

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Камчатский государственный технический университет»

На правах рукописи



Климова Анна Валерьевна

**РОД *ALARIA* GREVILLE (PHAEOPHYCEAE, LAMINARIALES)
В ПРИКАМЧАТСКИХ ВОДАХ: ВИДОВОЙ СОСТАВ, ЭКОЛОГИЯ И
БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ**

03.02.08 – Экология (биология)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
Клочкова Татьяна Андреевна,
доктор биологических наук

Петропавловск-Камчатский – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	11
1.1 Общая характеристика рода <i>Alaria</i> Greville, 1830	11
1.2. Традиционная морфолого-анатомическая и современная молекулярно-генетическая классификации представителей порядка <i>Laminariales</i>	14
1.3. Жизненные циклы ламинариевых водорослей	21
1.4. Кариологическая характеристика представителей порядка <i>Laminariales</i>	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	33
2.1. Сбор водорослей для исследований	33
2.2. Изучение водорослей из гербарных коллекций	33
2.3. Культивирование водорослей	36
2.4. Выделение ДНК водорослей, реакция ПЦР, секвенирование и анализ сиквенсов	38
2.5. Флуоресцентное окрашивание культур гаметофитов	39
2.6. Окрашивание хромосом	40
2.7. Микроскопирование	41
ГЛАВА 3. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>ALARIA</i> ПРИКАМЧАТСКИХ ВОД	42
3.1. <i>Alaria esculenta</i> f. <i>angustifolia</i> Postels et Ruprecht, 1840	42
3.2. <i>Alaria esculenta</i> f. <i>latifolia</i> Postels et Ruprecht, 1840	46
3.3. <i>Alaria paradisea</i> (Miyabe et Nagai) Widdowson, 1971	49
ГЛАВА 4. ГЕНОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>ALARIA</i> ПРИКАМЧАТСКИХ ВОД	56

4.1. Ретроспективный анализ состояния изученности камчатских алариевых водорослей	56
4.2. Таксономическая ревизия представителей рода <i>Alaria</i>	67
4.3. Молекулярно-филогенетический анализ алариевых водорослей прикамчатских вод	89
ГЛАВА 5. ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ ИЗУЧЕННЫХ ВИДОВ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИХ РАННИХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ	106
5.1. Развитие <i>Alaria esculenta</i> f. <i>angustifolia</i>	106
5.2. Развитие <i>Alaria esculenta</i> f. <i>latifolia</i>	112
5.3. Цитохимические различия камчатских форм вида <i>Alaria esculenta</i>	121
5.4. Хромосомные числа камчатских алариевых водорослей	126
5.5. Развитие аларий под воздействием неблагоприятных факторов среды	129
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	134
ВЫВОДЫ	137
ЛИТЕРАТУРА	139
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Порядок Laminariales – один из наиболее значимых в экологическом и экономическом отношениях порядков морских бурых водорослей. В мелководных участках шельфа ламинариевые водоросли могут формировать высокопродуктивные подводные леса и обеспечивают сложную пространственную структуру бентоса (Steneck et al., 2002; Reisewitz et al., 2006). Благодаря ценному химическому составу многие их виды являются объектами промысла и культивирования (Abreu et al., 2014; FAO, 2018). Это определяет стабильно высокий интерес к изучению их биоразнообразия, экологии и биологии развития. Результаты этих исследований необходимы для рационального использования и охраны природных зарослей водорослей, а также искусственного выращивания промысловых видов, что в настоящее время является приоритетным направлением научно-технического развития Российской Федерации, в частности, направление «Переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству» (Указ Президента Российской Федерации от 1.12.2016 г. № 642).

Alaria – один из немногих политипических родов обсуждаемого порядка. Она широко распространена в холодных и умеренных водах Северного полушария, в том числе во всех морях российского Дальнего Востока и относится к числу наиболее массовых. Представителям этого рода свойственна чрезвычайно широкая экологическая пластичность. Поэтому неудивительно, что в свое время на основе изучения их морфолого-анатомического разнообразия для *Alaria* было описано более 108 видовых и внутривидовых таксонов. Валидность и ареалы большинства из них, особенно в северо-западной Пацифике, требуют уточнения.

С внедрением в таксономические исследования молекулярно-генетических методов ламинариевые водоросли стали излюбленным объектом альгологической генотипической систематики. Эти методы использовали при ревизии видового состава североатлантических и североамериканских видов *Alaria* (Kraan, Guiry, 2000; Kraan et al., 2001; Lane et al., 2007). Однако для завершения

филогенетического изучения рода и формирования целостных представлений об истории его развития и расселения в Мировом океане необходимо исследование его генетического разнообразия в морях российского Дальнего Востока.

Известно, что камчатские аларии демонстрируют высочайшую устойчивость к комплексному антропогенному загрязнению и выживают там, где другие бурые и красные водоросли уже не встречаются (Клочкова, Березовская, 2001; Очеретяна, 2017). Это делает их перспективными объектами санитарной марикультуры. Разработка биотехники их культивирования, в свою очередь, обуславливает необходимость изучения их жизненных циклов, особенно на ранних стадиях развития гаметофитов и спорофитов.

Степень разработанности выбранной темы. В научной литературе неоднократно представлялись результаты ревизий видового состава алариевых водорослей западной Пацифики (Miyabe, 1902; Yendo, 1919; Widdowson, 1971; Петров, 1973, 1975; Kawashima, 1993; Klochkova, 1998), основанные на их фенотипическом анализе. В настоящее время за рубежом широко используют методы генотипической систематики, и в международной базе данных по биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information) (NCBI, 2018) зарегистрированы сотни сиквенсов разных видов аларий. Это дает возможность использовать их для определения видового состава рода *Alaria* в дальневосточной альгофлоре. За рубежом также широко используются методы лабораторного культивирования ламинариевых, кариологические и цитохимические исследования (Kawai et al., 2013; Liu et al., 2009, 2012). При изучении дальневосточных ламинариевых они практически не использовались, что, безусловно, снижает общий уровень изученности этих водорослей в Мировом океане.

Цель работы – инвентаризация представителей рода *Alaria* в альгофлоре прикамчатских вод, изучение их экологии и биологии развития, определение перспектив использования в санитарной марикультуре.

Для достижения цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Провести ретроспективный анализ изученности алариевых водорослей

западной Пацифики. Дать комплексную характеристику морфологического строения, анатомии, экологической изменчивости и распространения видов, включенных в настоящее исследование.

2. Изучить типовые образцы изученных видов, хранящиеся в отечественных и зарубежных гербарных фондах. В случае необходимости выделить таковые и обосновать их статус и валидность.

3. Определить таксономическое положение изучаемых видов алариевых водорослей с помощью методов молекулярной систематики.

4. Изучить жизненные циклы и особенности протекания ранних стадий развития гаметофитов и спорофитов камчатской популяции *Alaria esculenta* в лабораторных культурах при разных режимах культивирования с целью получения рассады.

5. Обосновать внутривидовую дифференциацию камчатской популяции *Alaria esculenta* на основе цитохимических и кариологических исследований и изучения ее морфологической изменчивости в разных условиях произрастания.

