

УДК 582.261.1.033

В.А. Курочкина¹, Л.Ф. Ткебучава^{2*}¹ Федеральное агентство по рыболовству,
107996, г. Москва, Рождественский бульвар, 12;² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12**ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ
ОБЪЕМОВ КЛЕТОК ВОДОРОСЛИ *ATTHEYA USSURENSIS*
В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

У диатомовой водоросли *Attheya ussurensis*, акклимированной к солености 17,5 ‰, оценивали внутривидовую гетерогенность объемов клеток на различных стадиях роста после пересева на среды с соленостью 8,8 ‰ (гипоосмотические условия), 35,0 ‰ (гиперосмотические условия) и 17,5 ‰ (контроль) в условиях изменения концентрации биогенных элементов и взаимодействия с популяцией диатомовой водоросли *Conticribra weissflogii*. Во всех соленостях объемы клеток *A. ussurensis* увеличивались при оптимальном содержании биогенных элементов и уменьшались в условиях усиления лимитирования недостатком. Зависимость между объемами клеток и соленостью не выявлена. Установлено влияние солености на вариабельность объемов. Значительное усиление асимметрии распределения клеточных объемов (*As*) во всех соленостях отмечено при смене фазы роста. Внутривидовая гетерогенность преимущественно обусловлена разнообразием размеров крупных клеток. Не выявлено четко выраженной зависимости сгруппированности значений клеточных объемов (*Ex*) как от солености, так и от наличия биогенных элементов. Значения *As* и *Ex* в популяции *A. ussurensis*, которая подверглась конкурентному исключению, различны между моно- и смешанными культурами в гипо- и в гиперосмотических условиях и почти идентичны в контроле.

Ключевые слова: объем клетки, популяционная гетерогенность, осмотический стресс, диатомовые водоросли, *Attheya ussurensis*.

Kurochkina V.A., Tkebuchava L.F. Intrapopulation heterogeneity of cell volume for the alga *Attheya ussurensis* under stress conditions // Izv. TINRO. — 2016. — Vol. 185. — P. 132–145.

Intrapopulation heterogeneity of cell volume is estimated for the diatom *Attheya ussurensis* acclimated to 17.5 ‰ salinity after its transfer to the media with salinity 8.8 ‰ (hypoosmotic conditions), 35.0 ‰ (hyperosmotic conditions) and 17.5 ‰ (control) at different stages of growth, under conditions of different nutrients supply and interaction with the diatom *Conticribra weissflogii*. The samples of *A. ussurensis* were collected in the Ussuri Bay (Japan Sea) from an area with pure culture of this species. The cell volume of *A. ussurensis* increased under conditions of optimal nutrient supply and decreased under shortage of nutrients, irrespective on salinity. However, the salinity influenced on variability of the cell volume; the intrapopulation heterogeneity was formed mainly by size variation of large cells. The cell

* Курочкина Виктория Александровна, госслужащий, e-mail: v.kuro4kina@gmail.com; Ткебучава Луара Фридоновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: tludara@mail.ru.

Kurochkina Victoria A., department officer, e-mail: v.kuro4kina@gmail.com; Tkebuchava Luara F., Ph.D., senior researcher, e-mail: tludara@mail.ru.

volume probability distribution became more asymmetric at change of growth stages, for any salinity as well. Clustering of cell volume distribution did not depend on salinity and nutrient supply. Both asymmetry and clustering of cell volume distribution for *A. ussuriensis* were rather different between mono- and mixed cultures in hypo- and hyperosmotic conditions but were almost equal in the control.

Key words: cell volume, population heterogeneity, osmotic stress, diatom, *Attheya ussurensis*.

Введение

Большинство подходов к изучению свойств микроводорослей, в том числе объемов их клеток, сводятся к обобщенным измерениям, данные которых представляют среднее по популяции и в некоторых случаях скрывают все богатство откликов или даже искажают их. Имея сведения, усредненные на целую популяцию, необходимо с осторожностью делать выводы о том, что происходит или будет происходить в отдельной клетке (Traller, Hildebrand, 2013). Изучение свойств индивидуальных клеток, морфологических и физиологических, как в оптимальных, так и в стрессовых условиях позволяет выявить механизмы акклимации к стресс-факторам и, как следствие, выживаемость популяции в изменяющихся экологических условиях (Воронова и др., 2009; Ильяш и др., 2012; Vucci et al., 2012; Курочкина и др., 2013).

Для одноклеточных организмов размер клетки является отличительным признаком, изменяющимся под воздействием экологических условий, таких как температура и свет (Семененко и др., 1967; Montagnes, Franklin, 2001), наличие биогенных элементов (Chisholm, 1992; Sunda, Huntsman, 1997; Peter, Sommer, 2013), соленость (Nagai, Imai, 1999; Martín-Cereceda, Cox, 2011), интенсивность выедания зоопланктоном (Bergquist et al., 1985; Tall et al., 2006), и в значительной степени определяет их реакции на изменения в окружающей среде. Несмотря на то что морфологические параметры изучаются на основании измерений отдельных клеток, полученные данные обобщаются, и фокус исследований направлен на популяцию в целом. Работы по изучению неоднородности размеров клеток в пределах популяции довольно малочисленны (Armbrust, Chisholm, 1992; Прохоцкая и др., 2002; Dassow et al., 2008; Соломонова, 2009).

Соленость, особенно в эстуарных экосистемах и ледовых биотопах (Kirst, 1989), наличие биогенных элементов (Hecky, Kilham, 1988) и конкуренция за лимитирующий компонент минерального питания (Sommer, 1993; Белевич и др., 2009) являются одними из основных факторов, регулирующих размерную структуру фитопланктона. Диатомовые водоросли *Attheya* West, 1860 (Bacillariophyta) — морские бентосные, планкто-бентосные или эпифитные организмы могут обитать как при солености около 12 ‰, так и при солености 30–33 ‰ (Стоник и др., 2006; Тарасенко, Теренько, 2008) и обнаруживают значительную изменчивость морфологических признаков (Crawford et al., 1994; Стоник и др., 2006).

В настоящей работе оценивается внутривидовая гетерогенность объемов клеток диатомовой водоросли *Attheya ussurensis* при акклимации к гипо- и гиперосмотическому стрессу в условиях изменения концентрации биогенных элементов и взаимодействия с популяцией водоросли *Conticribra weissflogii*.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила альгологически чистая культура диатомовой водоросли *Attheya ussurensis* Stonik, Orlova et Crawford, выделенная из планктонной пробы, отобранной из Уссурийского залива Японского моря (Crawford et al., 1994; Stonik et al., 2006; Орлова и др., 2011), и акклимированная к солености 17,5 ‰ путем многократных пересевов в течение нескольких месяцев на среду, приготовленную на основе искусственной морской воды. Маточная культура водоросли росла при естественном освещении и температуре около 20 °С.

Условия культивирования. Водоросли в экспериментах росли в накопительном режиме при температуре 20 °С, освещенности 75 мкЕ/м²с и продолжительности све-

того периода 14 ч в сутки. Воду для приготовления культуральных сред получали путем разведения до определенной солености (8,8, 17,5 и 35,0 ‰) солевой смеси фирмы «SERA». Соленость воды проверяли электронным солемером Dist 2. Перед посевом воду трехкратно пастеризовали.

