идентична. Это дает основание считать, что полученные деревья отражают истинные филогенетические отношения видов, так как два использованных алгоритма основаны на разных допущениях о ходе молекулярной эволюции, и, следовательно, ошибаются по-разному. Статистическая поддержка большинства узлов в тесте бутстрэпа превышает 50%, что свидетельствует о высокой достоверности филогенетических деревьев. В методике бутстрэпа используется многократное построение филогенетических деревьев с использо-

ванием только части набора данных (случайно выбранной половины позиций выравнивания). Статистическая поддержка узла дерева выше 50% в этом тесте означает, что этот узел поддержан большим количеством молекулярных замен и филогенетический сигнал здесь достоверно выделяется из шума. Ближайшим к исследованным нами штаммам *Nitzschia cf. communis* является штамм *Nitzschia* sp. MD1, последовательность гена 18S рНК которого была депонирована в базу данных GenBank китайскими авторами без определения до вида и без данных о месте сбора материала. Другая близкая последовательность относится к неопределенной морфологически диатоме из гипергалинных озер Америки. Ближайший к нашему образцу морфологически определенный штамм – *Nitzschia communis* FDCC L408 из пещерных водоемов Люксембурга (рис. 7).

Наибольшим фенотипическим сходством с *Nitzschia communis* обладали неколониальные формы штамма T6-Nc11, выделенного из оз. Танатар VI. При этом одиночно движущиеся особи штамма T3-Nc11 (оз. Танатар III) имели большее макроморфологическое сходство (по размеру, форме и пропорциям панциря) с *N. amphibia*, а особи штамма G3-Nc12 – с *Nitzschia inconspicua*. Как показывают наблюдения, оба вида способны развиваться при очень высоких показателях общей минерализации водоемов [5, 30]. Результаты, полученные при изучении многолетней динамики донных альгоценозов ультрагалинного Большого Аральского моря [5] показали, что при постепенном исчезновении из сообщества одного вида *Nitzschia* – вследствие роста минерализации – происходило его замещение морфотипами другого вида из того же рода, на макроморфологическом уровне повторявшими вид ушедший. Так, например, при повышении минерализации за 110 г/л, *Nitzschia liebethuthii* и *N. inconspicua* были замещены морфологически сходными с ними морфотипами *Nitzschia fonticola*. Таким образом, последний вид расширил свою экологическую нишу, “врастая” в освободившиеся вакансии. Для изученных биотопов Кулундинской степи мы вполне допускаем, что в условиях оз. Танатар III селективное преимущество среди неколониальных морфотипов имели те, что на макроморфологическом уровне заполнили нишу *N. amphibia* – как более подходящую для обитания в виде отдельных клеток в здешних физических условиях. То же самое можно предположить и в отношении мелких клеток *Nitzschia cf. communis* G3-Nc12, занявших в оз. Горчина III нишу *N. inconspicua*.

Изучение альго-бактериальных сообществ из трех содовых озер Кулундинской степи показало, что наиболее типичным для этих экстремальных местообитаний является ценоз с зеленой нитчатой водорослью *Ctenocladus circinnatus* в качестве эдификатора (при массовом развитии цианобак-