Научная новизна. Впервые проведено секвенирование участков ДНК/генов камчатских представителей рода *Alaria* и эндемичного Курильского вида *Pleuropterum paradiseum*: из хлоропластов (гены, кодирующие рибулозобисфосфаткарбоксилазу, Rubisco), ядра (внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 и гены, кодирующие рДНК) и митохондрий (цитохромоксидаза субъединица 1, COI). Определено, что *Alaria angusta* и *A. marginata*, традиционно указываемые у юго-восточной Камчатки, принадлежат к виду *A. esculenta* и что ее ареал охватывает не только северную Атлантику и Арктику, но и западную Пацифику. Показано, что вид *A. marginata* в прикамчатских водах не встречается. Принадлежность Курильского эндемика *P. paradiseum* к роду *Alaria* подтверждена на генетическом уровне. На основе изучения образцов водорослей из гербарных фондов Уппсальского университета (UPS), Шведского музея естествознания (S) и Ботанического института им. К.В. Комарова (LE) лектотипифицированы экологические формы камчатских популяций *A. esculenta*, а также виды *A. angusta* и *A. marginata*. Впервые в

таксономических исследованиях ламинариевых водорослей были использованы биохимические и морфофизиологические признаки, присущие их гаметофитам.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные автором нуклеотидные последовательности *A. esculenta* f. *angustifolia*, *A. esculenta* f. *latifolia* и *A. paradisea* дополняют Генбанк NCBI и могут использоваться в геносистематике порядка Laminariales. Вид *A. paradisea* на основе изучения экологии и распространения рекомендован для включения в региональную Красную книгу Сахалинской области как «редкий узкоареальный эндемик». В ходе выполнения гранта Фонда содействия инновациям («Фонд содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере», УМНИК №10760/2016) автор диссертационной работы разработала метод получения рассады ламинариевых водорослей для санитарной марикультуры и воспроизводства их природных зарослей. Полученные автором результаты могут быть использованы в учебном процессе при подготовке альгологов и морских экологов.

Методология и методы диссертационного исследования. Изучение природных популяций алариевых водорослей проводили стандартными методами гидробиологических исследований. Для определения таксономической принадлежности изученных видов провели секвенирование и анализ участков ДНК/генов из их хлоропластов (гены, кодирующие рибулозобисфосфаткарбоксилазу, Rubisco), ядра (внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2 и гены, кодирующие рДНК) и митохондрий (цитохромоксидаза субъединица 1, COI). Для выяснения родственных связей между исследуемыми видами рода *Alaria* методом байесовского вывода были реконструированы молекулярно-филогенетические древа. Для изучения развития разных форм *A. esculenta* на гаметофитной стадии использовали их лабораторные культуры, световую и флуоресцентную микроскопию. Для выявления цитохимических различий гаметофитных стадий разных форм вида использовали флуоресцеин изотиоционат (ФИТЦ)-меченные лектины. Определение хромосомных чисел аларий проводили стандартными методами кариологических исследований.

Положения, выносимые на защиту.

1. Вместо двух ранее указывавшихся у Камчатки видов аларий здесь встречается один – *A. esculenta*. Он имеет циркумполярный ареал, при этом его тихоокеанская популяция отличается от атлантической вдвое меньшим набором хромосом и дифференцирована на две экологические формы: *f. angustifolia* и *f. latifolia*.

2. Развитие камчатской популяции *A. esculenta* в природной среде регулируется, главным образом, фотопериодом. Световой день ниже 8 ч вызывает у этого вида ингибицию гаметогенеза. Высокая устойчивость, массовое развитие и широкое распространение вида обусловлены его высокой экологической пластичностью, почти непрерывным созреванием и прорастанием зооспор.

3. Различия между формами вида *A. esculenta* регистрируются не только на стадии спорофита, но и на одноклеточных стадиях, представленных половыми клетками.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов исследования обеспечена их воспроизводимостью, использованием современных методов и многократной повторностью экспериментов. Полученные в ходе исследования результаты оформлены в виде научных статей, получивших экспертную оценку специалистов-альгологов при публикации в отечественных и зарубежных научных изданиях. Новые нуклеотидные последовательности для алариевых водорослей прикамчатских вод, а также для референсного образца *A. esculenta* с о. Свальбард (архипелаг Шпицберген) зарегистрированы в Генбанке NCBI с присвоением следующих порядковых номеров: *A. paradisea* – MG913356–MG913359 (COI) и MG913356–MG913359 (pДНК); *Alaria esculenta f. angustifolia* – MG993131 (COI), MG993136 (pДНК), MG993133 (Rubisco); *Alaria esculenta f. latifolia* – MG993132 (COI), MG993137 (pДНК) и MG993134 (Rubisco); *A. esculenta* – MG993135 (pДНК).

Личный вклад автора. Автор лично собрала использованный в работе водорослевый материал у берегов юго-восточной Камчатки и Курильских островов, провела его камеральную обработку, выполнила морфолого-

анатомические, культуральные, цитологические, цитохимические и кариологические исследования, принимала непосредственное участие в молекулярно-генетическом изучении алариевых водорослей. Большинство опубликованных по теме диссертации статей и тезисов докладов научных конференций автор подготовила самостоятельно, отдельные работы были написаны при участии других соавторов. Автор определила цель и задачи исследования, обобщила и проанализировала полученные результаты, сформулировала выводы.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных наук по проекту «Изучение развития гаметофитных поколений камчатских ламинариевых водорослей: цитохимические и молекулярно-генетические аспекты» (РФФИ, № 16-34-00874 мол_а) и гранта экспедиции по программе Президиума РАН «Дальний Восток» № 15-1-1-067Э.

Апробация результатов. Результаты, представленные в диссертационной работе, докладывались на всероссийских конференциях «Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование» (Петропавловск-Камчатский, 2013, 2015, 2017); «Актуальные вопросы рационального использования водных биологических ресурсов» (Москва, 2013); Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей (Петропавловск-Камчатский, 2013, 2017), международных конференциях «Современные научные достижения» (Прага, 2014), «Комплексные исследования водных биологических ресурсов и среды их обитания» (Звенигород, 2015), «International Conference on Sustainable Seaweed Industry for Blue Carbon» (Вандо, Республика Корея, 2017), PICES «Environmental changes in the North Pacific and impacts on biological resources and ecosystem services» (Владивосток, 2017) и на заседаниях Камчатского отделения Русского Ботанического общества (Петропавловск-Камчатский, 2016, 2017), а также лабораторных коллоквиумах «КамчатГТУ». Научная значимость результатов отмечена оргкомитетом II научной школы для молодых ученых и специалистов по рыбному хозяйству и экологии присуждением высшей награды (Звенигород, 2015).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 статей в рецензируемых научных изданиях, в том числе 3 – в российских рецензируемых научных журналах из списка ВАК, 2 – в международных рецензируемых научных журналах, входящих в базы данных Scopus (Elsevier) и Thomson Reuters (идентификационный номер автора в Scopus: 56711736100), а также 10 публикаций в материалах международных и всероссийских конференций.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 162 страницах, состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы и списка сокращений и условных обозначений, включает 48 рисунков и 12 таблиц. Список литературы включает 229 публикаций, из них 184 иностранных и 7 интернет-источников.