Схемы экспериментов. С культурой было поставлено три серии экспериментов.

Целью первой серии экспериментов (I) являлось изучение вариабельности объемов клеток *A. ussurensis* в накопительных культурах в условиях осмотического стресса. Водоросли из маточной культуры на экспоненциальной стадии роста сеяли на среды, обогащенные биогенными элементами согласно прописи среды *f/2* (Guillard, Ryther, 1962), с соленостью 8,8 ‰ (I_{8,8}, гипоосмотические условия), 17,5 ‰ (I_{17,5}, контроль) и 35,0 ‰ (I_{35,0}, гиперосмотические условия). Посевной титр составлял 20000 кл./мл. Водоросли выращивали в течение 35 сут.

Во второй серии экспериментов (II) оценивали вариабельность объемов клеток *A. ussurensis* в условиях осмотического стресса при конкурентном взаимодействии. Из инокулятов водорослей *A. ussurensis* и *C. weissflogii* (Grunow) Stachura-Suchoples et Williams (Diatomeae) (синоним *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hasle) сеяли моно- и смешанные культуры с таким расчетом, чтобы величины биомассы в посевных титрах были равны. Схема посева культур приведена в табл. 1.

Таблица 1
Параметры посева культур *A. ussurensis* и *C. weissflogii* в ходе эксперимента II
Table 1

Description of *A. ussurensis* and *C. weissflogii* cultures in the experiment II

Показатель	Эксперимент II _{8,8}		Эксперимент II _{35,0}		Эксперимент II _{17,5}	
	Однократное внесение перед посевом элементов по прописи среды <i>f/2</i>					
Соленость, ‰	8,8		35,0		17,5 (контроль)	
Посевной титр, кл./мл <i>A. ussurensis</i>	Монокультура 20 · 10 ³	Смешанная культура 10 · 10 ³	Монокультура 20 · 10 ³	Смешанная культура 10 · 10 ³	Монокультура 20 · 10 ³	Смешанная культура 10 · 10 ³
<i>C. weissflogii</i>	6 · 10 ³	3 · 10 ³	6 · 10 ³	3 · 10 ³	6 · 10 ³	3 · 10 ³
Время культивирования, сут	25		21		23	

Целью третьей серии экспериментов (III) являлась оценка кратковременной динамики объемов клеток водоросли *A. ussurensis* в условиях изменения солености. Перед посевом для получения инокулята высокой плотности посевной материал концентрировали посредством центрифугирования на скорости 5 тыс. об./мин. Культуру *A. ussurensis*, находящуюся на экспоненциальной стадии роста, высевали по схеме, представленной в табл. 2.

Таблица 2
Параметры посева культуры *A. ussurensis* в ходе эксперимента III
Table 2

Description of *A. ussurensis* culture in the experiment III

Показатель	Эксперимент III _{8,8}		Эксперимент III _{35,0}			
	Без внесения элементов по прописи среды <i>f/2</i>	Однократное внесение перед посевом элементов по прописи среды <i>f/2</i>	Без внесения элементов по прописи среды <i>f/2</i>	Однократное внесение перед посевом элементов по прописи среды <i>f/2</i>	Однократное внесение перед посевом элементов по прописи среды <i>f/2</i>	
Соленость, ‰	8,8 (III _{8,8-б})	17,5 контроль (III _{17,5-б})	8,8 (III _{8,8+б})	35,0 (III _{35,0-б})	17,5 контроль (III _{17,5-б})	35,0 (III _{35,0+б})
Посевной титр, кл./мл	22,5 · 10 ³	22,5 · 10 ³	28,3 · 10 ³	36,01 · 10 ³	37,8 · 10 ³	48,0 · 10 ³
Время культивирования, сут	2					

Все серии экспериментов проводили в двух повторностях.

Оцениваемые параметры. В интегральной пробе определяли численность клеток и клеточные размеры сразу после посева, а затем каждые 2–3 дня (в эксперименте III — каждый день). Численность клеток (N) оценивали методом прямого подсчета в камере Нажотта. Для каждого эксперимента просчитывали не менее трех камер. Объемы клеток (W) вычисляли по методу геометрического подобия (Hillebrand et al., 1999) на основе измерений линейных размеров не менее 50 клеток. Размеры клеток определяли после фиксации раствором Люголя по их изображению с помощью программного обеспечения для камеры DCM 300, установленной на люминесцентном микроскопе. Поправочный коэффициент 1,33, учитывающий сжатие клеток после фиксации, был опытно подтвержден для *A. ussurensis*. У *C. weissflogii* разница между объемами живых и фиксированных клеток не обнаружена.

Статистический анализ данных. Для сравнения степени варьирования W во времени и в популяциях, росших при различных условиях, использовали коэффициент вариации (CV). Для оценки вклада размерных групп клеток в неоднородность популяции использовали показатель асимметрии (As), рассчитанный как отношение центрального момента третьего порядка к кубу стандартного отклонения. Существенность асимметрии распределения оценивали по средней квадратической ошибке показателя (σ_{As}) (Зайцев, 1984; Елисеева, Юзбашев, 2001). Двукратное значение σ_{As} для пятидесяти измерений составило 0,68. Степень сгруппированности значений и наличие слабо варьирующего по данному признаку «ядра» оценивали с помощью показателя эксцесса (Ex). Существенность Ex , аналогично As , оценивали по средней квадратической ошибке (σ_{Ex}). Для пятидесяти измерений двукратное значение σ_{Ex} составило 1,32. Достоверность различий ($p = 0,05$) средних значений W (P_{cv}) оценивали по критерию Манна-Уитни, достоверность различия CV (P_{cv}) — по критерию Флайгнера-Киллина с использованием программы PAST (PAleontological STatistics) Version 2.04, достоверность различий показателей асимметрии (P_{As}) и эксцесса (P_{Ex}) — по критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Посевной материал *A. ussurensis* в трех сериях экспериментов различался по размерной характеристике (табл. 3), что, вероятно, связано с сезонными изменениями культуры (время проведения эксперимента — с декабря по май) (Godhe, Harnstrom, 2010; Saravanany, Godhe, 2010), стохастическими процессами (Elowitz et al., 2002).

