

БЕСПЛАТНО

1 элз

Академия наук СССР
Ботанический институт имени В.Л.Комарова

На правах рукописи

УДК 582.272.462:58.084(268.46+268.45)

МАКАРОВ Владимир Николаевич

ПОВЕДЕНИЕ ЗООСПОР И РАННИЕ СТАДИИ РАЗВИТИЯ

LAMINARIA SACCHARINA (L.) LAMOUR.

БЕЛОГО И БАРЕНЦЕВА МОРЕЙ

Специальность 03.00.05 - ботаника

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ленинград

1987

Академия наук СССР
Ботанический институт имени В.Л.Комарова

На правах рукописи

УДК 582.272.462:58.084(268.46+268.45)

МАКАРОВ Владимир Николаевич

ПОВЕДЕНИЕ ЗООСПОР И РАННИЕ СТАДИИ РАЗВИТИЯ
LAMINARIA SACCHARINA (L.) LAMOUR.
БЕЛОГО И БАРЕНЦЕВА МОРЕЙ

Специальность 03.00.05 - ботаника

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Ленинград

1987

Работа выполнена в Мурманском морском биологическом институте ордена Ленина Кольского филиала Академии наук СССР имени С.М.Кирова и в Северном отделении Полярного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии имени Н.М.Книповича.

Научный руководитель -

доктор биологических наук Ю.Е.ПЕТРОВ

Официальные оппоненты -

доктор биологических наук К.Л.ВИНОГРАДОВА

доктор биологических наук К.М.ХАЙЛОВ

Ведущее учреждение - Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО).

Защита состоится 15 апреля 1987 г. в 14 часов на заседании специализированного совета К 002.46.01 в Ботаническом институте имени В.Л.Комарова.

Адрес: 197022, Ленинград, ул.проф.Попова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Автореферат разослан "14" марта 1987 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук

Т.В.Далецкая

Т.В.ДАЛЕЦКАЯ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Научной основой культивирования любого объекта являются всесторонние знания его биологии. Общие представления о культивируемых видах водорослей вполне сформировались, тогда как проявления частных особенностей, обусловленных микрорезволюционным процессом, формирующим адаптивность строения и функции организмов к абиотическим и биотическим условиям среды, сложившимся в том или ином регионе или популяции, исследованы, как правило, еще недостаточно.

Это в полной мере относится к ламинарии сахаристой - *Laminaria saccharina* (L.) Lamour (Phaeophyta) Белого и Баренцева морей, которая является в настоящее время основным сырьем для производства альгината и маннита, используемых во многих отраслях промышленности и медицине. Потребность в данных веществах не может быть удовлетворена за счет имеющихся в наших морях естественных сырьевых запасов альгино- и маннито-содержащих водорослей, что заставляет обратить особое внимание на их культивирование.

Первые же опыты по культивированию ламинарии сахаристой, начатые на Белом и Баренцевом морях в 1975 году, вскрыли серьезные пробелы в наших знаниях о данном объекте. В силу методических трудностей все ранее проведенные исследования в этих морях ограничивались изучением различных сторон биологии макроскопического спорофита, и в результате биологические особенности микроскопических стадий развития в жизненном цикле ламинарии сахаристой в данных регионах оказались совершенно не изученными.

Ряд сторон биологии ранних стадий развития слабо изучены или почти не изучены не только у ламинарии сахаристой, но и у других видов порядка *Laminariales* из разных регионов Мирового океана, что создает дополнительные трудности для разработки биологических основ ее культивирования. Ограниченность данных о ранних стадиях развития ламинарии сахаристой и особое значение такой информации как научной основы, начальных звеньев культивирования определили цель и задачи данной работы.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы было изучение закономерностей и особенностей биологии ранних стадий развития ламинарии сахаристой Белого и Баренцева морей, включая выход зооспор из спорангиев, их поведение в процессе пелагической жизни и оседании на субстрат, развитие гаметофита и раннего спорофита. В связи с чем были поставлены следующие задачи: 1) исследовать механизм и определить стимулы выхода зооспор из спорангиев, 2) изучить динамику выхода зооспор из слоевища стимулированной ламинарии в зависимости от продолжительности стимулирования и уровня зрелости спороносной ткани, 3) оценить репродуктивный потенциал спороншения, 4) изучить влияние температуры на двигательную активность зооспор, 5) исследовать особенности оседания зооспор на различные субстраты, 6) определить условия, способствующие агрегированию зооспор при оседании на субстрат, 7) изучить влияние температуры, освещенности и плотности посева зооспор на развитие гаметофита и раннего спорофита, 8) разработать на основе исследований поведения зооспор и ранних стадий развития ламинарии сахаристой практические рекомендации по ее культивированию.