Благодарности. Выражаю глубокую благодарность своему научному руководителю д.б.н., доценту ФГБОУ ВО «КамчатГТУ» Т.А. Клочковой и д.б.н., директору ЦНОНИП «КамчатГТУ» Н.Г. Клочковой за ценные указания, консультации, постоянную помощь на всех этапах выполнения исследований, наставления и поддержку. Я также признательна профессору Национального университета Конджу, Г.Х. Киму (Prof., Dr. Kim Gwang Hoon, Kongju National University, Конжу, Республика Корея) за возможность использовать научное оборудование его лаборатории и предоставление необходимых для выделения ДНК водорослей и секвенирования реактивов. Выражаю благодарность куратору альгологической коллекции БИН РАН (LE), к.б.н. Т.А. Михайловой за возможность изучить автентичные образцы А.К. Мертенса и другие сборы алариевых водорослей, а также коллегам, оказавшим содействие в поиске типовых образцов: куратору водорослевой коллекции SAP, Др. Т. Абе (Dr. Tsuyoshi Abe), куратору гербария UPS, Проф. С. Экману (Prof. Stefan Ekman), куратору гербария S, Др. А. Далсат (Dr. Åsa Dalsätt). Благодарю руководителя группы маркетинга и сбыта ТИБОХ ДВО РАН, к.б.н. М.И. Кусайкина за предоставленную возможность участия в 47-й экспедиции в Охотское и Берингово моря на НИС «Академик Опарин». Я искренне благодарю за многолетнее сотрудничество коллег-альгологов.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Общая характеристика рода *Alaria* Greville, 1830

Род *Alaria* является одним из самых многочисленных таксонов в порядке Laminariales (Bolton, 2010; Silberfeld et al., 2014; Guiry, Guiry, 2018). Его представители отличаются от остальных алариевых водорослей сложной морфологией слоевища. Они имеют пластину с простой жилкой, неразветвленный ствол в особой области (рахисе) которого развиваются специальные листочки (спорофиллы). Спороносная ткань развивается, главным образом, на спорофиллах. Виды рода *Alaria* распространены в Северном полушарии, преимущественно в умеренных широтах.

С момента выделения первого представителя рода – *A. esculenta*, во второй половине XVIII в. и до середины прошлого века было описано 108 его видовых и внутривидовых таксонов. За это время было предпринято две полных и несколько региональных ревизий рода *Alaria* (Yendo, 1919; Widdowson, 1971; Петров, 1973) (табл. 1). Как видно из таблицы 1, взгляды альгологов на объем и границы рода с течением времени менялись. Такая ситуация с пониманием объема некоторых видов объясняется, прежде всего, недостатком изученности биологии развития аларий, их морфологической, экологической и географической изменчивости. Это обстоятельство отмечали практически все специалисты, изучавшие представителей данного рода. Так, в статье К.Е. Лейна с соавторами (Lane et al., 2007) со ссылкой на статью Т.Б. Виддоусона (Widdowson, 1971) сказано, что «трудности в применении концепции видов к образцам [аларий] в полевых условиях были описаны [Виддоусоном] следующим образом: «За исключением *Alaria fistulosa*, все виды изменяют все свои таксономически важные характеристики...» и «большая часть таких изменений, как представляется, вызвана экологическими факторами, так что разные виды, растущие в одинаковой среде обитания, похожи друг на друга больше, чем популяции того же вида, растущие в разных местах обитания» (Widdowson, 1971, P. 45).

Современная классификация рода *Alaria* и его ревизии, проведенные альгологами Т.Б. Виддоусоном и К. Йендо

№ п/п	AlgaeBase, 2018	Ревизия Т.Б. Виддоусона (Widdowson, 1971)	Ревизия К. Йендо (Yendo, 1919)
1	<i>A. crassifolia</i>	<i>A. crassifolia</i>	<i>A. crassifolia</i>
2	<i>A. ochotensis*</i>	<i>A. ochotensis</i>	<i>A. ochotensis</i>
3	<i>A. angusta</i>	<i>A. angusta</i>	<i>A. angusta</i>
4	<i>A. praelonga</i>	<i>A. praelonga</i>	<i>A. praelonga</i>
5	<i>A. marginata</i>	<i>A. marginata</i>	<i>A. marginata</i>
			<i>A. valida</i>
		<i>A. nana</i>	<i>A. nana</i>
		<i>A. taeniata</i>	<i>A. taeniata</i>
			<i>A. lanceolata</i>
<i>A. tenuifolia</i>	–		
6	<i>A. esculenta</i>	<i>A. esculenta</i>	<i>A. esculenta</i>
			<i>A. macroptera</i>
			<i>A. dolichorhachis</i>
		<i>A. grandifolia</i>	<i>A. grandifolia</i>
7	<i>A. pylaii</i>	<i>A. pylaii</i>	<i>A. pylaii</i>
8	<i>A. crispa</i>	<i>A. crispa</i>	Синоним <i>A. dolichorhachis</i>
9	<i>A. paradisea</i>	<i>A. paradisea</i>	–
10	<i>A. elliptica</i>	Синоним <i>A. esculenta</i>	Синоним <i>A. dolichorhachis</i>
11	<i>A. oblonga</i>	Синоним <i>A. esculenta</i>	Синоним <i>A. grandifolia</i>
12	<i>A. cordata</i>	–	Синоним <i>A. marginata</i>
13	<i>A. fragilis</i>	Синоним <i>A. tenuifolia</i>	Синоним <i>A. pylaii</i>
14	<i>A. macrophylla</i>	–	Синоним <i>A. macroptera</i>
15	<i>A. striata</i>	–	Синоним <i>A. marginata</i>
	<i>Eualaria fistulosa</i>	<i>A. fistulosa</i>	<i>A. fistulosa</i>

* Примечание: виды с типовым местообитанием в территориальных водах России отмечены заливкой строки.

Считается, что ревизия рода *Alaria*, выполненная канадским альгологом Т.Б. Виддоусоном (Widdowson, 1971) является наиболее полной, поскольку во всех современных исследованиях используется предложенная им внутривидовая классификация рода *Alaria*. Применение методов молекулярно-генетического анализа в систематике алариевых водорослей позволило сформировать современное представление об объеме рода и уточнить таксономический статус некоторых его представителей из Атлантики, Японии и восточной Пацифики (Kraan, Guiry, 2000; 2001; Kraan et al., 2001; Lane et al., 2007) (табл. 1).

Таким образом, учитывая все современные таксономические изменения, род *Alaria* включает 15 валидных видов (Guiry, Guiry, 2018). Однако 1/3 из них требует верификации типового материала и уточнения таксономического статуса. Это касается видов *A. elliptica*, *A. oblonga*, *A. cordata*, *A. fragilis*, *A. macrophylla* и *A. striata*. Все они были описаны более века назад, и более не упоминались в альгологических сводках региональных флор. Кроме того, монографы рода *Alaria* относили все указанные выше виды к синонимам *A. esculenta* и *A. marginata*. Мы считаем, что до проведения всестороннего изучения эти виды следует относить к категории сомнительных таксонов.

Особо отметим, что из 15 современных видов аларий 7 были описаны из территориальных вод России. Такая высокая концентрация видов в одном регионе может объясняться слабой изученностью ламинариевых западной Пацифики в целом. Кроме того, молекулярно-генетический анализ алариевых водорослей российских морей до сих пор никем не проводился.

Неоднозначная ситуация возникает и в отношении распространения типового вида рода *A. esculenta*. Его представители широко распространены в северных районах Атлантического и Тихого океанов, а также в Арктике (Widdowson, 1971; Guiry, Guiry, 2018). Однако указание *A. esculenta* во флоре морских водорослей Российского Дальнего Востока считается спорным, и единого мнения об объеме этого вида среди альгологов нет. Монографы рода *Alaria*, японский альголог К. Йендо (К. Yendo) и отечественный альголог Ю.Е. Петров, считали, что ареал распространения *A. esculenta* ограничен исключительно Северной Атлантикой

(Yendo, 1919; Петров, 1973). В противоположность им Т.Б. Виддоусон, проводя ревизию рода *Alaria* в 60–70-х гг. прошлого века, определил некоторые гербарные образцы собранных в дальневосточных морях аларий как *A. esculenta* (Widdowson, 1971). В современных флористических списках российских и японских альгологов данный вид в западной Пацифике не указывается (Клочкова и др., 2009; Kawashima, 1993; Klochkova, 1998; Yoshida et al., 2015).

