

# ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА РОСТ *PSEUDO-NITZSCHIA FRAUDULENTA* (CLEVE) HASLE И *PSEUDO-NITZSCHIA HASLEANA LUNDHOLM* (BACILLARIOPHYTA) В ЛАБОРАТОРНОЙ КУЛЬТУРЕ

А.А. Зинов, И.В. Стоник

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

г. Владивосток  
toni.zinov.95@mail.ru

## Введение

Диатомовые водоросли рода *Pseudo-nitzschia*, известные как потенциальные продуценты нейротоксичной домоевой кислоты (ДК), относятся к одной из наиболее многочисленных групп токсичного фитопланктона, регулярно вызывающей цветения воды в дальневосточных морях России. Температура играет решающую роль в метаболических процессах диатомей, влияет на фотосинтез и усвоение питательных веществ и, в более общем плане, воздействует на ферментативную активность всей клетки. Таким образом, температура является важным фактором роста и развития цветения диатомовых водорослей. Виды *P. fraudulenta* и *P. hasleana* почти ежегодно присутствуют в заливе Петра Великого Японского моря как важный компонент цветений видов этого рода. Однако факторы окружающей среды, в первую очередь температура, влияющие на плотность и физиологическое состояние *Pseudo-nitzschia* spp., изучены недостаточно.

## Материалы и методы

Материалом для работы послужили альгологически чистые культуры диатомовых водорослей *P. fraudulenta* и *P. hasleana* (Рис. 1), изолированные из залива Петра Великого Японского моря и поддерживаемые в Ресурсной коллекции "Морской биобанк" <http://marbank.dvo.ru/index.php/en/>). Культура *P. fraudulenta* (клон MBRU-PF-16) выделена из Амурского залива (43°12'00" с.ш., 131°54'50" в.д.) в ноябре 2016 г. при температуре воды 7,8 °С. Культура *P. hasleana* (клон MBRU-PH-18) изолирована из б. Патрокл Уссурийского залива (43°04'14" с.ш., 131°57'37" в.д.) в ноябре 2018 г. при температуре воды 8,9 °С. Культуры выращивали в 250 мл колбах Эрленмейера с объемом культуральной суспензии 200 мл при освещенности на поверхности колб 3500 лк с продолжительностью светового периода 12 ч в сут. Использованный в работе материал приведен в табл. 1. Проверку на наличие статистически достоверной связи между температурой, сутками культивирования и плотностью клеток выполняли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа. Для проверки достоверности различий между плотностью клеток при разных температурах использовали критерий Тьюки. Данные были обработаны с помощью программного обеспечения Statistica v. 7 (StatSoft Inc., Талса, Оклахома, США).

## Результаты

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа установлено, что статистически значимыми факторами, влияющими на плотность клеток *Pseudo-nitzschia*, являются температура, сутки и взаимодействие этих двух факторов.

Изменения плотности клеток *P. fraudulenta* (кривые роста) при выращивании при температурах 5, 10, 16 и 18 °С приведены на рисунке 2. Максимальная плотность клеток вида (91 тыс. кл/мл) отмечена при температуре 18 °С на экспоненциальной стадии роста (8 сут) при скорости роста 0,16 дел/сут и времени генерации 4,5 сут (табл.2). Наименьшая плотность клеток (20 тыс. кл/мл) зарегистрирована при температуре 5°С на экспоненциальной стадии роста при скорости роста 0,1 дел/сут и времени генерации 9,2 сут. Достоверные статистически значимые различия между кривыми роста при 18°С и 16°С отмечены с экспоненциальной стадии (8 сутки) и до конца опыта (16 сутки) ( $p < 0,05$ ). На протяжении всего эксперимента кривые роста при температурах 10°С и 16°С статистически достоверно не различаются, что подтверждено тестом Тьюки. В остальных случаях статистически достоверные различия плотности наблюдали при выращивании при 18°С и при других температурах.