Научная новизна работы. На основе экспериментальных методов, в большинстве случаев разработанных автором, при использовании, как правило, общедоступных и простых технических средств и оборудования проведены исследования поведения зооспор и ранних стадий развития ламинарии сахаристой. При этом впервые: 1) определены стимулы и дано объяснение механизма выхода зооспор из спорангиев; 2) рассматриваются особенности выхода зооспор у ламинарии сахаристой Белого и Баренцева морей; 3) выявлены закономерности динамики выхода зооспор из стимулированной ламинарии; 4) определена зависимость локомоторной активности зооспор ламинарии сахаристой (длительность нахождения в активном состоянии, пройденное расстояние, скорость движения) от температуры; 5) установлено, что оседание зооспор на субстрат регулируется ортокинезом и хемотаксисом; 6) отмечено, что большинство зооспор при оседании в нормальных условиях формируют группы и данное явление имеет существенное биологическое значение для вида; 7) установлено, что вероятность оседания зооспор с образованием групп зависит от температуры и концен-

трации зооспор в воде; 8) отмечено, что высокая плотность посева приводит к избирательной элиминации особей на стадии гаметофита, а выжившие при этом гаметофиты и ранние спорофиты обладают в среднем более высоким темпом развития; 9) определен толерантный диапазон и зона оптимума развития гаметофита и раннего спорофита беломорской ламинарии сахаристой к температуре и освещенности.

Теоретическое и практическое значение работы. В процессе исследований впервые был выявлен ряд закономерностей и особенностей в поведении зооспор и ранних стадиях развития ламинарии сахаристой. Учитывая высокую степень общих черт в строении и функции видов во всем порядке Laminariales, можно предположить, что выявленные закономерности будут иметь сходное проявление и у других видов этого порядка. Впервые обосновывается, что двигательная активность зооспор ламинарии сахаристой является приспособлением, способствующим их оседанию около ранее осевших зооспор за счет свойственного им хемотаксиса. Способность оценивать изменения в окружающей среде и реагировать на них, меняя направление своего движения, является свойством всех подвижных клеток (Каппуччинелли, 1982), следовательно, можно ожидать, что данное явление, имеющее существенное биологическое значение, широко распространено среди водорослей, бесполое размножение которых осуществляется посредством зооспор. Наши исследования позволили выявить на новом материале интересные проявления группового эффекта и эффекта плотности. Основное отличие этих явлений у ламинарии по сравнению с высшими растениями заключается в том, что у первой они обуславливаются активной избирательностью места прикрепления зооспор, которые, по-видимому, способны оценивать при образовании групп "взаимосовместимость" с теми спорами, около которых они оседают, в то время как у высших растений семена распределяются случайно.

Таким образом, настоящее исследование восполняет пробел в существующих знаниях биологии широко распространенного в северных районах и хозяйственно важного вида - ламинарии сахаристой и расширяет наши представления о ранних стадиях развития водорослей.

Результаты проведенных исследований нашли практическое применение при разработке биотехники культивирования ламинарии сахаристой Белого и Баренцева морей и включены в "Инструкцию по культивированию ламинарии сахаристой в двухгодичном цикле в условиях Белого моря" (Макаров, 1982) и "Инструкцию по культивированию ламинарии сахаристой в двухгодичном цикле в условиях Баренцева моря" (Блинова, Макаров, в печати). Большинство разработанных на основе данных исследований рекомендаций прошли практическую проверку на экспериментальных и опытно-промышленных ламинариевых плантациях Белого и Баренцева морей.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на заседаниях ученого совета Северного отделения ПИНРО (1976 - 1981), на расширенном заседании ученого совета ПИНРО (1981, 1984), на шестом советско-японском симпозиуме по аквакультуре (1977), на Всесоюзной конференции по биологии шельфа (1978), на Всесоюзном совещании по морской альгологии - макрофитобентосу (1979), на заседаниях Секции Белого моря (1979, 1980), на юбилейных сессиях Мурманского морского биологического института (1983, 1985), на научно-практических совещаниях по проблеме "Водоросли" (1983-1986), на первом координационном совещании по проблеме "Повышение продуктивности и рационального использования биологических ресурсов Белого моря" (1982), на Беломорском рыбохозяйственном совете (1986), на Всесоюзном совещании "Экология и биологическая продуктивность Баренцева моря" (1986), на альгологической секции Всесоюзного ботанического общества (1986).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, списка литературы и приложения. Общий объем работы 195 страниц, иллюстрирована 46 рисунками (графики и микрофотографии), 9 таблицами. Список литературы включает 197 работ, из них 89 на иностранных языках. В приложении представлены микрофотографии аномального развития ранних спорофитов ламинарии сахаристой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В основу работы положены экспериментальные исследования, проведенные в течение 1977-1986 гг. До 1981 г. объектом исследования служила беломорская, а начиная с 1982 г. как беломорская, так и баренцевоморская *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. Работы проводили в экспедиционных условиях (на судне) и на стационарах Беломорской биологической станции Зоологического института АН СССР и Мурманского морского биологического института Кольского филиала АН СССР. Эксперименты обычно проводились в условиях регулируемой температуры (в термостатированных лабораториях) или в термостатированных аквариальных системах, оборудованных разработанным нами проточным регулятором температуры. Отклонение от заданного температурного режима не превышало $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Необходимый уровень освещенности в экспериментах создавали с помощью осветительных систем с лампами типа ДРЛ-250, ДРЛ-400 и ЛДЦ-40. Освещенность измеряли с помощью люксметра Ю-16.

Ламинарию из естественных зарослей отбирали с использованием легководолазной техники. После отбора материал сразу же использовали в экспериментах или сохраняли в течение нескольких дней (не более одной недели) в садках из крупноячеистой траловой дели, установленных в море. При загрузке садков ламинарией в количестве 3-5 кг/м³ каких-либо отклонений в биологическом состоянии растений не отмечено.