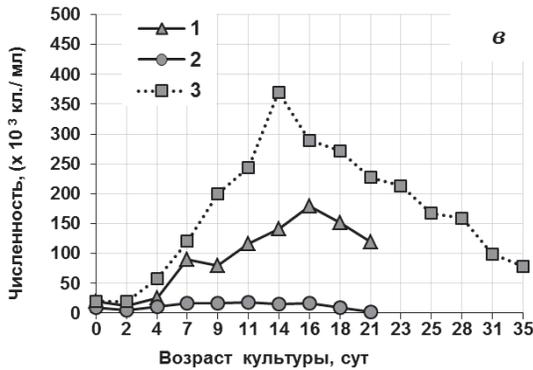
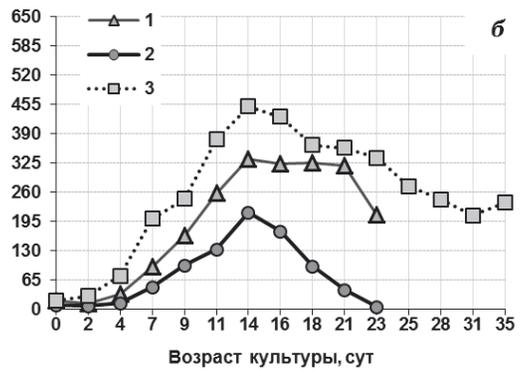
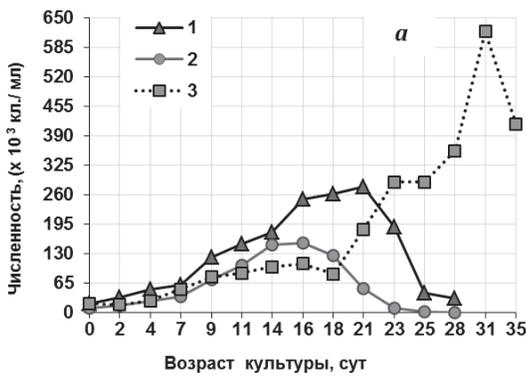
Таблица 3
Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток инокулятов *A. ussurensis* для трех серий экспериментов

Table 3
Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for inoculated *A. ussurensis* in three series of experiments

0 сутки	Эксперимент I	Эксперимент II _{8,8}	Эксперимент II _{17,5}	Эксперимент II _{35,0}	Эксперимент III _{8,8-6}	Эксперимент III _{8,8+6}	Эксперимент III _{35,0-6}	Эксперимент III _{35,0+6}
W_{cp} , мкм ³	731	955	894	1317	1599	1451	980	1621
CV , %	33,5	34,8	50,9	37,6	36,9	30,5	30,6	60,3
As	1,91	0,69	2,84	0,57	0,68	0,43	0,34	2,75
Ex	7,34	0,03	10,80	0,01	0,57	-0,17	-0,64	11,80

Активный рост популяций *A. ussurensis* наблюдался во всех соленостях, за исключением 35 ‰-ной среды в условиях смешанной культуры (см. рисунок).

Объемы клеток в контрольных культурах экспериментов I и II достоверно увеличились на вторые сутки лаг-фазы (табл. 4). Увеличение клеточных размеров продолжилось и в лог-фазе: до 4 сут в эксперименте I_{17,5} и до 7 сут в эксперименте II_{17,5}. Наблюдения за кратковременной динамикой в среде без биогенных элементов показали либо достоверное увеличение W_{cp} ко вторым суткам, либо уменьшение в первые сутки



Динамика численности *A. ussurensis* при солености 8,8 ‰ (а), 17,5 ‰ (б) и 35,0 ‰ (в) в эксперименте I (3), в моно- (1) и смешанной (2) культурах серии экспериментов II

Dynamics of *A. ussurensis* abundance at salinity 8.8 ‰ (а), 17.5 ‰ (б), and 35.0 ‰ (в) in the experiment I (3) and in mono- (1) and mixed (2) cultures in the experiment II

и увеличение до исходных размеров на вторые (табл. 5). Между лог-фазой и стационарной фазой обоих экспериментов размеры клеток достоверно не различались. Объемы клеток уменьшились в двух экспериментах на стадии снижения численности.

Таблица 4
Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток контрольной популяции *A. ussurensis* экспериментов I_{17,5} и II_{17,5}

Table 4
Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for the control population of *A. ussurensis* in the experiments I_{17,5} and II_{17,5}

Показатель		Лаг-фаза	Лог-фаза	Стационарная фаза	Фаза снижения численности
Длительность, сут	I _{17,5}	0–2	4–11	14–16	18–35
	II _{17,5}	0–2	4–11	14–19	21–23
W_{cp} , мкм ³	I _{17,5}	731–1401	1671–1518	1480–1435	1692–978
	II _{17,5}	894–1103	1062–1188	1207–1164	1130–1180
CV, %	I _{17,5}	33,5–49,1	49,0–30,0	31,4–33,0	29,0–39,2
	II _{17,5}	51,0–37,5	50,1–34,0	42,7–43,0	46,5–44,0
As	I _{17,5}	1,91–1,30	2,42–1,45	1,56–0,76	0,15–1,14
	II _{17,5}	2,84–0,70	2,55–0,63	0,87–1,23	1,42–1,03
Ex	I _{17,5}	7,34–1,99	10,03–4,00	3,18–0,34	(–1,00)–1,13
	II _{17,5}	10,80–0,77	8,89–(–0,22)	0,34–3,10	2,71–1,15

Вариабельность параметра статистически значимо увеличилась в лаг-фазе эксперимента I_{17,5} и не изменилась в эксперименте II_{17,5}, исходная культура в котором более неоднородна. В лог-фазе обоих экспериментов вариабельность параметра уменьшилась: до 30 % в I_{17,5} и до 34 % в II_{17,5} ($p = 0,03$ и $0,07$), что согласуется с одним из наблюдений кратковременной динамики в среде без добавления биогенных элементов (III_{17,5–6}) (табл. 5). В дальнейшем значения коэффициента вариации увеличились: в эксперименте II_{17,5} в стационарной фазе ($p = 0,07$), а затем в фазе снижения численности ($p = 0,04$); в эксперименте I_{17,5} — в конце стадии снижения численности ($p = 0,04$). Вариабельность в конце стадии снижения численности между двумя культурами выравнивалась, а по

Таблица 5

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток *A. ussurensis* в контроле (III_{17,5-6}) экспериментов III_{8,8} и III_{35,0}

Table 5

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume of *A. ussurensis* for the control (III_{17,5-6}) in the experiments III_{8,8} and III_{35,0}

Показатель	III _{8,8}	III _{35,0}	III _{8,8}	III _{35,0}	III _{8,8}	III _{35,0}
Длительность, сут	0		1		2	
W_{cp} , мкм ³	1599	980	1241	1050	1444	1264
CV , %	37,0	30,6	29,1	42,0	24,5	30,0
As	0,68	0,34	0,60	2,72	-0,08	0,29
Ex	0,57	-0,64	-0,07	12,80	-0,12	-0,40

отношению к начальному значению в эксперименте I_{17,5} — увеличилась, в II_{17,5} — не изменилась.

Контрольные популяции экспериментов I и II на всем протяжении опыта характеризовались правосторонним смещением в распределении клеточных объемов, которое в основном усиливалось при смене фазы роста и в конце фазы снижения численности. Показатель Ex в целом имел сходную тенденцию, т.е. при усилении правостороннего смещения часто увеличивалась сгруппированность значений. Изменения As и Ex в обоих экспериментах в основном аналогичны.

Наблюдения за кратковременной динамикой объемов клеток при акклимации к понижению солености в среде с добавлением биогенных элементов (эксперимент III_{8,8+6}) показали достоверное увеличение W_{cp} в 1 сут, который не изменился на вторые сутки. Вариабельность параметра не менялась. В гипоосмотических условиях без добавления биогенных элементов (III_{8,8-6}) наблюдалось уменьшение размеров клеток в первые сутки и увеличение до исходных значений на вторые. Значение CV снизилось в течение 2 дней (табл. 6).