Изменения плотности клеток *P. hasleana* (кривые роста) при выращивании при температурах 7 и 14 °С, 17 и 20 °С приведены на рисунке 3. Максимальная плотность клеток вида (26 тыс. кл/мл) отмечена при температуре 17 °С на экспоненциальной стадии роста (8 сут) при скорости роста 0,2 дел/сут и времени генерации 3,6 сут (Рис.3; Табл.2). Наименьшая плотность клеток (1,7 тыс. кл/мл) зарегистрирована при температуре 7 °С на экспоненциальной стадии роста при скорости роста 0,1 дел/сут и времени генерации 4,8 сут.

Достоверные статистически значимые различия между кривыми роста *P. hasleana* при 17 и 20°С ( $p < 0,05$ ) отмечены на протяжении всего эксперимента (тест Тьюки,  $p < 0,05$ ).

Значения плотности этого вида на 2, 4, и 6 сутки эксперимента при температурах 14°С и 17°С статистически достоверно не различаются. Кроме того, на 6 сутки эксперимента статистически значимых различий не наблюдается между кривыми роста при 14 и 20°С. В остальных случаях статистически достоверные различия наблюдали при выращивании при 18°С и при остальных температурах.

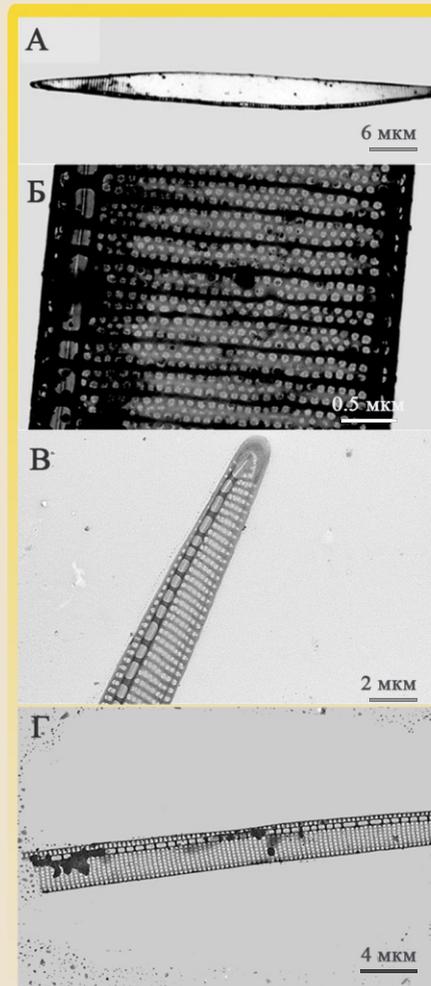


Рис. 1. *Pseudo-nitzschia fraudulenta* (а, б) и *Pseudo-nitzschia hasleana* (в, г) на 8 сутки эксперимента. а-общий вид створки, б — фрагмент створки, структура штрихов, в — конец створки, г — структура створки.

Табл. 1. Материал (192 пробы), положенный на основу работы.

<i>P. fraudulenta</i>					
Дата	Сутки	5°С	10°С	16°С	18°С
24.05.18	0	3	3	3	3
26.05.18	2	3	3	3	3
28.05.18	4	3	3	3	3
30.05.18	6	3	3	3	3
01.06.18	8	3	3	3	3
03.06.18	10	3	3	3	3
05.06.18	12	3	3	3	3
07.06.18	14	3	3	3	3
09.06.18	16	3	3	3	3
<i>P. hasleana</i>					
Дата	Сутки	7°С	14°С	17°С	20°С
15.03.21	0	3	3	3	3
17.03.21	2	3	3	3	3
19.03.21	4	3	3	3	3
21.03.21	6	3	3	3	3
23.03.21	8	3	3	3	3
25.03.21	10	3	3	3	3
27.03.21	12	3	3	3	3
29.03.21	14	3	3	3	3
31.03.21	16	3	3	3	3
Всего:		192 пробы			

Табл. 2. Скорость роста, делений в сутки (в числителе) и время генерации, сутки (в знаменателе) при выращивании *Pseudo-nitzschia fraudulenta* и *Pseudo-nitzschia hasleana* при разных температурах.