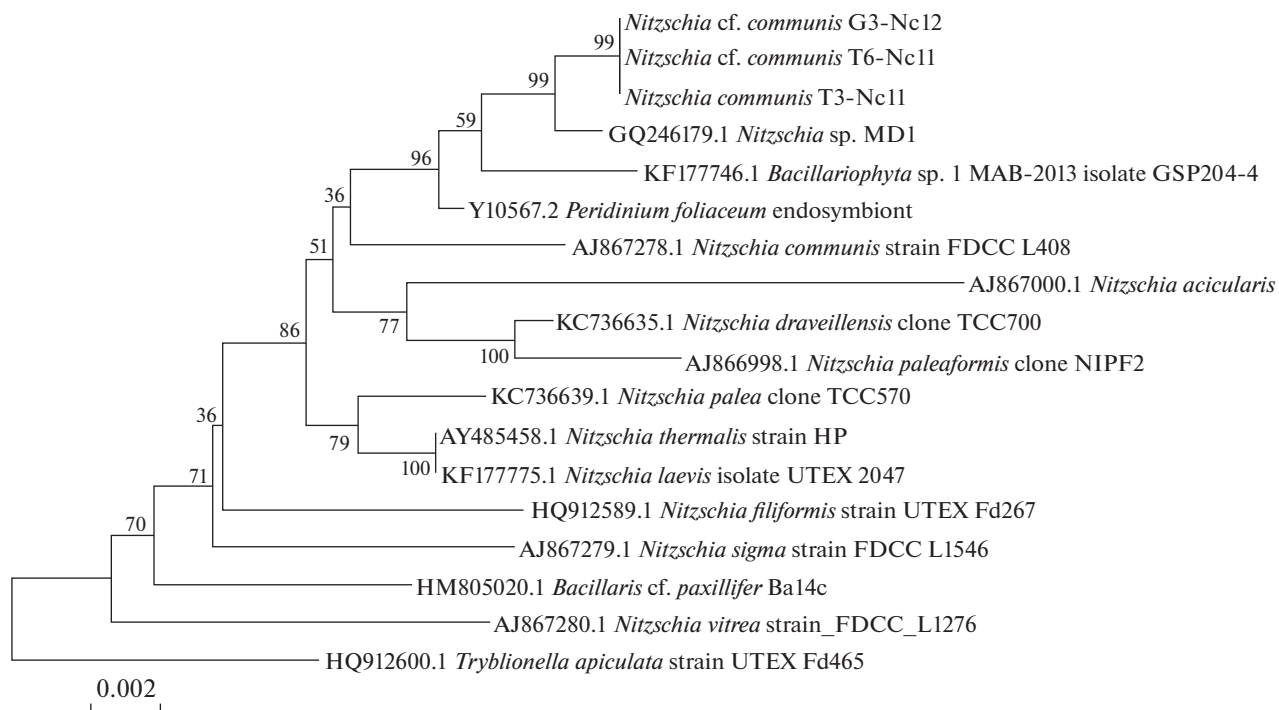


Рис. 7. Филогенетическое дерево видов рода *Nitzschia*, построенное в программе MEGA 5.1 с использованием алгоритма Neighbor-Joining по выравниванию последовательностей генов 18S рибосомной РНК. Для построения дерева использовали 1524 позиции выравнивания. Около каждого узла обозначен уровень его статистической поддержки бутстрапа. Дерево, построенное алгоритмом Maximum Likelihood, имеет идентичную топологию и близкие уровни поддержки.