В настоящее время для *A. esculenta* известно 28 гетеротипных синонимов (Guiry, Guiry, 2018). Среди них указывается вид *A. macroptera*, впервые описанный из Охотского моря и позднее указанный для флоры восточной Камчатки, Курильских островов и Хоккайдо. В разное время для *A. esculenta* было описано 13 внутривидовых таксонов, из которых 3 формы – *f. angustifolia*, *f. latifolia*, *f. pinnatifida*, – из Авачинской губы. Из них первая и последняя формы в международной базе данных AlgaeBase показаны как валидные, а форма *f. latifolia* без каких-либо пояснений как невалидная (Guiry, Guiry, 2018). Несмотря на это, сама *A. esculenta* в дальневосточной морской альгофлоре не указывается.

1.2. Традиционная морфолого-анатомическая и современная молекулярно-генетическая классификации представителей порядка Laminariales

Впервые известные к середине XVIII в. ламинариевые водоросли были выделены в отдельный таксон К. Линнеем в ботанической работе «Systema naturae», где наряду с другими водорослями он поместил их в род *Fucus* (Linnaeus, 1753). Через 15 лет вышла первая альгологическая сводка по морским водорослям, составленная С.Г. Гмелиным (Gmelin, 1768). Основными используемыми в то время таксономическими категориями были класс, отряд, род и вид (Linnaeus, 1753). Таким образом, к концу XVIII в. таксономическое положение типового вида рода *Alaria* выглядело следующим образом:

Class: Cryptogamia

Ordo: Algae

Genus: *Fucus*

Species: *esculentus*.

С конца XVIII в. началось активное изучение морской флоры мирового океана, и уже к концу следующего столетия была описана большая часть существующих родов (23 из 35) ламинариевых водорослей (Guiry, Guiry, 2018). Обработкой обширных гербарных коллекций водорослей и их систематизацией в разное время занимались такие альгологи как R.K. Greville (1830), F. Kützing (1849), A. Postels и F. Ruprecht (1840), J.G. Agardh (1848, 1868, 1872), F.R. Kjellman (1889), W.A. Setchell (1893), J.V. De Toni (1895) и др. В указанных выше работах все известные к тому времени ламинариевые водоросли, как правило, были объединены в семейство Laminariaceae, которое в ряде случаев было разделено на секции (Kützing, 1849). К этому времени уже были выделены все остальные таксономические ранги, и иерархия таксонов приняла современный вид, который позже были закреплен в Кодексе ботанической номенклатуры (ICBN, 2018).

В XIX в. все классификации ламинариевых водорослей основывались исключительно на морфологических особенностях строения спорофитной генерации, что определялось общим уровнем развития науки того времени. Описание новых видов и родов ламинариевых часто сопровождалось только краткой характеристикой таксона и, в исключительных случаях, приводилось его изображение. Кроме того, во многих случаях описания новых видов составлялись на основе нескольких экземпляров водорослей из единичных сборов, поскольку у альгологов того времени отсутствовала возможность изучения регулярных гербарных коллекций водорослей из исследуемого или близлежащего районов. Более того, они не имели представления о сезонной, возрастной и экологической изменчивости видов ламинариевых водорослей. Это приводило к тому, что разрозненный гербарный материал было сложно проанализировать и, неудивительно, что ученые зачастую описывали новые видовые или внутривидовые таксоны. Так, у самых многочисленных родов порядка Laminariales: *Laminaria sensu lato* и *Alaria* известно 240 и 108 видовых и внутривидовых названий, соответственно, при этом большинство из них в

настоящее время утратили самостоятельный статус (Widdowson, 1971; Bartsch et al., 2008; Guiry, Guiry, 2018).

Позже у ламинариевых было обнаружено половое поколение и с начала XX в. у них стали активно изучать анатомическое строение, особенности протекания жизненных циклов, процессы формирования зооспор и половых клеток, хромосомные числа, сезонное развитие и изменение химического состава их слоевищ, аспекты популяционной биологии и т.д. К середине прошлого века устоялась классификация, в которой все известные виды выделенного в 1909 г. порядка Laminariales (Migula, 1909) были распределены между четырьмя семействами: Chordaceae Dumortier (1822), Alariaceae Sethell et Gardner (1925), Laminariaceae Bory de Saint-Vincent (1827) и Lessoniaceae Sethell et Gardner (1925).

Представители Chordaceae отличаются от водорослей других семейств примитивным строением слоевища, которое не дифференцировано на пластину и стволик (Setchell, Gardner, 1925; Sasaki, Kawai, 2007). У представителей всех остальных семейств слоевище дифференцировано на органы прикрепления, стволик и пластину; между последними структурами в переходной зоне расположена интеркалярная меристема. Виды семейства Laminariaceae имеют просто устроенную пластину на протяжении всей жизни, у некоторых из них формируются разрывы в наиболее старой ее части в направлении от вершины к основанию (Miyabe, 1902). Лессониевые водоросли имеют просто устроенную пластину только в ювенильном состоянии, позже появляются разрывы в ее переходной зоне в противоположном, чем у представителей Laminariaceae направлении. Слоевища алариевых водорослей наиболее сложноустроенные среди представителей порядка Laminariales. Их пластина имеет жилку и специализированные образования – спорофиллы, на которых образуется спороносная ткань.

Ю.Е. Петров на основе уникальной особенности образования новых пластин на слоевищах и дихотомической форме стволика видов рода *Arthrothamnus* выделил их из Laminariaceae в отдельное семейство Arthrothamniaceae Petrov (Петров, 1974). Хотя большинство зарубежных альгологов его не поддержали, в

отечественной литературе это семейство указывали вплоть до последнего времени (Клочкова и др., 2009; Klochkova, 1998).

Семейство Pseudochordaceae Kawai et Kurogi (1985) в порядке Laminariales было выделено из Chordariales, прежде всего из-за оогамного процесса размножения. От остальных семейств ламинариевых водорослей его представители отличаются наличием многоклеточных парафизов, однодомными гаметофитами и многогнездными антеридиями.

Семейство Akkesiphycaceae Kawai et Sasaki (2000) было присоединено к ламинариевым водорослям на основе результатов молекулярно-филогенетических анализов, несмотря на то, что у его единственного представителя – *Akkesiphycus libricum*, были обнаружены в целом несвойственные ламинариевым характеристики, такие как однодомные мономорфные гаметофиты, анизогамный половой процесс, многогнездные гаметангии (Kawai, Sasaki, 2000). Введение семейства Akkesiphycaceae потребовало пересмотра и внесения изменений в диагноз всего порядка Laminariales. В тоже время в большинстве таксономических сводок у ламинариевых указывается исключительно оогамный половой процесс (Adl et al., 2012; Guiry, Guiry, 2018). Считается, что указанное выше семейство является самым примитивным в порядке Laminariales, а наличие жгутиков у яйцеклеток *Saccharina angustata* (Motomura, Sakai, 1988; Motomura, 1991) поддерживает предположение об анизогамном половом процессе как исходном для этой группы (Kawai, Sasaki, 2000).