Таблица 6

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток *A. ussurensis* в гипоосмотических условиях эксперимента III_{8,8}

Table 6

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for *A. ussurensis* in hypoosmotic conditions in the experiment III_{8,8}

Показатель	III _{8,8+6}	III _{8,8-6}	III _{8,8+6}	III _{8,8-6}	III _{8,8+6}	III _{8,8-6}
Длительность, сут	0		1		2	
W_{cp} , мкм ³	1451	1599	1894	1359	1842	1526
CV , %	30,5	37,0	33,7	32,0	31,1	23,7
As	0,43	0,68	2,06	0,12	0,61	0,40
Ex	-0,17	0,57	9,15	-1,19	0,34	-1,01

В ходе кратковременного эксперимента в гиперосмотических условиях с добавлением биогенных элементов (III_{35,0+6}) средний объем клеток не изменился (табл. 7). CV снизился в течение двух дней наблюдений в отличие от гипоосмотических условий. В гиперосмотических условиях без добавления биогенных элементов (III_{35,0-6}) средний объем также не изменился, и вариабельность параметра достоверно возросла, что противоположно снижению CV в гипоосмотических условиях.

В долговременных экспериментах в гипоосмотических условиях лаг-фаза увеличилась до 18 сут в эксперименте I_{8,8} и до 7 сут в монокультуре эксперимента II_{8,8} (см. рисунок, а). Подобное увеличение лаг-фазы при снижении солености до 8 ‰ уже наблюдалось у *A. ussurensis* (Айздайчер, Стоник, 2013), а также у других видов диатомовых и динофлагеллятовых водорослей при акклимации к понижению солености (Shikata et al., 2008). Следует отметить, что опыты по акклимированию *A. ussurensis* к гипоосмотическим условиям предпринимались неоднократно с сентября по июнь. Удачные эксперименты удалось осуществить только с января по начало мая — в пе-

Таблица 7

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток *A. ussurensis* в гиперосмотических условиях эксперимента III_{35,0}

Table 7

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for *A. ussurensis* in hyperosmotic conditions in the experiment III_{35,0}

Показатель	III _{35,0+6}	III _{35,0-6}	III _{35,0+6}	III _{35,0-6}	III _{35,0+6}	III _{35,0-6}
Длительность, сут	0		1		2	
W_{cp} , мкм ³	1621	980	1504	1155	1605	1019
CV , %	60,3	30,6	42,6	39,5	38,2	41,4
As	2,75	0,34	2,07	0,90	0,79	0,99
Ex	11,80	-0,64	6,74	0,82	1,42	1,21

риод весенней вегетации, тогда как в остальное время водоросль погибала в течение нескольких дней.

В монокультуре экспериментов I_{8,8} и II_{8,8} в продолжении лаг-фазы, в том числе уже на вторые сутки, отмечено достоверное увеличение объемов клеток, что повторяет картину кратковременной динамики эксперимента III_{8,8+6} и контроля (табл. 8). По мере усиления лимитирования недостатком минеральных веществ (стабионарная фаза и фаза снижения численности) объемы клеток уменьшались.

Таблица 8

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток монокультуры *A. ussurensis* в гипоосмотических условиях экспериментов I_{8,8} и II_{8,8} в различные стадии роста

Table 8

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for monoculture of *A. ussurensis* in hypoosmotic conditions in the experiments I_{8,8} and II_{8,8}, by stages of growth

Показатель		Лаг-фаза	Лог-фаза	Стабионарная фаза	Фаза снижения численности
Длительность, сут	I _{8,8}	0–18	21–23	25–28	35
	II _{8,8}	0–6	8–16	18–20	22–25
W_{cp} , мкм ³	I _{8,8}	731–2544	2329–2306	1132–1141	1189
	II _{8,8}	955–1389	1405–1024	1180–1047	1210–1057
CV , %	I _{8,8}	33,5–34,0	30,7–34,0	34,5–35,1	37,1
	II _{8,8}	34,8–37,2	62,1–41,8	50,8–41,8	41,0–35,3
As	I _{8,8}	1,91–0,46	0,59–0,48	0,45–1,15	1,14
	II _{8,8}	0,69–0,41	4,06–1,68	1,70–0,90	2,24–1,01
Ex	I _{8,8}	7,34–(-0,75)	(-0,15)–(-0,38)	1,15–1,68	2,67
	II _{8,8}	0,03–(-1,12)	22,80–3,74	3,90–1,10	7,61–3,55

CV в эксперименте I_{8,8} увеличился на вторые сутки аналогично контролю (I_{17,5}) и к середине лаг-фазы (7-е сутки) снизился до исходного уровня. В эксперименте II_{8,8} увеличение варьирования на вторые сутки находилось на грани 5 %-ного уровня значимости ($p = 0,11$), однако на четвертые сутки по сравнению со вторыми происходит достоверное уменьшение CV до уровня исходной культуры. Увеличение варьирования не соответствует кратковременной динамике (III_{8,8+6}) и контролю (II_{17,5}). В дальнейшем CV в обоих экспериментах не изменился.

Популяции микроводоросли в условиях гипоосмотического стресса на всем протяжении эксперимента характеризовались положительной асимметрией в распределении клеточных объемов, как и в контрольном опыте. В эксперименте I_{8,8} наибольшее (после 0 сут) значение As наблюдалось на вторые сутки, когда отмечен максимальный CV (табл. 8). Затем в продолжении лаг-, лог- и в начале стабионарной фазы As уменьшился. Асимметрия значительно смещается в положительную сторону в конце стабионарной фазы и в фазе снижения численности. В эксперименте II_{8,8} динамика асимметрии в целом идентична, за исключением более раннего усиления правостороннего смещения — с конца лог-фазы. Максимальное значение показателя As , как и Ex , в эксперименте II_{8,8} отмечается в начале лог-фазы (8-е сутки), что связано с наличием

небольшого количества (около 2 %) чрезвычайно крупных клеток. Показатель эксцесса в двух экспериментах на протяжении всего культивирования находится в пределах значения, близкого к нормальному распределению, и существенно увеличивается в положительную сторону в эксперименте $I_{8,8}$ в начале лаг-фазы, в конце стационарной фазы и в фазе снижения численности; в $II_{8,8}$ — с конца лог-фазы.

Особенностью кривых роста водоросли в гиперосмотических условиях явилось отсутствие стационарной стадии (см. рисунок, б). Увеличение W_{cp} на вторые сутки, аналогично предыдущим опытам ($I_{17,5}$, $II_{17,5}$, $I_{8,8}$, $II_{8,8}$), отмечено как в $I_{35,0}$, так и в монокультуре $II_{35,0}$ (табл. 9), что отлично от кратковременной динамики в среде с добавлением биогенных элементов (III_{35+6}). В начале лог-фазы обоих экспериментов объемы клеток не изменились, повторив кратковременную динамику в среде без внесения биогенных элементов ($III_{35,0-6}$). В эксперименте $I_{35,0}$ объемы увеличились при переходе в лог-фазу. В течение лог-фазы и фазы снижения численности W_{cp} не изменилось, объемы уменьшились в конце стадии снижения численности. В эксперименте $II_{35,0}$ после увеличения в лаг-фазе объемы уменьшились ниже исходного размера к концу лог-фазы; между лог-фазой и фазой снижения численности объемы не различались.