терий – нитчатых *Geitlerinema* sp. и *Nodosilinea* sp., которые могут быть описаны как новые виды [9]). Микро-альгологическая компонента сообщества была представлена массово развивающимися формами диатомей из родов *Anomoeoneis*, *Brachysira* и *Nitzschia*, а также одноклеточными зелеными водорослями (*Dunaliella viridis* и *Picocystis salinarum*) и, в отдельных случаях, цистами хризомонад.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 12-04-01716-а) и Программы № 28 Президиума РАН “Проблемы происхождения жизни и становления биосферы”. Экспедиционные работы финансировались за счет грантов РФФИ № 11-04-10011 и № 12-04-10036.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воронихин Н.Н. Материалы к изучению альгологической растительности Кулундинской степи // Изв. Главн. Ботан. Сада СССР. 1929. Т. 28. Вып. 1–2. С. 12–40.
2. Воронихин Н.Н. Сравнительная характеристика альгологической растительности пресных и минерализованных водоемов Кулундинской степи // Юбил. сб. Б.А. Келлера. Воронеж: Коммуна, 1931. С. 273–279.
3. Воронихин Н.Н., Хахина А.Г. К биологии соляных озер Кулундинской степи // Изв. Глав. Ботан. сада. 1919. Т. 28. С. 1–2.
4. Глезер З.И., Жузе А.П., Макарова И.В., Прошина-Лавренко А.И. (ответственный редактор), Шешукова-Порецкая В.С. Диатомовые водоросли СССР (ископаемые и современные). Л.: Наука, 1974. Т. 1. 403 с.
5. Завьялов П.О., Арашкевич Е.Г., Бастида И., Сапожников Ф.В. и др. Большое Аральское море в начале XXI века. Физика, биология, химия. М.: Наука, 2012. 228 с.
6. Исаченко Б.Л. Хлористые, сульфатные и содовые озера Кулундинской степи и биогенные процессы в них // Кулундинская экспедиция АН СССР 1931–1933 гг. Л.: Изд-во АН СССР, 1934. Ч. 1. Вып. 8. С. 143–162.
7. Кондратьева Е.Н., Максимова И.В., Самуилов В.Д. Фототрофные микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1989. 376 с.
8. Попова Т.Г. К флоре водорослей минеральных водоемов Западной Сибири // Изв. ГБС. 1930. Т. 29. Вып. 3/4. С. 237–264.
9. Самылина О.С., Сапожников Ф.В., Калинина (Гайнанова) О.Ю. и др. Альго-бактериальные сообщества содовых озер Кулундинской степи (Алтайский край, Россия) // Микробиология. 2015. Т. 84. С. 109–117.
10. Суханова И.Н., Флинт М.В., Мошаров С.А., Сергеева В.М. Структура сообществ фитопланктона и первичная продукция в Обском эстуарии и на при-

- лежащем Карском шельфе // Океанология. 2010. Т. 50. № 5. С. 785–800.
11. *Хлебович В.В.* Особенности состава водной фауны в зависимости от солености среды // Журн. общей биологии. 1962. Т. 23. № 2. С. 90–97.
 12. *Edgar Robert C.* MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Research. 2004. V. 32(5). P. 1792–1797.
 13. *Benecke W.* Über farblose Diatomeen der Kieler Fohrde // Jahrb. wiss. Bot. 1900. V. 35. P. 535–572.
 14. *Damste J.S., Muyze G., Abbas B. et al.* The rise of the rhizosolenid diatoms // Science. 2004. № 304 (5670). P. 584–587.
 15. *Fanjing K., Qinxian J., Jia E., Mianping Z.* Characterization of a Eukaryotic Picoplankton Alga, Strain DGN-Z1, Isolated from a Soda Lake in Inner Mongolia, China // Natural Resources and Environmental Issues. 2009. V. 15. Art. 38.
 16. *Hecky R.E., Kilham P.* Diatoms in alkaline, saline lakes: ecology and geochemical implications // Limnology and Oceanography. 1973. № 18. P. 53–71.
 17. *Herbst D.B., Blinn D.W.* Experimental Mesocosm studies of Salinity effects on the Benthic Algal Community of a saline Lake // J. Phycol. 1998. № 34. P. 772–778.
 18. *Karsten G.* Über farblose Diatomeen // Flora. 1901. № 89. P. 404.
 19. *Krienitz L., Bock C., Kotut K., Luo W.* Picocystis salinarum (Chlorophyta) in saline lakes and hot springs of East Africa // Phycologia. 2012. V. 51. № 1. P. 22–32.
 20. *Lewin J., Lewin R.A.* Culture and Nutrition of Some Apochlorotic Diatoms of the Genus Nitzschia // J. Gen. Microbiol. 1967. № 46. P. 361–367.
 21. *Lewin R.A., Krienitz L., Goericke R. et al.* Picocystis salinarum gen. et sp. nov. (Chlorophyta) – a new picoplanktonic green alga // Phycologia. 2000. V. 39. № 6. P. 560–565.
 22. *Nei M., Kumar S.* Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press, 2000. 333 p.
 23. *Perkerson III R.B., Perkerson E.A., Casamatta D.A.* Phylogenetic examination of the cyanobacterial genera Geitlerinema and Limnotrix (Pseudanabaenaceae) using 16S rDNA sequence data // Algological Studies. 2010. V. 134. P. 1–16.
 24. *Perkerson R.B. III, Johansen J.R., Kovácik L. et al.* A unique pseudanabaenalean (cyanobacteria) genus Nodosilinea gen. nov. based on morphological and molecular data // J. Phycol. 2011. V. 47. № 6. P. 1397–1412.
 25. *Pringseeim E.G.* Über farblose Diatomeen // Arch. Mikrobiol. 1951. № 16. P. 18.
 26. *Provazek S.* *Synedra hyalina*, eine Apocylorotisclic Bacillarie // Oesterr. Botan. Zeitsch. 1900. № 3.
 27. *Roesler C.S., Culbertson C.W., Etheridge S.M. et al.* Distribution, production and ecophysiology of Picocystis strain ML in Mono Lake, California // Limnol. Oceanogr. 2002. V. 47. № 2. P. 440–452.
 28. *Ruck E.C., Theriot E.C.* Origin and evolution of the canal raphe system in diatoms // Protist. 2011. № 162(5). P. 723–737.
 29. *Saitou N., Nei M.* The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Molecular Biology and Evolution. 1987. V. 4. P. 406–425.
 30. *Sapozhnikov F.V., Arashkevich E.G., Ivanishcheva P.S.* Biodiversity // The Handbook of Environmental Chemistry. 2010. V. 7: The Aral Sea Environment/ Eds. Kostianoy, Kosarev. 1st Edition. XIV. P. 235–282.
 31. *Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al.* MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Molecular Biology and Evolution. 2011. V. 28. P. 2731–2739.