Сутки	<i>P. fraudulenta</i>				<i>P. hasleana</i>			
	5°С	10°С	16°С	18°С	7°С	14°С	17°С	20°С
2-4	0,14	0,23	0,13	0,16	0,08	0,98	0,54	0,47
	5,5	3,3	5,3	4,4	8,7	0,7	1,4	1,6
4-6	0,18	0,17	0,1	0,11	0,05	0,73	0,92	0,2
	4,1	4,2	6,9	6,7	15,5	1	0,8	4
6-8	0,1	0,14	0,12	0,16	0,07	0,08	0,28	0,22
	9,2	6,4	6,1	4,7	9,8	9,9	2,5	3,3
8-10	0,03	0,09	0,11	0,16	0,16	0,32	0,2	0,08
	35,1	11,4	6,4	4,5	4,8	2,1	3,6	11,4
10-12	0,01	0,08	0,11	0,12	0,15	0,01	0,02	0,06
	92,5	10,5	6,4	5,9	4,9	86,3	127	12,1
12-14	0,03	0,04	0,1	0,05	0,25	0,14	0,07	0,06
	31,5	16,6	7,8	15,8	2,9	5,3	12,1	11
14-16	0,1	0,08	0,1	0,1	0,31	0,04	0,01	0,19
	11	8,7	7,4	7,7	2,3	0,6	8,1	5,1

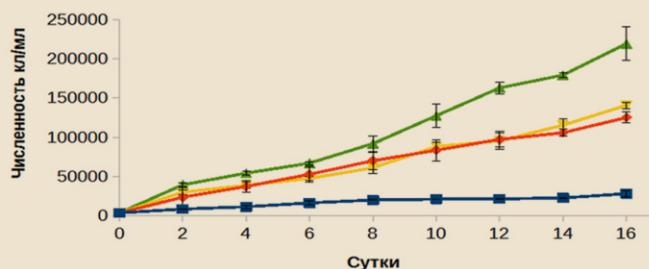


Рис. 2. Динамика численности клеток *Pseudo-nitzschia fraudulenta* с планками погрешности при различных температурах.

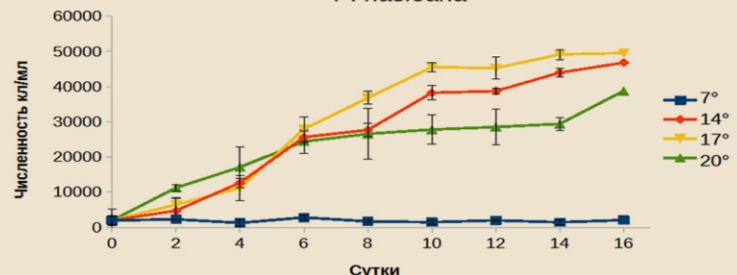


Рис. 3. Динамика численности клеток *Pseudo-nitzschia hasleana* с планками погрешности при различных температурах.

## Выводы

Из полученных данных следует, что при выращивании клонов *P. fraudulenta* и *P. hasleana* в диапазоне температур от 10 до 18 °С и от 14 до 20 °С соответственно, клетки оставались в жизнеспособном состоянии и продолжали делиться. При понижении температур культивирования *P. fraudulenta* и *P. hasleana* до 5 °С и 7 °С соответственно, деление клеток резко замедлялось, в пробах отмечали большое количество погибших клеток. Оптимальная температура для роста *P. fraudulenta* и *P. hasleana* в лабораторных условиях составляла 18 и 17°С соответственно.

Таким образом, толерантный диапазон температур при культивировании *P. fraudulenta* и *P. hasleana* варьировал от 10 до 18 °С и от 14 до 20 °С соответственно. Поскольку изученные нами клоны были изолированы из природной среды при относительно низкой температуре воды (около 8-9 °С), по-видимому, *P. fraudulenta* и *P. hasleana* адаптированы к выживанию в широком диапазоне температур, что согласуется с имеющимися в научной литературе данными о широком распространении этих видов в планктоне высоких, низких и умеренных широт.