Таблица 9

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток монокультуры *A. ussurensis* в гиперосмотических условиях экспериментов $I_{35,0}$ и $II_{35,0}$ в различные стадии роста
Table 9

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for monoculture of *A. ussurensis* in hyperosmotic conditions in the experiments $I_{35,0}$ and $II_{35,0}$ by stages of growth

Показатель		Лог-фаза	Лог-фаза	Фаза снижения численности
Длительность, сут	I_{35}	0–2	4–14	16–35
	II_{35}	0–2	4–16	18–21
W_{cp} , мкм ³	I_{35}	731–1213	1592–1717	1730–835
	II_{35}	1317–1927	1607–1114	1042–1034
CV, %	I_{35}	33,5–34,5	41,3–44,6	39,1–33,9
	II_{35}	37,6–43,2	33,0–40,4	37,0–33,5
As	I_{35}	1,91–0,54	0,57–1,04	1,09–0,84
	II_{35}	0,57–0,68	0,85–0,99	0,82–0,56
Ex	I_{35}	7,34–(–0,34)	–0,53–0,65	0,73–0,77
	II_{35}	0,01–(–0,16)	0,97–0,71	0,50–(–0,70)

CV в экспериментах $I_{35,0}$ и $II_{35,0}$ на вторые сутки не изменился, в отличие от снижения в кратковременной динамике $III_{35,0+6}$. Вариабельность параметра при переходе лаг- в лог-фазу увеличилась в эксперименте I_{35} и уменьшилась в $II_{35,0}$. В лог-фазе обоих экспериментов вариабельность не изменилась, что отличается от увеличения CV в кратковременной динамике $III_{35,0-6}$. На стадии снижения численности CV уменьшился до уровня исходной культуры в эксперименте $I_{35,0}$ и не изменился в $II_{35,0}$.

Популяции микроводоросли в гиперосмотических условиях аналогично гипоосмотическим условиям и контролю характеризовались положительной асимметрией. В конце лог-фазы и на протяжении почти всей фазы снижения численности в эксперименте $I_{35,0}$, а также в течение всей лог-фазы и в начале фазы снижения численности в эксперименте $II_{35,0}$ отмечалось достоверное усиление правосторонней асимметрии. Существенное увеличение положительного эксцесса за время культивирования наблюдалось лишь в двух днях фазы снижения численности эксперимента $I_{35,0}$ и в двух днях лог-фазы эксперимента $II_{35,0}$. В эти дни значения As максимальны (табл. 9).

В смешанных культурах увеличение численности *A. ussurensis* наблюдалось во всех соленостях, кроме 35 %. В гиперосмотических условиях культура находилась в угнетенном состоянии: клеточное деление ингибировалось на протяжении всего эксперимента, численность клеток увеличивалась лишь в пределах двукратного значения (см. рисунок, б), что свидетельствовало о конкурентных взаимодействиях между водорослями (Белевич и др., 2009). В табл. 10 представлено условное выделение стадий роста культуры в эксперименте $II_{35,0}$.

Таблица 10

Средний объем клеток и статистические параметры объемов клеток в смешанных культурах *A. ussurensis* в гипо- и гиперосмотических условиях экспериментов П_{8,8} и П_{35,0} в различные стадии роста

Table 10

Mean cell volume and statistical parameters of cell volume for mixed cultures of *A. ussurensis* in hypo- and hyperosmotic conditions in the experiments П_{8,8} and П_{35,0}, by stages of growth

Показатель	Лаг-фаза	Лог-фаза	Стационарная фаза	Фаза снижения численности	
Длительность, сут	П _{8,8}	0–2	4–13	13–16	18–25
	П _{35,0}	0–2	4–7	9–16	18–21
W_{cp} , мкм ³	П _{8,8}	955–1260	1218–1077	1077–1117	1254–1108
	П _{35,0}	1317–1848	1549–1668	1659–1251	1270–1234
CV, %	П _{8,8}	34,8–35,2	30,8–36,5	36,5–41,1	36,6–26,7
	П _{35,0}	37,6–47,2	31,1–40,0	49,5–33,0	45,6–31,1
As	П _{8,8}	0,69–1,37	0,08–0,75	0,75–0,69	0,79–0,70
	П _{35,0}	0,57–1,69	0,36–1,37	1,41–0,85	2,69–1,88
Ex	П _{8,8}	0,03–2,39	–0,26–1,08	1,08–0,16	1,26–1,68
	П _{35,0}	0,01–2,22	0,40–1,81	2,03–1,33	10,50–6,11

В смешанной культуре как в гипо-, так и в гиперосмотических условиях наблюдалось увеличение среднего размера клеток *A. ussurensis* в лаг-фазе, что повторяло общую динамику размеров клеток в средах, обогащенных биогенными элементами. С конца лог-фазы в 8,8 % и с конца условно стационарной фазы в 35,0 % объемы уменьшались. Между смешанной и монокультурами как в гипо-, так и в гиперосмотических условиях значения W_{cp} не различались.

Популяция *A. ussurensis* во всех соленостях подверглась конкурентному исключению. В гипоосмотических условиях у *A. ussurensis* на шестые сутки лог-фазы отмечалось увеличение CV до 43,0 %, а у совместно растущей культуры *C. weissflogii* увеличение CV до 43,3 % наблюдалось почти в конце культивирования при переходе лог-фазы в стационарную (22-е сутки). В гиперосмотических условиях у *A. ussurensis* увеличение CV до 49,5 % произошло на девятые сутки в начале стационарной фазы, у *C. weissflogii* увеличение вариабельности до 48,0 % отмечено лишь к концу культивирования аналогично гипоосмотическим условиям. Между моно- и смешанной культурами во всех соленостях CV объемов клеток *A. ussurensis* достоверно не различался.

Как в гипо-, так и в гиперосмотических условиях динамика показателя As в популяции *A. ussurensis* в целом сходна между моно- и смешанной культурами. Однако значения As и Ex в гипоосмотических условиях более смещены в положительную сторону в монокультуре по сравнению со смешанной. В гиперосмотических условиях, напротив, правостороннее смещение более выражено в смешанной культуре. В контрольных экспериментах значения As и Ex между моно- и смешанной культурами существенно не различались.

В ходе экспериментов четко прослеживается зависимость значений W_{cp} от изменения концентрации биогенных элементов и выявляется общая тенденция: увеличение объемов клеток микроводорослей при наличии биогенных элементов и уменьшение — при усилении лимитирования недостатком. Подобная тенденция была описана и у других видов диатомовых водорослей (Lynn et al., 2000; Leynaert et al., 2004; Marchetti, Harrison, 2007; Peter, Sommer, 2013).

На изменение объемов клеток между фазами роста соленость среды не оказывает существенного влияния. Так, увеличение W_{cp} в лаг-фазе наблюдается во всех соленостях, за исключением кратковременного эксперимента в гиперосмотических условиях, при этом клеточные объемы в лог-фазе экспериментов с одинаковой соленостью изменяются различно, лишь в гипоосмотических условиях во всех экспериментах средний объем клеток остается постоянным. Изменения объемов клеток в лог-фазе в большей мере зависят от их исходного размера и степени увеличения объемов в лаг-фазе. В целом зависимости объемов клеток от солености среды не наблюдается.