Coenoses Phototrophic Algae of Ultrasalinity Lakes of Kulunda Steppe (Altai, Russian Federation)

Ph. V. Sapozhnikov, O. Yu. Kalinina, M. A. Nikitin, O. S. Samylina

Eukaryotic algal flora develops in terms of total mineralization of 200–400 g/l in alkaline lakes Kulunda steppe. These conditions are consistent with the extreme. We described the total species composition in three lakes (Petukhovskoe soda, Gorchina III and Tanatar VI), comprising seven species of diatoms (*Anomoeoneis sphaerophora*, *Brachysira brebissonii*, *B. zellensis*, *Mastogloia pusilla* var. *subcapitata*, *Nitzschia* cf. *communis*, *N. amphibia* and *Nitzschia* sp. 1), two green microalgae (*Dunaliella viridis* and *Picocystis salinarum*), as well as one species euglenids (*Euglena* sp. 1) and dinoflagellates (*Phytodinium simplex*). In addition, the lake Tanatar VI in mass attended chryomonads cysts. As edificator algocoenosis was the filamentous green alga *Ctenocladus circinnatus* in most cases. Among the filaments of macrophytes lived unicellular eukaryotic microalgae. In the period from 2011 to 2012 increased mineralization in all lakes significantly. Amid rising salinity changes in the composition and structure of diatom communities. Most permanent component of diatoms taxocenes group studied soda lakes in both seasons was *B. zellensis*. In the summer of 2011, this species is often accompanied *A. sphaerophora* and *B. brebissonii*. In the same period in 2012 *A. sphaerophora* met sporadically and only in the lake Gorchina III. In some habitats lakes Tanatar VI reached mass development *Nitzschia* cf. *communis*, which is also noted in the colonies, not previously described for this species. Phylogenetic analysis of three stable morphotypes diatoms are significantly different in appearance and obtained from different lakes, but have been identified by various features as *Nitzschia* cf. *communis*, they showed 100% similarity to each other by gene fragment 18SrRNA, and the greatest similarity all three morphotypes with diatom *Nitzschia communis*.