Для получения зооспор спороносные растения подвергали специальной обработке - стимулированию выхода зооспор (Макаров, 1982). Морская вода, использовавшаяся в экспериментах, с целью уничтожения различных микроорганизмов и спор водорослей, подвергалась термической обработке в течение трех суток в термостате при температуре 65°C . При смене воды в емкостях, в которых производили культивирование ламинарии, её солёность подерживали на уровне исходной с точностью $\pm 0,1\%$.

Наблюдения за поведением зооспор и развитием ламинарии на микроскопических стадиях производили с помощью светового микроскопа с дополнительными приспособлениями (фазово-контра-

стное устройство КФ-4, темнопольный конденсатор ОИ-13, конденсор косоугольного освещения ОИ-14 (окулярный винтовой микрометр МОВ-1-16). Для наблюдения за живыми объектами в водной среде использовали водно-иммерсионные объективы. Данные наблюдений фиксировали с помощью микрофотонасадок МФН-12, МФН-8 и встроенной в микроскопы МБИ-6 и МБИ-13 фотоаппаратуры на фотопленку "Микрат-200" и "Микрат-300" и особоконтрастные и сверхконтрастные панхроматические фотопластины. Всего было получено около 2500 микрофотографий различных стадий развития ламинарии.

В процессе экспериментов было изготовлено около 2000 постоянных препаратов. Морфометрию гаметофитов и ранних спорофитов проводили непосредственно на живых объектах, а также на препаратах и фотографиях.

Изучение динамики выхода зооспор из стимулированной ламинарии проводили по разработанной нами методике. Эксперимент был проведен в середине октября, когда ламинария имела зрелые спороносные пятна и предварительные пробные стимулирования стабильно показывали высокий выход зооспор. Для эксперимента отобрали растения на 5-й стадии зрелости спороносного пятна (Моисеенко, 1978). Стимулирование выхода зооспор и все последующие этапы эксперимента проводили при температуре 10°C. Через каждые 12 часов стимулирования в верхней, средней и нижней частях спороносного пятна делали высечки с помощью тонкостенной стальной трубки. Каждую высечку помещали в отдельную пробирку с 0,5 мл морской воды. На протяжении 12 часов с интервалом в 1 час высечки переносили в новые пробирки с водой. Количество зооспор в воде подсчитывали с помощью камеры Горнева по стандартной методике (Сиренко, 1975). Через каждые 12 часов рядом с предыдущей высечкой делали новые высечки и цикл наблюдений повторяли. Таким образом были получены данные о количестве вышедших зооспор с единицы площади спороносного пятна, а также о продолжительности и интенсивности выхода зооспор в зависимости от длительности стимулирования.

При изучении двигательной активности зооспор получали суспензии зооспор отдельно от каждого растения. Каждую суспензию разливали в чашки Петри, которые помещали в термостатированные условия при температуре (-1), 5, 10, 15, 20 и 27°C. Наблюдения

за активностью зооспор проводили при температурах до 15°C через 1 час, а при 20 и 27°C через каждые 30 мин. Отмечали время массового оседания и оседания всех зооспор. Для определения скорости движения зооспор отбирали пробы суспензии и помещали в камеру Фукс-Розенталя. По числу пересеченных отдельными зооспорами квадратов камеры Фукс-Розенталя за единицу времени, измеряемую секундомером, вычислили их скорость движения. Так как зооспора могла пересечь квадрат под любым углом, проход каждого квадрата приравнивался средней арифметической между стороной квадрата и его диагональю.

Изучение влияния микрообрастания и микро рельефа на оседание зооспор проводили при температуре 10°C. В качестве субстратов использовали предметные стекла и пластинки из оргстекла. Субстраты с микро рельефом получали погружением пластинок из оргстекла в 3%-ный раствор оргстекла в хлороформе. После испарения хлороформа на поверхности пластинок образовывались многогранные и округлые ячейки диаметром 10-30 мкм. Таким образом получали биологически нейтральные субстраты, микро рельеф которых был соизмерим с микро рельефом, создаваемым микрообрастанием. Использовались два варианта субстратов с микрообрастанием. Для получения субстратов первого варианта предметные стекла экспонировали в море в течение трех недель. Их заселили диатомовые водоросли, бактерии и незначительное количество простейших. Для получения субстратов второго варианта предметные стекла заселяли спорами ламинарии. Кроме того, использовали субстраты обоих вариантов, обработанные ультрафиолетовым облучением, что приводило к гибели прикрепившихся к ним организмов.

Для проведения посевов зооспор использовали эмалированные кюветы, на дно которых укладывали опытные (с микрообрастанием) и контрольные (чистые) стекла и пластинки из оргстекла. После чего в кюветы наливали суспензию зооспор и через определенные промежутки времени проводили контроль за количеством осевших зооспор на различные субстраты.