Следует отметить, что в эксперименте $I_{8,8}$ увеличение объемов клеток в ходе роста популяции было бóльшим, чем во всех остальных сериях экспериментов. При этом в монокультуре эксперимента $II_{8,8}$ изменения клеточных объемов были сопоставимы с изменениями при других соленостях. На увеличение размеров клеток *A. ussurensis* по мере опреснения среды указывается в работах Н.А. Айздайчер и Ж.В. Маркиной (2011), Н.А. Айздайчер (2013). Подобные изменения клеточных размеров отмечены и у других видов диатомей. Так, у *Thalassiosira weissflogii* наблюдается укрупнение клеток с понижением уровня солености (García et al., 2012), у *Cyclotella meneghiniana* — уменьшение среднего диаметра и высоты клеток при солености 30 ‰ (Roubeix, Lancelot, 2008). Стоит отметить, что Balzano с соавторами (2011) наблюдали как укрупнение клеток *Skeletonema subsalsum* при воздействии 35 ‰-ной среды, так и отсутствие заметного влияния солености на объем клеток других видов *Skeletonema*. Кроме того, клетки различались размерами в пределах одной колонии, являясь генетически идентичными. Следует помнить, что, сопоставляя результаты, необходимо учитывать условия эксперимента и исходное состояние водоросли. Так, в работе Н.А. Айздайчер (2013) размеры клеток популяции *A. ussurensis*, акклиматизированной к солености 32 ‰, изучали при регулярном пересеве культуры через 7 сут. Balzano с соавторами (2011) исследовали виды *Skeletonema* после недельной акклиматизации к новым условиям, без резких изменений солености. В работе Roubeix и Lancelot (2008) различия размеров клеток между низкой и высокой соленостью у выделенной из пресноводного водоема диатомеи *C. meneghiniana* наблюдали в условиях дефицита биогенных элементов. Различные тенденции в изменениях длины и ширины клеток пяти диатомовых видов, изолированных из пресной и морской среды обитания, наблюдались в том числе между видами, выделенными из среды с одинаковой соленостью (Trobajo et al., 2011).

Известно, что физиологические и ростовые характеристики штаммов *in vitro*, которые культивировались в течение длительного времени, могут изменяться по сравнению со свойствами культур *in situ*, особенно если условия культивирования значительно отличаются от естественных, поскольку происходит селекционирование свойств, способствующих быстрому росту в условиях культивирования, и меняется генетическая структура штамма (Lakeman et al., 2009; Balzano et al., 2011). Кроме того, существующая внутривидовая генетическая изменчивость, эпигенетические факторы создают основу генетической, физиологической и морфологической неоднородности популяции (Armbrust, Chisholm, 1992; Ryneerson, Armbrust, 2004; Ellegaard et al., 2008; Maumus et al., 2011; Traller, Hildebrand, 2013). Среди причин возникновения внутривидовой гетерогенности следует отметить и то явление, при котором клетки, наследующие гипотеку, получают большую долю родительской цитоплазмы и вследствие этого быстрее увеличиваются в размерах и проявляют повышенные скорости деления (Laney et al., 2012).

Результаты нашего исследования свидетельствуют о влиянии солености на вариабельность объемов клеток *A. ussurensis*. Так, в гиперосмотических условиях в лаг-фазе нет случаев увеличения вариабельности, в то время как в контроле и в гипоосмотических условиях наблюдается увеличение *CV*; в лог-фазе только в гиперосмотических условиях отмечается увеличение коэффициента вариации. В фазе снижения численности увеличение вариабельности наблюдается лишь в контрольной популяции. К.И. Шоренко с соавторами (2014) отмечают влияние солености на степень варьирования длины и ширины клеток *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga*. При этом диапазон варьирования ширины клеток был гораздо шире при высокой солености, а варьирования длины инициальных клеток — при низкой. Влияние солености на вариабельность было обнаружено и для других морфологических признаков диатомей (Håkansson, Cherpurnov, 1999; Шоренко и др., 2014).

Во всех соленостях клеточные объемы распределены с правосторонней асимметрией различной степени. Практически всегда увеличение *CV* сопровождается достоверным усилением правосторонней асимметрии, однако на увеличении сгруппированности значений это находит отражение менее чем в 70 % случаев. Таким образом, в

большинстве случаев модальные значения клеточных объемов находятся в диапазоне значений меньше среднего (Елисеева, Юзбашев, 2001), и внутривидовая гетерогенность преимущественно обусловлена разнообразием размеров крупных клеток. При этом следует отметить, что не наблюдается обратной зависимости, при которой увеличение правостороннего смещения всегда сопровождается увеличением варьирования признака: часто с резко выраженной положительной асимметрией значения CV — одни из наименьших. Значительное усиление асимметрии во всех соленостях часто отмечается при смене фазы роста. У показателя эксцесса подобной закономерности не наблюдается. Величина асимметрии между соленостями в целом не различается. Из этого следует, что на распределение объемов клеток соленость не оказывает существенного влияния, в отличие от концентрации биогенных элементов.

Сгруппированность значений клеточных объемов в монокультурах, изменяясь в процессе роста популяции, не зависит, по крайней мере четко выражено, как от солености, так и от наличия биогенных элементов и обуславливается, по-видимому, физиологическими процессами и стохастическими причинами, и, как следствие, усиление правостороннего смещения не во всех случаях сопровождается увеличением сгруппированности значений. Однако существенное усиление сгруппированности значений происходит на фоне резко выраженной правосторонней асимметрии за счет появления небольшого количества чрезвычайно крупных клеток.

По-видимому, влияние солености на распределение объемов клеток существует в условиях конкуренции, поскольку значения As и Ex в гипо- и гиперосмотических условиях различны между моно- и смешанными культурами и почти идентичны в контроле. Вероятно, двойной стресс — изменение солености и присутствие конкурента — влияет на неоднородность популяции *A. ussurensis*. Судя по значениям показателей асимметрии и эксцесса, можно предположить, что понижение солености опосредованно вызывает в смешанной культуре более равномерное распределение объемов, а повышение солености, напротив, усиливает неоднородность. Вероятно, это обусловлено различными механизмами акклимации к гипо- и гиперосмотическим стрессам (Hellebust, 1976; Спектров, Строганов, 1979; Bisson, Kirst, 1995; Курочкина и др., 2013) и видоспецифичными механизмами осмоакклимации (Admiraal, 1977; Ahmad, Hellebust, 1984, 1988; Радченко, Ильяш, 2006; Shikata et al., 2008). Как в условиях совместного культивирования *A. ussurensis* и *C. weissflogii*, так и в случае монокультур средние объемы клеток не различаются, и конкуренция проявляется в подавлении роста численности *A. ussurensis*.

Заключение

Объемы клеток диатомовой водоросли *A. ussurensis* в модельной системе коррелируют с концентрацией биогенных элементов: отмечается увеличение объемов при оптимальном содержании биогенных элементов и уменьшение — в условиях усиления лимитирования недостатком минеральных элементов. Зависимость объемов клеток от солености среды не прослеживается.

Наблюдается влияние солености на вариабельность объемов клеток и, следовательно, на гетерогенность популяции. Внутривидовая гетерогенность преимущественно обусловлена разнообразием размеров крупных клеток.