Семейство Agaraceae Postels et Ruprecht было выделено еще 1840 г., однако большинство альгологов новый таксон не признало, и до середины прошлого десятилетия его представителей относили к семейству Laminariaceae. Обособление Agaraceae в отдельное семейство было сделано после проведения молекулярно-генетического анализа видов его родов *Agarum*, *Costaria*, *Thalassiophillim* и *Dyctioneurum*. В целом, агаровые отличаются от представителей семейства Laminariaceae наличием перфорированной или сетчатой пластины с жилкой или без нее и плоским или цилиндрическим стволиком (Lane et al., 2007; Silberfeld et al., 2014).

В начале текущего десятилетия было описано семейство Aureophycaceae Kawai et Ridgway (Kawai et al., 2013). Оно включает единственный вид-эндемик Алеутских островов – *Aureophycus aleuticus*. Обособленность семейства от остальных ламинариевых поддержано молекулярно-филогенетическими исследованиями. В морфологическом отношении *A. aleuticus* отличается от других ламинариевых тонкой пластиной с утолщенным V-образным основанием и способностью формировать спороносную ткань на органах прикрепления (Kawai et al., 2008, 2013).

Традиционная классификация порядка Laminariales, основанная на особенностях морфологии и жизненных циклов, позволяла безошибочно идентифицировать любую ламинариевую водоросль до родового уровня. Не вызывало затруднений и определение видов монотипных родов, которые составляют 60% от общего количества видов в этом порядке. Наибольшие трудности возникали в определении видов политипных родов, в частности *Alaria*, *Laminaria sensu lato* и *Lessonia*, на которые приходится 52% всего видового разнообразия Laminariales. В разных районах Мирового океана были разработаны региональные сводки или определители ламинариевых водорослей (Зинова, 1953; Петров, 1973, 1974; Yendo, 1919; Miyabe, Nagai, 1933; Nagai, 1940; Druehl, 1968, 1970, 1979; Widdowson 1971; Kain, 1979; Wynne, 1982; Kawashima, 1993; Saunders, Druehl, 1993). Они позволяли достаточно точно идентифицировать принадлежность изучаемой ламинариевой водоросли конкретной флоры к тому или иному виду порядка. Однако, большинство из указанных выше работ к концу XX в. устарели и, как следствие, не учитывали современных изменений в систематике морских водорослей.

Принципиально новым этапом развития таксономии ламинариевых было внедрение в нее методов молекулярной систематики и филогении и их широкое использование (Fang, Dai, 1980; Lane et al., 2006; Kawai et al., 2008; Boo et al., 2011). Пионерами в изучении молекулярной филогении тихоокеанских бурых водорослей были канадский альголог Луи Д. Друэл (L.D. Druehl), японский альголог Хироши Каваи (H. Kawai) и южно-корейские альгологи Сунг Мин Бу

(S.M. Woo) и Ён-Пил Ли (Y.-P. Lee). В настоящее время целенаправленное изучение молекулярной систематики, таксономии и биологии развития бурых водорослей за рубежом продолжают Dr. Norishige Yotsukura с соавторами (Yotsukura, Druehl, 2009; Yotsukura et al., 1999, 2006, 2008, 2016); Dr. Gary W. Saunders и Dr. Christopher A. Lane (Lane, Saunders, 2005; Lane et al., 2007; Jackson et al., 2017). В качестве наиболее эффективных маркеров для бурых водорослей предложены следующие участки ДНК/гены: ITS1, ITS2, COI, *rbcL*. Информация по ним в NCBI (2018) наиболее полная, что позволяет провести наиболее достоверный сравнительный анализ сиквенсов, полученных в разное время разными авторами.

С начала 2000 гг. молекулярно-генетические данные несколько раз подвергались обобщению, но все попытки исследователей сформировать представления о происхождении, эволюции и расселении ламинариевых водорослей в Мировом океане на основе молекулярной филогении натываются на два серьезных затруднения. Первое из них – практически полное отсутствие молекулярных данных для эндемичных родов и видов российского Дальнего Востока, которые составляют весьма существенную долю в общей ламинариевой флоре Мирового океана. Второе – это все возрастающее несоответствие молекулярно-генетических и морфолого-анатомических данных.

Кроме того, в силу методических трудностей выделения ДНК из старых образцов бурых водорослей (Климова и др., 2016; Klochkova et al., 2012), для секвенирования стараются использовать свежесобранный материал. Это в свою очередь привело к утрате интереса к сбору и поддержанию альгологических коллекций. Многие представители новой генерации исследователей филогении водорослей больше сосредоточены на успехе проведении этапа молекулярных исследований. Они в своем большинстве имеют недостаточную альгологическую подготовку, не научены определять виды и использовать традиционные методы систематики. В результате в Генбанке NCBI увеличивается объем загруженных сиквенсов образцов водорослей, правильность определения которых ничем не подтверждена (NCBI, 2018). В ряде случаев научная несостоятельность

представленных в Генбанке видов совершенно очевидна. Это возникает, например, тогда, когда в него загружаются данные секвенирования генов у растений, собранных на большом удалении от типового местообитания вида, под именем которого он значится в Генбанке (Saunders, Druehl, 1993; Yoon, Boo, 1999; Yoon et al., 2001). В дальнейшем при проведении сравнительных исследований эти данные предполагается использовать как эталон систематической принадлежности вида. Приведем несколько примеров необоснованного с позиций традиционной систематики разделения или, наоборот, объединения родов, видов и семейств ламинариевых только на основе молекулярных данных. Например, по результатам генетического анализа род *Laminaria* был разделен на 2 рода, *Laminaria* и *Saccharina* (Lane et al., 2006), в то время как устойчивого различия морфологических и анатомических признаков их представители не имеют. В другом случае, напротив, при полном морфологическом сходстве *Lessonia laminarioides* с остальными представителями этого рода, только на основании разницы генов RuBisCo и psaA она была выделена в новый род *Pseudolessonia* и перенесена из семейства Lessoniaceae в семейство Laminariaceae (Cho et al., 2006). Это не только привело к появлению двух разных родов, представители которых неразличимы по морфологии, но и обесценило морфологические признаки, лежащие в основе различий между семействами Lessoniaceae и Laminariaceae. Другим примером игнорирования и обесценивания устойчивых в таксономическом отношении морфологических признаков родов *Kjellmaniella*, *Cymathaera* и *Saccharina* является включение видов *K. gyrata* и *C. triplicata* в род *Saccharina* (Lane et al., 2006), а также сведение в синонимы вида *Alaria marginata* видов *A. taeniata*, *A. tenuifolia*, имеющих морфологические различия (Lane et al., 2007).

Таким образом, классификация ламинариевых водорослей, включающая современные семейства, изначально была выстроена на основе морфологических признаков и особенностей их жизненных циклов. Привлечение молекулярно-генетических методов в таксономические изучения порядка Laminariales позволило выделить три новых семейства (Akkesiphysaceae, Agaraceae и Aureophysaceae) и пересмотреть границы остальных семейств и некоторых родов. Кроме того,

учитывая данные филогении, традиционная концепция вида оказалось не применимой для ламинариевых водорослей (Kraan, Guiry, 2000; Lane et al., 2006, 2007). В конечном счете, учитывая современную классификацию порядка Laminariales (Silberfeld et al., 2014), основанную на молекулярной систематике и филогении, из-за практически полной несостоятельности традиционных морфологических признаков крайне затруднительно составить диагнозы и ключи для идентификации большинства его таксонов, начиная с уровня семейств.