При изучении условий агрегирования и группового эффекта исследовали зависимость образования групп зооспор при оседании на субстрат от концентрации посевной суспензии и температуры

воды. В первом эксперименте использовали три суспензии с концентрацией зооспор 1,0, 0,1 и 0,01 млн спор/мл. В три одинаковые кюветы помещали предметные стекла, после чего в каждую кювету заливали одну из суспензий зооспор. Эксперимент проводили при температуре 10°C. Контроль за оседанием проводили через 1, 3, 6, 12 и 24 часа от начала посева. Во втором эксперименте капли суспензии наносили на покровные стекла, которые переворачивали каплей вниз и укладывали на предметные стекла с лункой. Край лунки предварительно смазывали вазелином для создания герметичной камеры, предотвращающей высыхание капли. Температуру в термостатированных помещениях поддерживали на уровне 1, 10 и 15°C. Наблюдения за поведением зооспор и их оседанием проводили через 1 час.

Влияние агрегирования на развитие ламинарии анализировали по результатам культивирования в лабораторных условиях и на плантациях и наблюдений в природных зарослях ламинарии сахаристой.

При изучении влияния температуры, освещенности и плотности посева зооспор на развитие ранних стадий ламинарии сахаристой были получены три суспензии с концентрацией 5, 1 и 0,1 тыс. спор/мл путем разбавления исходной суспензии зооспор. На дно чашек Петри укладывали покровные стекла и в каждую серию чашек заливали одну из суспензий. После чего их помещали в термостатированные условия при температуре 5, 10 и 15°C и освещенности 500, 5000, 10000 лк. Продолжительность фотопериода - 14 часов в сутки. В дальнейшем периодически проводили наблюдения за развитием ламинарии, микрофотографирование и изготовление постоянных препаратов. Эксперимент длился 46 суток. Для уточнения толерантного диапазона и зоны оптимума к фактору освещенности был поставлен дополнительный эксперимент при температуре 10°C и освещенности 50, 500, 3000 и 10000 лк.

Статистическую обработку результатов всех экспериментов проводили с использованием руководства по биометрии (Плохинский, 1961, 1967).

ПОВЕДЕНИЕ ЗООСПОР

Механизм и особенности выхода зооспор из спорангиев. В результате наблюдений установлено, что механизм выхода зооспор связан с осмотическими процессами в парафизах. При выбросе зооспор диаметр нижней части парафиз увеличивается в 2-5 раз, что вызывает сильное сдавливание находящихся между ними спорангиев, разрыв оболочки спорангиев и выдавливание из них зооспор. Для выяснения возможных природных стимулов этого явления в лабораторных экспериментах кусочки растений со зрелой спороносной тканью подвергали воздействию постепенно и резко изменяющихся факторов среды. При этом изменение давления, освещенности, температуры и солености в пределах возможных их изменений в природных условиях и даже несколько превышающие их, но не приводящие к гибели клеток, не вызывали выхода зооспор. Прогрев кусочка спороносной ткани, помещенного в каплю воды на предметном стекле на пламени спиртовки, убивающий клетки, вызвал немедленный выброс зооспор из спорангиев, что дает основание предположить, что выброс зооспор связан с отмиранием парафиз, при этом происходит нарушение осморегуляции и набухание парафиз. При искусственном стимулировании выхода зооспор отмирание парафиз может происходить в результате выдерживания слоевищ вне воды, тогда как в природных условиях - в результате прекращения их функциональной связи со слоевищем, что может быть вызвано сжатием нижней части парафиз или их отрывом от слоевища под давлением созревающих и увеличивающихся в размерах спорангиев. Такой механизм должен привести к "цепной реакции" выброса зооспор, так как увеличение объема одной или нескольких рядом находящихся парафиз увеличит давление внутри ткани на участке спороносного пятна и тем самым будет способствовать пережатию или отрыву других парафиз, и таким образом это явление может распространиться по спороносному участку. Такой почти одновременный выход зооспор должен иметь положительное значение для существования вида, так как даже в случае низкой плотности популяции определенная часть гаметофитов будет находиться на одной стадии развития и тем самым способствовать успешному половому воспроизводству. Кроме того, одновре-

менное массовое заселение субстрата зооспорами обеспечивает для вида конкурентное преимущество.

Отмечены некоторые отличия в характере выброса зооспор у беломорской и баренцевоморской ламинарии сахаристой. У первой зооспоры в основном выходят струйкой, просачиваясь по одной между колпачками парафиз, у второй же чаще наблюдается выброс зооспор группами. Шрайбер (Schreiber, 1930), наблюдавший выход зооспор у ламинарии сахаристой (из Северного моря), отмечал выброс зооспор только группами, заключенными в общую мембрану. Нами никакой мембраны на уровне световой микроскопии не обнаружено.

Различия в выбросе зооспор у беломорской и баренцевоморской ламинарии сахаристой связаны с плотностью спороносной ткани, что, в свою очередь, определяется различиями в синхронности ее созревания. У беломорской ламинарии синхронность созревания спороносной ткани выше, чем у баренцевоморской. Эта отличительная особенность беломорской ламинарии, на наш взгляд, является генетически обусловленной адаптацией, позволяющей ей в относительно короткий период благоприятных условий для развития спороносной ткани полнее реализовать свой репродуктивный потенциал.