В монокультуре на характер асимметрии распределения объемов клеток оказывает влияние концентрация биогенных элементов, однако влияние солености на данную характеристику популяции не выявлено. Между фазами роста отмечается усиление правостороннего смещения как в условиях осмотического стресса, так и в его отсутствие. Показатель эксцесса изменяется независимо от концентрации биогенных элементов и солености.

В смешанной культуре в присутствии возможного конкурента *C. weissflogii* характер показателей асимметрии и эксцесса распределения клеточных объемов *A. ussurensis* отличается от такового в монокультуре как при снижении, так и при повышении солености. Средние значения объемов клеток между смешанной и монокультурами не различаются.

Список литературы

- Айздайчер Н.А.** Соленостные адаптации одноклеточной водоросли *Attheya ussurensis* (Bacillariophyta) // Изв. ТИНРО. — 2013. — Т. 173. — С. 223–229.
- Айздайчер Н.А., Маркина Ж.В.** Влияние солености морской воды на рост, содержание фотосинтетических пигментов и размер клеток бентосной водоросли *Attheya ussurensis* Stonik, Orlova et Crawford, 2006 (Bacillariophyta) // Биол. моря. — 2011. — Т. 37, № 6. — С. 455–460.
- Айздайчер Н.А., Стоник И.В.** Влияние солености морской воды на виды рода *Attheya* West (Bacillariophyta) из Японского моря (Россия) // Альгология. — 2013. — Т. 23, № 1. — С. 37–46.
- Белевич Т.А., Запара Е.В., Ильяш Л.В.** Взаимодействие между планктонными водорослями при разных источниках азота // Усп. совр. биологии. — 2009. — Т. 129, № 4. — С. 379–385.
- Воронова Е.Н., Ильяш Л.В., Погосян С.И. и др.** Внутрипопуляционная гетерогенность параметров флуоресценции у морской планктонной водоросли *Thalassiosira weissflogii* при разной обеспеченности азотом // Микробиология. — 2009. — Т. 78, № 4. — С. 469–478.
- Елисеева И.И., Юзбашев М.М.** Общая теория статистики : учеб. — М. : Финансы и статистика, 2001. — 480 с.
- Зайцев Г.Н.** Математическая статистика в экспериментальной ботанике : моногр. — М. : Наука, 1984. — 424 с.
- Ильяш Л.В., Курочкина В.А., Белевич Т.А., Погосян С.И.** Флуоресценция отдельных клеток водоросли *Conticribra weissflogii* при гиперосмотическом стрессе // Вопр. совр. альгологии. — 2012. — № 2(2). <http://algology.ru/131>
- Курочкина В.А., Белевич Т.А., Погосян С.И., Ильяш Л.В.** Изменчивость флуоресценции отдельных клеток водоросли *Conticribra weissflogii* при осмотическом стрессе // Вода: химия и экология. — 2013. — № 2. — С. 71–76.
- Орлова Т.Ю., Айздайчер Н.А., Стоник И.В. и др.** Морфология, развитие и состояние фотосинтетического аппарата диатомовой водоросли *Attheya ussurensis* Stonik, Orlova et Crawford, 2006 (Bacillariophyta) в условиях длительного культивирования // Биол. моря. — 2011. — Т. 37, № 6. — С. 403–412.
- Прохоцкая В.Ю., Веселова Т.В., Веселовский В.А. и др.** Размерно-возрастная структура лабораторной популяции *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. в присутствии сульфата имазалила // Альгология. — 2002. — Т. 12, № 3. — С. 376–384.
- Радченко И.Г., Ильяш Л.В.** Рост и фотосинтетическая активность диатомовой водоросли *Thalassiosira weissflogii* при снижении солености // Изв. АН. Сер. Биол. — 2006. — № 3. — С. 306–313.
- Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Орлеанская О.Б.** К физиологической характеристике *Chlorella* sp. К при высоких экстремальных температурах. I. Разобщающее действие экстремальных температур на клеточные функции хлореллы // Физиол. раст. — 1967. — Т. 14, вып. 4. — С. 612–625.
- Соломонова Е.С.** Вариабельность размеров у некоторых видов черноморских диатомей // Экология моря. — 2009. — Вып. 78. — С. 81–86.
- Спектров К.С., Строганов Б.П.** Механизмы, обеспечивающие устойчивость морских и пресноводных водорослей к изменению осмотического давления окружающей среды // Физиол. раст. — 1979. — Т. 26, № 5. — С. 967–977.
- Стоник И.В., Орлова Т.Ю., Айздайчер Н.А.** Диатомовые водоросли рода *Attheya* West, 1860 из Японского моря // Биол. моря. — 2006. — Т. 32, № 2. — С. 142–145.
- Тарасенко А.А., Теренько Л.М.** Особенности экологии и распределения диатомовой водоросли *Attheya decora* West, 1860 в Одесском заливе (Черное море) // Вісник ОНУ. — 2008. — Т. 13, вып. 14. — С. 111–117.
- Шоренко К.И., Давидович Н.А., Давидович О.И.** Влияние солености на морфологические характеристики панцирей двух близких видов диатомовых водорослей *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow и *N. rectilonga* Takano // Морський екологічний журнал. — 2014. — Т. 13, № 3. — С. 75–80.
- Admiraal W.** Salinity tolerance of benthic estuarine diatoms as tested with a rapid polarographic measurement of photosynthesis // Mar. Biol. — 1977. — Vol. 39. — P. 11–18.
- Ahmad I., Hellebust J.A.** Osmoregulation in the extremely euryhaline marine microalga *Chlorella autotrophica* // Plant Physiol. — 1984. — Vol. 74, № 4. — P. 1010–1015.
- Ahmad I., Hellebust J.A.** The relationship between inorganic nitrogen metabolism and proline accumulation in osmoregulatory responses of two euryhaline microalgae // Plant Physiol. — 1988. — Vol. 88. — P. 348–354.
- Armbrust E.V., Chisholm S.W.** Patterns of cell size change in a marine centric diatom: variability evolving from clonal isolates // J. Phycol. — 1992. — Vol. 28(2). — P. 146–156.