1.3. Жизненные циклы ламинариевых водорослей

Цитологическое изучение ламинариевых водорослей берет начало с момента описания Г. Тюре строения спороносной ткани у *Laminaria digitata* и *Saccharina latissima* в середине XIX в. (Thuret, 1850). По мере изучения биологии развития бурых водорослей накапливалось все больше информации о сложности их жизненных циклов (Williams, 1900, 1912; Sauvageau, 1915). Только после открытия у ламинариевых микроскопического полового поколения (Kylin, 1916) стало очевидно, что они имеют гетероморфный жизненный цикл с чередованием спорофитной ($2n$) и гаметофитной (n) стадий.

Спорофитная стадия ламинариевых водорослей представлена макроскопическим слоевищем с разнообразной морфологией всех составляющих его частей: органов прикрепления, стволика и пластины. Органы прикрепления могут быть представлены ризоидами, базальным диском или ризомами. Последние встречаются достаточно редко. Так, ризом регистрировали всего у двух видов порядка Laminariales – *Laminaria longipes* и *L. sinclairii* (Markham, 1969). Базальный диск имеют, например, виды *L. yezoensis* и *Cymathaere triplicata*. Органы прикрепления, представленные ризоидами, встречаются у большинства видов ламинариевых водорослей. Стволик может быть хорошо развит, например, у всех ламинариевых водорослей, или сильно редуцирован, как у *Saccharina bongardiana* f. *subsessilis*. Кроме того, у видов родов *Arthrothamnus*, *Lessoniopsis* и некоторых других ламинариевых он может быть разветвленным. Наибольшим

морфологическим разнообразием характеризуется пластина. Она у ламинариевых может быть цельной, рассеченной, перфорированной, с жилкой или ребрами. Уникальное сочетание различных по морфологии частей слоевища формирует современное многообразие представителей порядка Laminariales, которых в настоящее время насчитывается более 140 видов (Guiry, Guiry, 2018).

Размеры спорофитной генерации варьируют в широком диапазоне, от 0,5 до 6 м и более. Максимальные линейные размеры спорофитов (до 45 м и более) зарегистрированы у пацифических видов *Eualaria fistulosa*, *Macrocystis pyrifera* и *Nereocystis luetkeana*. Спорофитная генерация многолетняя, как правило, в течение нескольких сезонов сохраняются только органы прикрепления и стволик с основанием пластины. Сама пластина после вегетационного сезона сохраняется редко. Продолжительность жизни спорофита в целом варьирует от 1 года (*Undaria*) до 10 лет и более (*Agarum*).

Зрелые спорофиты ламинариевых формируют на поверхности талломов органы бесполого размножения – зооспорангии, собранные в группы (сорусы). Их локализация на слоевище может быть различной. Сорусы у представителей семейств Agaraceae, Laminariaceae и Lessoniaceae покрывают поверхность одной или обеих сторон пластины. У алариевых водорослей спороносная ткань, как правило, развивается на поверхности специализированных листочков (спорофиллов) или в нижней части пластины. Исключительная локализация спороносной ткани на поверхности органов прикрепления характерна только алеутскому эндемичному виду *Aureophycus aleuticus* (Kawai et al., 2013). Массовое спороношение ламинариевых, как правило, приурочено к холодному времени года – осени и зиме. У некоторых видов спороношение происходит дважды в год или растянуто в течение всего вегетационного периода (Саушкина, 2006; Markham, 1973; Bartsch et al., 2008). У многолетних видов спороношение происходит каждый год.

Одним из механизмов, запускающих образование спороносной ткани у ламинариевых водорослей, является изменение длины дня. Так, помещение растений видов *Laminaria setchellii*, *Saccharina japonica* и *S. latissima* в условия

короткого дня (8 ч света и 16 ч темноты) приводило к преждевременному формированию у них сорусов через 3–14 недель после начала экспериментов (Lüning, 1988; tom Dieck, 1991). Кроме того, присутствие экзогенных стимуляторов роста во внешней среде способно блокировать или индуцировать спорообразование. Высокие концентрации гетероауксина в питательной среде приводили к активации у *S. japonica* вегетативного роста и задержке спорогенеза (Kai et al., 2006). Противоположный эффект на этот вид оказывало присутствие во внешней среде абсцизовой кислоты, которая угнетала рост и стимулировала образование спороносной ткани (Nimura, Mizuta, 2002). Также выявлена положительная зависимость между содержанием биогенных веществ в водной среде (азота и фосфора) и площадью покрытия сорусами пластин у четырех видов сахарин (Nimura et al., 2002).

У алариевых водорослей спорогенез изучен достаточно хорошо, как и для представителей Laminariales в целом (Nishibayashi, Inoh, 1956; Ohmori, 1967; Robinson, 1967). Спороносная ткань образуется на зрелых участках талломов из поверхностных клеток меристодермы (tom Dieck, 1991). Клетки ее верхнего слоя вытягиваются в продольном направлении и образуют ряд инициалей спорогенных элементов. Далее каждая инициальная клетка делится периклиально и формирует две клетки, апикальную, т.е. прилежащую к поверхности пластины, и базальную (Ohmori, 1967). Внешне такие изменения на слоевище ламинариевых не заметны. Апикальные клетки дают начало парафизам, базальные – спорангиям. Парафизы имеют опережающий рост. На следующей стадии спорогенеза, после того как у них появляются слизистые колпачки, начинается рост и развитие одногнездных спорангиев. В каждом спорангии происходит редукционное деление и последующая серия митотических делений, которая приводит к образованию зооспор (мейоспор). Их количество в спорангиях различно для представителей порядка Laminariales. Известно, что у *Chorda filum* образуется 16 мейоспор (Ohmori, 1967), у большинства ламинариевых водорослей и видов рода *Alaria* в спорангиях формируется 32 мейоспоры (Robinson, Cole, 1971a) и всего у двух видов – *Ecklonia arborea* и *Pterygophora californica*, – в спорангиях

обнаружено 64 споры (McKay, 1933; Hollenberg, 1939).

У ламинариевых выделяют два типа спорогенеза: «Alaria»-тип и «Laminaria»-тип. Различие между ними состоит лишь в том, что при делении инициалей спорогенных элементов нижняя клетка может либо непосредственно формировать спорангий («Laminaria»-тип), либо дополнительно делиться и только после этого давать спорангий и еще одну клетку парафизы («Alaria»-тип). Таким образом, при «Alaria»-типе соотношение парафиз к спорангиям равняется 2:1, а при «Laminaria»-типе соотношение элементов спороносной ткани – 1:1. Четкой родовой приуроченности ламинариевых водорослей к тому или иному типу спорогенеза нет. Так у *Alaria angusta* и *Undaria pinnatifida* наблюдается «Laminaria»-тип образования спороносной ткани, а у *Saccharina yendoana*, напротив, проявляется «Alaria»-тип (Ohmori, 1967).

Выход зрелых спор из спорангиев в естественной среде, вероятно, контролируется циркадными ритмами. Так, у вида *Nereocystis luetkeana* в предрассветные часы и в течение первых четырех часов после рассвета из спороносной ткани высвобождалось 80% зооспор (Amsler, Neushul, 1989). У *S. japonica* основной выход зооспор (76–88%) приходился на ночное время суток (Fukuhara et al., 2002). Искусственное высвобождение зооспор достигается воздействием на спороносную ткань осмотического шока в сочетании с изменением температуры и освещения (Kain, 1979; Макаров, 1987).