Динамика выхода зооспор из стимулированной ламинарии.
Оценка уровня зрелости и репродуктивного потенциала спороносной ткани. Приведены результаты наблюдений за динамикой выхода зооспор в зависимости от продолжительности стимулирования в разных частях спороносного пятна у растений, спороносная ткань которых находится на 5-й стадии зрелости (Моисеенко, 1978). Наблюдения показали, что в динамике выхода зооспор проявляются определенные закономерности. Различия в выходе зооспор у разных растений послужили основанием для выделения в пределах 5-й стадии зрелости трех уровней зрелости спороносной ткани: а - низкий, б - средний, в - высокий. Уровень "а" характеризуется значительными флуктуациями выхода зооспор в течении экспозиции спороносного материала в воде после 12-часового стимулирования, при 24-часовом стимулировании пик выхода приходится на второй час экспозиции высечек в воде, признаки снижения выхода зооспор наблюдаются при 36-48-часовом сти-

мулировании. Уровень "б" характеризуется тем, что пик выхода зооспор приходится на второй час экспозиции после 12-часового стимулирования, после 24-часового - на первый час, признаки снижения выхода зооспор наблюдаются после 36-часового стимулирования. Уровень "в" характеризуется высоким выходом зооспор при стимулировании в течение 12 часов, признаки снижения выхода зооспор наблюдаются после 24-часового стимулирования.

Репродуктивный потенциал спороносия, определенный по выходу зооспор, составил в среднем около 200 тыс. спор/мм² спороносного пятна (максимум 276 тыс. спор/мм²). С учетом особенностей развития спороносного пятна (Макаров, 1973) одно растение ламинарии сахаристой за один цикл спороносия может продуцировать более 40 млрд. зооспор. Таким образом, репродуктивный потенциал ламинарии сахаристой, по нашим данным, находится в пределах величин, указанных Парк (Park, 1948), значительно выше данных Чепмена (Chapman, 1934), но несколько ниже приведенных в работе М.С. Киреевой и Т.Ф. Шаповой (1938).

Двигательная активность зооспор. На основе экспериментальных данных показано, что двигательная активность зооспор ламинарии сахаристой имеет определенную зависимость от температуры воды. Средняя скорость движения зооспор при повышении температуры от -1 до +15°C медленно снижается от 270 до 230 мкм/сек, при 20°C возрастает до 270 мкм/сек, а при 27°C падает до 190 мкм/сек. Возрастание скорости движения зооспор при температуре 20°C, которая является сублетальной для данного вида, по-видимому, следует рассматривать как адаптивную реакцию на избегание неблагоприятных условий. С увеличением температуры воды уменьшается продолжительность активного состояния зооспор и более быстро снижается скорость их движения в течение пелагической жизни.

Учитывая, что продолжительность пелагической жизни зооспор даже при наиболее низких температурах обычно не превышает двух суток, а среднее расстояние, пройденное одной отдельной зооспорой, при температуре -1 - +15°C составляет 27 - 7,5 м, двигательную активность зооспор нельзя рассматривать как приспособление для расселения вида в регионе, так как она не дает особых в этом отношении преимуществ по сравнению с други-

ми видами водорослей, у которых подвижные стадии отсутствуют. Вследствие этого считаем, что основная функция локомоторной способности зооспор заключается в активном выборе субстрата.

Влияние микрообрастания и микрорельефа субстрата на оседание зооспор ламинарии. Учитывая, что зооспоры ламинарии обладают высокой подвижностью, естественно предположить, что они способны выбирать субстрат, подходящий для их дальнейшего развития. Влияние микрообрастания на оседание зооспор может быть обусловлено рядом причин: 1) химическими свойствами метаболитов микроорганизмов их репеллентным или аттрактантным действием; 2) модификацией физических свойств субстрата — образованием микрорельефа. В эксперименте при изучении оседания зооспор на различные субстраты показано, что зооспоры предпочитают прикрепляться около ранее осевших зооспор. На субстраты, которые уже заселены спорами ламинарии, оседает в 6-8 раз больше спор, чем на чистые гладкие субстраты (предметные стекла). На субстраты с микрообрастанием оседает приблизительно столько же зооспор, как и на биологически нейтральные субстраты с микрорельефом. По сравнению с гладкими субстратами на них осело зооспор в 1,4-1,7 раза больше. Субстраты с мертвой органикой заселялись зооспорами в 1,2 раза меньше, чем чистые гладкие субстраты и в 1,4 раза меньше, чем субстраты с микрорельефом. Таким образом, было показано, что оседание зооспор на субстрат регулируется как ортокинезом, так и хемотаксисом. Ранее осевшие зооспоры обеспечивают положительный хемотаксис зооспор, находящихся в подвижном состоянии, мертвая органика оказывает на них слабое репеллентное воздействие. По-видимому, микрообрастание не оказывает на зооспоры химического воздействия и повышенное оседание в данном случае обеспечивается явлением ортокинеза, то есть замедлением движения зооспор при контакте с шероховатой поверхностью. Было также отмечено, что на субстратах с микрообрастанием возрастает элиминация зооспор в результате их лизиса бактериями, численность которых на таких субстратах была значительной. Это привело к тому, что уже через сутки количество живых спор на субстрате с микрообрастанием и контрольном субстрате практически сравнялось.