- Balzano S., Sarno D., Ekooistra W.H.C.** Effect of salinity on the grown rate and morphology of ten *Skeletonema* strains // J. Plant Res. — 2011. — Vol. 33(6). — P. 937–945.
- Bergquist A.M., Carpenter S.R., Latino J.C.** Shifts in phytoplankton size structure and community composition during grazing by contrasting zooplankton assemblages // Limnol. and Oceanogr. — 1985. — Vol. 30, № 5. — P. 1037–1045.
- Bisson M.A., Kirst G.O.** Osmotic acclimation and turgor pressure regulation in algae // Naturwissenschaften. — 1995. — Vol. 82. — P. 461–471.
- Bucci V., Nunez-Milland D., Twining D.S., Hellweger F.L.** Microscale patchiness leads to large and important intraspecific internal nutrient heterogeneity in phytoplankton // Aquat. Ecol. — 2012. — Vol. 46. — P. 101–118.
- Chisholm S.W.** Phytoplankton size // Primary productivity and biogeochemical cycles in the sea. — N.Y. : Plenum Press, 1992. — P. 213–237.
- Crawford R.M., Gardner C., Medlin L.K.** The genus *Attheya*. 1. A description of four new taxa, and the transfer of *Gonioceros septentrionalis* and *G. armatus* // Diatom Res. — 1994. — Vol. 9(1). — P. 27–51.
- Dassow P., Petersen T.W., Chepurinov V.A., Armbrust E.V.** Inter- and intraspecific relationships between nuclear DNA content and cell size in selected members of the centric diatom genus *Thalassiosira* (Bacillariophyceae) // J. Phycol. — 2008. — Vol. 44, № 2. — P. 335–349.
- Ellegaard M., Godhe A., Härnström K., McQuoid M.** The species concept in a marine diatom: LSU rDNA-based phylogenetic differentiation in *Skeletonema marinoi/dohrnii* (Bacillariophyceae) is not reflected in morphology // Phycol. — 2008. — Vol. 47(2). — P. 156–167.
- Elowitz M.B., Levine A.J., Siggia E.D., Swain P.S.** Stochastic gene expression in a single cell // Science. — 2002. — Vol. 297. — P. 1183–1186.
- García N., López-Eliás J.A., Miranda A. et al.** Effect of salinity on growth and chemical composition of the diatom *Thalassiosira weissflogii* at three culture phases // Lat. Am. J. Aquat. Res. — 2012. — Vol. 40(2). — P. 435–440.
- Godhe A., Harnstrom K.** Linking the planktonic and benthic habitat: genetic structure of the marine diatom *Skeletonema marinoi* // Molecular Ecology. — 2010. — doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04841.x.
- Guillard R.R.L., Ryther J.H.** Studies on marine diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Can. J. Microbiol. — 1962. — Vol. 8. — P. 229–239.
- Håkansson H., Chepurinov V.** A study of variation in valve morphology of diatom *Cyclotella meneghiniana* in monoclonal cultures: effect of auxospore formation and different salinity conditions // Diatom Res. — 1999. — Vol. 14, № 2. — P. 251–272.
- Hecky R.E., Kilham P.** Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of enrichment // Limnol. and Oceanogr. — 1988. — Vol. 33, № 4, pt 2. — P. 796–822.
- Hellebust J.A.** Osmoregulation // Ann. Rev. Plant Physiol. — 1976. — Vol. 27. — P. 485–505.
- Hillebrand H., Durselen C.-D., Kirschtel D. et al.** Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae // J. Phycol. — 1999. — Vol. 35. — P. 403–424.
- Kirst G.O.** Salinity tolerance of eukaryotic marine algae // Annual review of plant biology. — 1989. — Vol. 40. — P. 21–53.
- Lakeman M.B., Dassow P., Cattolico R.A.** The strain concept in phytoplankton ecology // Harmful Algae. — 2009. — Vol. 8. — P. 746–758.
- Laney S., Olson R., Sosik H.** Diatoms favor their younger daughters // Limnol. and Oceanogr. — 2012. — Vol. 57(5) — P. 1572–1578.
- Leynaert A., Bucciarelli E., Claquin P. et al.** Effect of iron deficiency on diatom cell size and silicic acid uptake kinetics // Limnol. and Oceanogr. — 2004. — Vol. 49. — P. 1134–1143.
- Lynn S.G., Kilham S.S., Kreeger D.A., Interlandi S.J.** Effect of nutrient availability on the biochemical and elemental stoichiometry in the freshwater diatom *Stephanodiscus minutulus* (Bacillariophyceae) // J. Phycol. — 2000. — Vol. 36(3). — P. 510–522.
- Marchetti A., Harrison P.J.** Coupled changes in the cell morphology and the elemental (C, N, and Si) composition of the pennate diatom *Pseudo-nitzschia* due to iron deficiency // Limnol. and Oceanogr. — 2007. — Vol. 52(5). — P. 2270–2284.
- Martín-Cereceda M., Cox E.J.** Morphological variation in a small *Thalassiosira* species (Bacillariophyta) under different culture regimes // Botanica Marina. — 2011. — Vol. 54, № 6. — P. 563–574.
- Maurus F., Rabinowicz P., Bowler C., Rivarola M.** Stemming epigenetics in marine stramenopiles // Current Genomics. — 2011. — Vol. 12, № 5. — P. 357–370.

Montagnes D.J.S., Franklin M. Effect of temperature on diatom volume, growth rate, and carbon and nitrogen content: reconsidering some paradigms // *Limnol. and Oceanogr.* — 2001. — Vol. 46, № 8. — P. 2008–2018.

Nagai S., Imai I. The effect of salinity on the size of initial cells during vegetative cell enlargement of *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyceae) in culture // *Diatom Res.* — 1999. — Vol. 14, № 2. — P. 337–342.

Peter K.H., Sommer U. Phytoplankton cell size reduction in response to warming mediated by nutrient limitation // *PLoS ONE.* — 2013. — Vol. 8(9). — doi: 10.1371/journal.pone.0071528.

Roubeix V., Lancelot C. Effect of salinity on growth, cell size and silicification of an euryhaline freshwater diatom: *Cyclotella meneghiniana* Kütz. // *Transit. Waters Bull.* — 2008. — Vol. 1. — P. 31–38.

Rynearson T.A., Armbrust E.V. Genetic differentiation among populations of the planktonic marine diatom *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae) // *J. Phycol.* — 2004. — Vol. 40(1). — P. 34–43.

Saravanany V., Godhe A. Genetic heterogeneity and physiological variation among seasonally separated clones of *Skeletonema marinoi* (Bacillariophyceae) in the Gullmar Fjord, Sweden // *Eur. J. Phycol.* — 2010. — Vol. 45(2). — P. 177–190.

Shikata T., Nagasoe S., Oh S.J. et al. Effects of down- and up-shocks from rapid changes of salinity on survival and growth of estuarine phytoplankters // *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* — 2008. — Vol. 53(1). — P. 81–87.

Sommer U. Phytoplankton competition in Plußsee: a field test of the resource-ratio hypothesis // *Limnol. and Oceanogr.* — 1993. — Vol. 38, № 4. — P. 838–845.

Stonik I.V., Orlova T.Yu., Crawford R.M. *Attheya ussurensis* sp. nov. (Bacillariophyta) — a new marine diatom from the coastal waters of the Sea of Japan and a reappraisal of the genus // *Phycol.* — 2006. — Vol. 45(2). — P. 141–147.

Sunda W.G., Huntsman S.A. Interrelated influence of iron, light and cell size on marine phytoplankton growth // *Nature.* — 1997. — Vol. 390. — P. 389–392.

Tall L., Cloutier L., Cattaneo A. Grazer-diatom size relationships in an epiphytic community // *Limnol. and Oceanogr.* — 2006. — Vol. 51, № 2. — P. 1211–1216.

Traller J.C., Hildebrand M. High throughput imaging to the diatom *Cyclotella cryptica* demonstrates substantial cell-to-cell variability in the rate and extent of triacylglycerol accumulation // *Algal Research.* — 2013. — Vol. 2. — P. 244–252.

Trobajo R., Rovira L., Mann D.G., Cox E.J. Effects of salinity on growth and on valve morphology of five estuarine diatoms // *Phycol. Research.* — 2011. — Vol. 59. — P. 83–90.

Поступила в редакцию 29.01.16 г.