Мейоспоры имеют ядро, два жгутика, хлоропласт, аппарат Гольджи, несколько митохондрий и небольшие липидные капли (Motomura, 1993). В лабораторных культурах они проявляют локомоторную активность до 72 ч (Макаров, 1987; Reed et al., 1992). Максимальное значение скорости передвижения зооспор в среде выявлено у *S. japonica* – 160 мкм/с (Fukuhara et al., 2002). В естественной среде посредством морских течений и локальных движений воды они могут быть разнесены на расстояние не более 200 м (Norton, 1992; Fredriksen et al., 1995). Известны случаи рассеяния спор *Macrocystis* до 4 км (Reed et al., 1988).

После активной пелагической жизни мейоспоры оседают на субстрат и

формируют эмбриоспору, которая без стадии покоя прорастает в гаметофит. За исключением вида *L. longipes* гаметофиты ламинариевых водорослей двудомные (Marham, 1969; Lee, 2008). Первая клетка гаметофита формируется в результате перетекания всего внутриклеточного содержимого эмбриоспоры в проростковую трубку и отделением от последней перегородкой. При дальнейшем развитии гаметофиты остаются прикрепленными к субстрату пустой оболочкой эмбриоспоры. В последующем происходит их активное деление и вегетативный рост, и в конечном счете, формируется разветвленное или неразветвленное однорядное нитчатое растение. Как правило, мужские гаметофиты отличаются от женских меньшими размерами и обильным ветвлением. Считается, что несмотря на внешнее разнообразие форм спорофитной стадии, гаметофиты всех ламинариевых водорослей имеют одинаковую морфологию.

В лабораторных культурах гаметофитов ламинариевых было показано, что образование гаметангиев, особенно оогониев, индуцируется синим светом (400–512 нм) или присутствием в питательной среде хелатного железа (Lüning, Dring, 1975; Lüning, 1980; Motomura, Sakai, 1981, 1984). Освещение гаметофитов красным светом позволяет блокировать гаметогенез, и в научной литературе описаны случаи содержания их в таких условиях длительное время, около 30 лет, без потери репродуктивного потенциала (tom Dieck, 1992; Bartsch et al., 2008). Кроме того, гаметофиты нормально развивались и после нахождения в полной темноте в течение 12–18 месяцев (Druehl, Voal, 1981; tom Dieck, 1993). Потенциально каждая клетка гаметофита способна формировать гаметангий. Оптимальными условиями для развития мужских и женских гаметангиев (антеридиев и оогониев, соответственно) в искусственной среде в зависимости от вида ламинариевых является температура 5–18°C и освещение 4–90 мкмоль·м⁻²·сек⁻¹ (Yarish et al., 1990; tom Dieck, 1992; tom Dieck, de Oliveira, 1993; Izquierdo et al., 2002; Kawai et al., 2013).

В каждой гаметангии формируется только одна половая клетка. Оогонии ламинариевых значительно крупнее антеридиев. Зрелые яйцеклетки покидают оогонии, однако остаются связаны с их оболочкой. В случае потери связи

яйцеклетки с оогонием, даже после оплодотворения, формируются аномальные проростки без морфологической дифференциации, которые, как правило, развиваются в аномальные спорофиты или погибают. Массовый выход антерозоидов регулируется половыми аттрактантами (Müller et al., 1979, 1982, 1988). После оплодотворения на материнском гаметофите формируется зигота, развитие которой приводит к формированию ювенильных спорофитов.

В литературе имеются сведения о различных нарушениях в протекании жизненного цикла ламинариевых водорослей, в которых спорофитные и гаметофитные генерации формировались за счет партеногенеза (апомиксис), андрогенеза, апогамии или апоспории. Как правило, развитие в таких случаях проходит с нарушением ploидности или вообще без ее изменения и, вероятно, внешний диморфизм генераций не зависит от количества наборов хромосом (Lewis, 1996). Основной причиной, определяющей внешний облик спорофитов и гаметофитов, является экспрессия определенных генов (Bell, 1989).

Развивающиеся из неоплодотворенной яйцеклетки партеноспорофиты обычно гаплоидны (Kemp, Cole 1961; Nakahara, 1984; Yabu, Notoya 1985; Yabu, Sanbonsuga, 1985, 1987, 1990; Yabu, Taniguchi, 1990; Lewis et al., 1993; Bai, Qin, 1998) и крайне редко диплоидны (Nakahara, 1984). Однако, некоторые аномальные партеноспорофиты *Saccharina japonica*, *S. angustata*, *Agarum clathratum* и *Alaria crassifolia* имели переменное количество хромосом, а иногда ни одного или несколько ядер на клетку (Fang et al., 1978; Nakahara, 1984; Motomura, 1991). В исследованиях Х. Накахары (Nakahara, 1984) в лабораторных условиях мужские гаметофиты *S. japonica*, *A. crassifolia* и *A. clathratum* апогамно развивались в гаплоидные партеноспорофиты. Кроме того, у указанных выше видов наблюдали случаи апоспории, при которой нормальные диплоидные спорофиты продуцировали однодомные диплоидные гаметофиты из вегетативных клеток (Nakahara, 1984).

Среди алариевых водорослей гаметофитные генерации были детально изучены у японских популяций *Alaria angusta* (Kanda, 1936), *A. crassifolia* (Kanda, 1936; Nakahara, 1984), *A. praelonga* (Kanda, 1944), различных атлантических

популяций *A. esculenta* (Kraan, Guiry, 2000) и американских популяций *A. marginata* (Robinson, 1967; Blinn, Markham, 1969). Несмотря на то, что некоторые культуральные исследования проводились в неконтролируемых условиях, для всех изученных видов было описано развитие от выхода зооспор до появления ювенильных спорофитов.

1.4. Кариологическая характеристика представителей порядка Laminariales

К первым кариологическим исследованиям ламинариевых водорослей можно отнести следующие работы: Kylin (1918), Myers (1928), McKay (1933), Hollenberg (1939) и Abe (1939), показавшие на представителях таких родов как *Chorda*, *Egregia*, *Pterogophora*, *Ecklonia* и *Saccharina*, что первое деление в зооспорангиях является редукционным. После этих работ стали активно изучать процессы образования репродуктивных клеток ламинариевых – споро- и гаметогенез. Японскими альгологами были детально описаны мейотическое деление и спорообразование у ламинариевых западной Пацифики (Yabu, 1957, 1964, 1965; Inoh, Nishibayashi, 1960; Nishibayashi, Inoh, 1960; Yabu, Tokida, 1963; Nakahara, 1984). Кроме того, ими были исследованы хромосомные числа для 24 видов ламинариевых (Седова, 1996; Lewis, 1996). В этот же период времени были установлены хромосомные числа для еще 17 видов ламинариевых Атлантики и восточной Пацифики (Walker, 1954; Kemp, Cole, 1961; Evans, 1963, 1965; Robinson, 1967; Cole, 1968; Lewis, Neushul, 1994).

В настоящее время известно, что у ламинариевых кариокинез, как и у высших растений, включает следующие стадии клеточного деления: профазу, метафазу, анафазу и телофазу (Седова, 1996; Lewis, 1996). У бурых водорослей обнаружен только полужакрытый тип митоза. Профаза в вегетативных клетках начинается с образования хромоцентров, расположенных линейно и их постепенной конденсации в отдельные хромосомы. Некоторые исследователи отмечали увеличения размеров ядра в профазе деления (Evans, 1966; Roberts, 1966). Центросомы появляются в поздней профазе. Метафазная пластинка очень

компактная, веретено деления и центриоли у полюсов заметны слабо. Ядерная оболочка остается до анафазы и, как правило, на этой стадии хромосомы перемещаются компактными агрегациями к полюсам. При телофазе исчезают веретено деления и centrosомы, затем формируются отдельные ядра. Наиболее подходящими стадиями митотического деления для кариологических исследований являются поздняя профаза и ранняя метафаза (Lewis, 1996).