Условия агрегирования зооспор и групповой эффект. Одной из важных поведенческих реакций зооспор ламинарии является их способность при оседании на субстрат образовывать группы. Можно считать установленным, что данное свойство связано как с явлением ортокинеза, так и с положительным хемотаксисом зооспор к ранее осевшим спорам своего вида. Наблюдения за оседанием зооспор показывают, что они обладают высокой избирательностью места прикрепления и, по всей вероятности, «чувствительной органеллой» (Серавин, 1967) является передний (длинный) жгутик зооспоры. По характеру поведения зооспор при оседании можно предположить, что большинство зооспор не просто прикрепляется около любой ранее осевшей зооспоры, но при этом оценивается «совместимость» с отдельной спорой или с группой спор. Вероятность оседания зооспор группами зависит от ряда внешних факторов. Было отмечено, что тенденция оседания зооспор группами увеличивается с повышением концентрации зооспор в посевной суспензии и со снижением температуры воды. Возможно, что не собственно снижение температуры повышает способность зооспор образовывать агрегации, а более существенное значение имеет длительность нахождения зооспор в активном состоянии, зависящее от температуры, что определяет различную вероятность встречи «взаимосовместимых» зооспор.

Наблюдения за развитием ламинарии показывают, что групповое распределение обеспечивает более низкую поражаемость эмбриоспор бактериями. На стадии гаметофита при групповом распределении обеспечивается более высокая вероятность встречи гамет. Наши наблюдения показывают, что партеногенетические спорофиты чаще образуются на одиночных гаметофитах. Групповое оседание зооспор в конечном итоге приводит к групповому распределению спорофитов в зарослях. Эксперименты по пересадке спорофитов одиночно и группами показали, что в первом случае выживало 7-14% особей, тогда как во втором — 72-77%. При групповом распределении гаметофиты, как правило, находятся на более продвинутой стадии развития, а спорофиты имеют более высокий темп роста. Причиной этого явления может быть, во-первых, стадийспецифическое действие метаболитов, ускоряющее развитие особей (Шварц и др., 1976), во-вторых, — более высокие

биологические качества особей, образующих группы. Второе связано с тем, что способность зооспор образовывать группы свидетельствует об их нормальном функционировании, в то время как одиночное оседание является отклонением от нормы и может быть вызвано какими-либо функциональными или генетическими нарушениями, либо неблагоприятными условиями среды.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ, ОСВЕЩЕННОСТИ И ПЛОТНОСТИ ПОСЕВА ЗООСПОР НА РАННИЕ СТАДИИ РАЗВИТИЯ ЛАМИНАРИИ

В экспериментах нами было установлено, что освещенность 5000 лк и более приводит к почти полной элиминации гаметофитов. Гаметофиты и спорофиты способны нормально развиваться при освещенности от 50 до 3000 лк, а оптимальная - 500 лк. При температуре 5°C проросло наибольшее количество спорофитов, при 10°C наблюдался наиболее высокий темп их роста, при 15°C количество спорофитов было таким же, как при 10°C, а темп роста как при 5°C. С увеличением плотности посева зооспор (100, 1000, 5000 спор/мм²) возрастала элиминация растений на стадии гаметофита и повышалась скорость роста выживших спорофитов. Таким образом, высокая плотность посева зооспор приводит к естественному отбору на стадии развития гаметофитов, определяет высокую их элиминацию и ускоренное развитие выживших гаметофитов и спорофитов.

Механизм данного явления может быть обусловлен как борьбой за существование (Сукачев, 1941; Завадский, 1951), так и стадиоспецифическим действием метаболитов (Шварц и др., 1976).

ПРАКТИЧЕСКИЕ СЛЕДСТВИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ ПОВЕДЕНИЯ ЗООСПОР И РАННИХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ ЛАМИНАРИИ САХАРИСТОЙ

Исследования поведения зооспор и ранних стадий развития ламинарии сахаристой позволили разработать ряд новых практических рекомендаций и уточнить или научно обосновать использовавшиеся ранее биотехнические приемы и нормативы культивирования данного вида в условиях Белого и Баренцева морей. Основные практические следствия данной работы заключаются в следующем.

1. Наблюдения за выбросом зооспор из спорангиев показали, что сразу после их выброса большинство зооспор остается неподвижными в течение 10-15 минут. Из этого следует, что при капельном контроле за выходом зооспор из стимулированной ламинарии необходимо, чтобы капля морской воды выдерживалась на поверхности пластины не менее 10-15 минут.

2. Сохранение влажности ламинарии во время стимулирования выхода зооспор на уровне 80-83% обеспечивает максимальный выход зооспор, при влажности ниже 78% выход зооспор резко сокращается.

3. При стимулировании необходимо учитывать уровень зрелости спороносной ткани. От данного показателя зависит продолжительность стимулирования и количество вышедших зооспор, а следовательно, и расход маточного материала. Стимулирование при уровне зрелости „в" должно продолжаться в течение 12 ± 2 часа, при этом можно рассчитывать на получение до 80 тыс. спор/мм² спороносного пятна; при уровне „а" и „б" ламинария должна стимулироваться в течение 24 ± 4 часа, при этом можно рассчитывать на получение 65 и 130 тыс. спор/мм² спороносного пятна соответственно.

4. Качество зооспор можно тестировать по их локомоторной активности (скорости движения и длительности нахождения в активном состоянии). Зооспоры в начале посева должны иметь скорость движения в среднем 250-300 мкм/сек, а полное оседание происходит при -1°C за 21-51 час. при +5°C - 6-29 часов, при 10°C - 4-12 часов, при 15°C - 3-12 часов.

5. При проведении посева зооспор на искусственные субстраты необходимо учитывать длительность локомоторной активности зооспор и время, требующееся для их закрепления на субстрате. Учитывая, что для закрепления зооспор после их оседания требуется не более 1 часа, посев при 5°C должен продолжаться не менее 30 часов, а при 10-15°C - не менее 13 часов.

6. Положительный хемотаксис зооспор ламинарии к ранее осевшим зооспорам можно использовать для обеспечения группового распределения зооспор на субстратах. С этой целью рекомендуется проведение двойного посева с использованием суспензий с пониженной концентрацией спор. Это позволит в несколько раз

уменьшить расход посевного материала и снизить вероятность перенаселения субстратов.

7. В нормальных условиях и при достаточной концентрации зооспор в посевной суспензии их оседание всегда сопровождается образованием групп, что связано с особенностями их поведения. Отсутствие групп зооспор на контрольных стеклах может служить тестом на нарушение условий посева или недоброкачественность посевного материала.

8. При вымачивании субстратов перед посевом в море происходит заселение их микроорганизмами. Высокая численность бактерий на субстратах ведет к повышению элиминации эмбриоспор. Для предотвращения этого явления стерилизация субстратов является обязательным элементом биотехники культивирования ламинарии. При этом в условиях Севера более приемлема не сушка на солнце, как это практикуется на Дальнем Востоке, а прогрев их в горячей воде.

9. При выращивании рассады ламинарии в бассейнах-культиваторах при одногодичном цикле культивирования ламинарии сахаристой путем изменения температуры можно в некоторых пределах регулировать количество прорастающих спорофитов и темп их роста. Содержание гаметофитов при температуре 5°C обеспечивает более высокий процент прорастания спорофитов по сравнению с температурой 10 и 15°C, а выращивание ранних спорофитов при 10°C обеспечивает наиболее высокий темп их роста.

ВЫВОДЫ

1. Проведено исследование поведения зооспор и ранних стадий развития беломорской и баренцевоморской ламинарии сахаристой. Большинство поставленных в исследовании задач решалось для данного вида впервые.

2. Механизм выхода зооспор из спорангиев обусловлен осмотическими процессами, вызывающими увеличение объема парафиз, в результате чего происходит сжатие находящихся между ними спорангиев, приводящее к разрыву их оболочек и выдавливанию зооспор. Экспериментами показано, что изменение объема парафиз может быть вызвано их отмиранием, что приводит к нарушению ос-

морегуляции парафиз и их набуханию. При искусственном стимулировании выхода зооспор отмирание парафиз происходит в результате выдерживания слоевищ вне воды, тогда как в природных условиях это может быть вызвано нарушением функциональной связи парафиз со слоевищем по мере созревания спорангиев.

3. Выявлено два типа выхода зооспор: при первом - зооспоры выходят из спорангиев одна за другой струйкой, при втором - все зооспоры выходят группой. Первый тип чаще наблюдается у беломорской, второй - у баренцевоморской ламинарии сахаристой, что связано с различной плотностью структуры спороносной ткани и является следствием разной степени синхронности ее созревания у растений этих регионов. У беломорской ламинарии сахаристой синхронность созревания спороносной ткани выше, чем у баренцевоморской, что, по-видимому, является закрепленной в процессе микроэволюции вида адаптацией, позволяющей ему в относительно короткий в условиях Белого моря период благоприятных условий для развития спороносной ткани полнее реализовать свой репродуктивный потенциал.

4. На основе анализа динамики выхода зооспор в пределах пятой стадии зрелости спороносной ткани выделено три уровня ее зрелости, характеризующиеся различной зависимостью интенсивности выхода зооспор от продолжительности стимулирования и количеством вышедших зооспор.

5. Репродуктивный потенциал спороношения, определенный по выходу зооспор, составил в среднем 200 тыс. спор/мм² спороносного пятна (максимум 276 тыс. спор/мм²). Одно растение ламинарии сахаристой за цикл спороношения может продуцировать более 40 млрд. зооспор.

6. Выявлена зависимость локомоторной активности зооспор от температуры. Средняя скорость движения зооспор при повышении температуры от -1 до +15°C медленно снижается от 270 до 230 мкм/сек, при 20°C возрастает до 270 мкм/сек, а при 27°C падает до 190 мкм/сек. Возрастание скорости при 20°C, которая является для данного вида сублетальной, по-видимому, следует рассматривать как адаптивную реакцию, направленную на избегание зооспорами неблагоприятных условий. С увеличением температуры воды уменьшается продолжительность активного состояния

зооспор и более быстро снижается скорость их движения в течение пелагической жизни. Среднее расстояние, пройденное зооспорой, увеличивается со снижением температуры воды и составляет при температуре -1°C - 27 м, при $+15^{\circ}\text{C}$ - 7,5 м. Способность зооспор к активному движению является приспособлением, обеспечивающим выбор места прикрепления, и не дает особых преимуществ для расселения по сравнению с видами водорослей, у которых подвижные стадии отсутствуют.

7. Оседание зооспор на субстрат регулируется ортокинезом и хемотаксисом. Установлено, что к ранее осевшим зооспорам оседает в 6-8 раз больше зооспор, чем на гладкие субстраты, не заселенные зооспорами. Мертвая органика оказывает на подвижные зооспоры слабое репеллентное воздействие. Субстраты с микрорельефом обеспечивают в 1,4-1,7 раза более высокое оседание зооспор по сравнению с гладкими субстратами.

8. Зооспоры ламинарии имеют тенденцию к групповому оседанию. Тенденция оседания зооспор с образованием групп увеличивается с повышением концентрации зооспор в воде и снижением температуры. Групповой эффект проявляется в снижении гибели эмбриоспор в результате уменьшения степени поражаемости их бактериями, увеличении вероятности встречи гамет, повышении выживаемости спорофитов. У особей в группе, как правило, увеличивается темп развития.

9. Освещенность в пределах от 50 до 3000 лк обеспечивает нормальное развитие гаметофитов и ранних спорофитов, 5000 лк и более ингибирует развитие и вызывает, как правило, полную элиминацию особей на стадии эмбриоспоры и гаметофита, 500 лк является оптимальной для ранних стадий развития ламинарии сахаристой, так как обеспечивает наиболее высокую выживаемость и темп развития особей.

10. Температура в пределах от 5 до 15°C обеспечивает нормальное развитие гаметофитов и ранних спорофитов, при 5°C прорастает наибольшее количество спорофитов, а при 10°C наблюдается наиболее высокий темп их роста, при 15°C прорастание спорофитов остается на уровне как при 10°C , а темп роста снижается до уровня, наблюдающегося при 5°C , при 20°C большинство зооспор не закрепляется на субстрате и не прорастает.

11. Высокая плотность посева зооспор приводит к повышенной элиминации особей на стадии развития гаметофита и ускоренному развитию выживших гаметофитов и спорофитов. Ускоренное развитие гаметофитов и ранних спорофитов, по-видимому, обусловлено избирательной элиминацией отстающих в развитии особей в результате обостренной условиями повышенной плотности борьбы за существование и стадийспецифическим действием метаболитов.

12. В процессе работы разработаны практические рекомендации по культивированию ламинарии сахаристой. Большинство рекомендаций апробировано на экспериментальных и опытно-промышленных ламинариевых плантациях в условиях Белого и Баренцева морей.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Макаров В.Н. Экспериментальное изучение возможности искусственного разведения ламинарии в Белом море. - Материалы сов.-япон. симп. по вопросам аквакультуры и повышения продуктивности Мирового океана. Москва - Батуми, 7-21 октября 1977 г. М.: ВНИРО, 1978, с.300-307.
2. Макаров В.Н. Особенности спороношения беломорской *Laminaria saccharina* (L.) Lam. - В кн.: 2 Всес.конф. по биологии шельфа, Севастополь, 1978 г.: Тез.докл. Ч.П. Киев: Наукова думка, 1978, с.70.
3. Макаров В.Н. Изучение развития ризоидов беломорской *Laminaria saccharina* (L.) Lam. в связи с вопросами ее культивирования. - Тр. ПИРО. 1981, вып.45, с.14-18.
4. Макаров В.Н. Экспериментальное изучение развития гаметофита и раннего спорофита беломорской *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. в связи с предполагаемым ее культивированием. - В кн.: Биол.ресурсы Белого моря и внутр. водоемов Европ.Севера. II сессия Ученого Совета, ноябрь 1981 г.: Тез.докл. Петрозаводск: АН КССР, 1981, с.156-157.
5. Макаров В.Н. Инструкция по биотехнике культивирования ламинарии сахаристой в двухгодичном цикле в условиях Бе-

- лого моря. - Мурманск: ПИНРО, 1982. - 60 с.
6. Макаров В.Н. Биологические особенности беломорской *Laminaria saccharina* (L.) Lam. как объекта марикультуры. - В кн.: 2 Всес.съезд океанологов. Тез.докл. Вып.6, ч.1, Севастополь: АН УССР, 1982, с.173-174.
 7. Макаров В.Н. Динамика выхода зооспор из стимулированной ламинарии. - В кн.: Тез.докл. IV Всес.совещ. по научно-техн. проблемам марикультуры, 27 сент. - 1 окт. 1983. Владивосток: ТИНРО, 1983, с.129-130.
 8. Макаров В.Н. Выживание беломорской *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. на разных стадиях онтогенеза. - В кн.: Проблемы изучения, рац.использования и охраны прир.ресурсов Белого моря: Тез.докл. рег. конф. Архангельск: изд. ОБЛ СТАТ, 1985, с.131-132.
 9. Раилкин А.И., Макаров В.Н., Шошина Е.В. Влияние субстрата на оседание и прикрепление зооспор водоросли *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. - Биология моря (Владивосток), 1985, № 1, с.37-45.
 10. Макаров В.Н. Двигательная активность зооспор *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. - В кн.: Экология и биол.продуктивность Баренцева моря: Тез.докл. Всес.конф. Мурманск, 1986, с.137-138.

Макаров