Небольшие размеры ядер ламинариевых водорослей и компактность хромосом при делении затрудняют кариотипирование этой группы (Lewis, 1996). Так, размеры ядер составляют 3 мкм у женских гаметофитов *Laminaria digitata* (Walker, 1954), 4–5 мкм у гаметофитов *Alaria angusta* (Климова, Клочкова, 2017), 3 мкм для антерозоидов и 6–8 мкм для яйцеклеток *Chorda tomentosa* (Maier, 1984), 7–8,5 мкм в вегетативных клетках спорофита *Tauya basicrassa* (Klochkova et al., 2017), 8–10 мкм в интерфазных клетках спорофитов *Alaria* spp. (Robinson, Cole, 1971a). Также определенную трудность при изучении хромосомных чисел составляет приуроченность клеточных делений к внешним факторам (приливно-отливные явления, изменения температуры, интенсивность света, продолжительность светового периода). В естественной среде, как правило, интенсивность митотических делений увеличивается в период прилива и после заката в темное время суток (Седова, 1996; Kapraun, Boone, 1987).

Мейотическое деление у ламинариевых водорослей происходит в инициальных клетках спороносной ткани. Последующие последовательные митотические деления дают начало одногнездным спорангиям, содержащим 16–128 зооспор (мейоспоры) (Седова, 1996). Среди ламинариевых мейоз был изучен у представителей родов *Chorda* (Kylin, 1918; Evans, 1965), *Agarum* (Yabu, 1957, 1964), *Alaria* (Yabu, 1957, 1964; Evans, 1965; Robinson, Cole, 1971a), *Eualaria* (Robinson, Cole, 1971a), *Pterygophora* (McKay, 1933), *Undaria* (Inoh, Nishibayashi, 1960; Nishibayashi, Inoh, 1960), *Arthrothamnus* (Yabu, Tokida, 1963), *Laminaria sensu lato* (Abe, 1939; Nishibayashi, Inoh, 1956; Yabu, 1958, 1965, 1973; Evans, 1965), *Nereocystis* (Kemp, Cole, 1961).

Специальное цитологическое изучение алариевых водорослей восточной

Пацифики было проведено Г. Робинсон и К. Коул в 1960-х гг. (Robinson, 1967; Robinson, Cole, 1971a, 1971b). Они детально изучили формирование мейоспор в зооспорангиях, развитие гаметофитов и образование гаметангиев, оплодотворение гамет, развитие молодых спорофитов, хромосомные числа и размеры хромосом у видов *Alaria marginata*, *A. marginata* морфотип *nana* (= *A. nana*), *A. marginata* морфотип *tenuifolia* (= *A. tenuifolia*), *A. marginata* морфотип *taeniata* (= *A. taeniata*) и *Eualaria fistulosa* (= *A. fistulosa*).

Хромосомы ламинариевых водорослей, как правило, мелкие и морфологически слабо дифференцированы. В прометафазе митотического деления они имеют сферическую, яйцевидную и округло-прямоугольную форму, их размеры варьируют от 0,3 мкм до 2,6 мкм (Седова, 1996; Lewis, 1996; Liu et al., 2012). Как правило, у ламинариевых выделяют три размерные группы хромосом:

- Хромосомы с максимальными размерами от 2 мкм и более;
- Хромосомы размером 1–2 мкм;
- Хромосомы размером менее 1 мкм.

Кроме того, распределение хромосом в зависимости от размера отличается у женской и мужской гаметофитных генераций. Так, известно, что у женских гаметофитов ($n=31$) *Saccharina japonica* 5 хромосом имеют размеры более 2 мкм, 3 хромосомы – менее 1 мкм и остальные рассредоточены в пределах 1–2 мкм, однако, у мужских гаметофитов этого вида ($n=31$) к первой размерной группе относится 1 хромосома, ко второй – 23 и к третьей – 7 хромосом. Кариологические исследования 5 видов алариевых водорослей восточной Пацифики показали, что у всех морфотипов *Alaria marginata* ($n=14$) 4 хромосомы имеют размеры 1,8–2 мкм, еще 4 хромосомы – 1,25–1,6 мкм и остальные – 0,5–1 мкм (Robinson, 1967; Robinson, Cole, 1971a; Lewis, 1996).

Наличие у ламинариевых водорослей в лабораторных культурах мужских и женских гаметофитов в соотношении 1:1 и получение только женских гаметофитов от партеноспорофитов позволило предположить наличие у них половых хромосом (Robinson, 1967; Motomura, 1991; Lewis et al., 1993; Lewis, 1996; Oppliger et al., 2011; Liu et al., 2012). Однако цитологические исследования

представителей родов *Alaria* и *Saccharina* не выявили достоверной разницы, как по форме, так и по размерам, между кариотипами мужских и женских гаметофитов. Исходя из этого, было сделано предположение, что половые хромосомы ламинариевых водорослей гомоморфны их аутосомам (Fang et al., 1978; Lewis, 1996). Позже, используя методы флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), Саузерн-блоттинг (Southern blot) и специфичный для женских гаметофитов маркер FRML-494, было установлено наличие у *S. japonica* уникального локуса на одной из хромосом, присущего только женским гаметофитам и спорофитам и отсутствующего у мужских гаметофитов (Liu et al., 2009; Liu et al., 2012). Выявленная хромосома (№ X) имела средние для кариотипа вида размеры – 1,686 мкм, в то время как максимальная длина (2,612 мкм) определена у хромосомы № I. Авторы указанной выше публикации, основываясь на отсутствии большой X-хромосомы у женских гаметофитов и специфичной связи маркера FRML-494 и женских хромосом, высказали гипотезу о том, что определяющие пол гены могут существовать в нескольких хромосомах и, вероятно, для ламинариевых характерна система множественных половых хромосом (Liu et al., 2012).

Также в литературе встречаются сведения о влиянии температуры инкубирования гаметофитов на соотношение полов в культуре ламинариевых. Так, наблюдения за развитием гаметофитов *Lessonia nigrescens* из двух разных популяций (из северных и южных районов побережья Чили), произрастающих при температуре 10°C и 14°C показали, что в культурах водорослей из северной популяции доля мужских гаметофитов снижается при повышении температуры (14°C) и, соответственно, имеет противоположный эффект в культурах *L. nigrescens* из южных районов (Oppliger et al., 2011).

Основной всплеск в определении хромосомных чисел ламинариевых водорослей пришелся на 1960–70-ые гг. В настоящее время они известны только для 37 видов порядка Laminariales, что составляет менее 27% от их общего количества (Седова, 1996; Lewis, 1996). Имеющиеся в мировой литературе сведения по хромосомным числам ламинариевых представлены на рисунке 1. Они

составляют ряд от 8 до 34. Минимальное значение $n=8$ встречается крайне редко и известно у *Egregia menziesii* (Myers, 1928) и *Laminaria digitata* (Walker, 1954). Максимальное число хромосом обнаружено у *Chorda filum* ($n=32-34$) и *Saccharina kurilensis* ($n=28-34$). Для видов из семейств Agaraceae и Laminariaceae характерны числа $n=13, 16, 22, 31$.

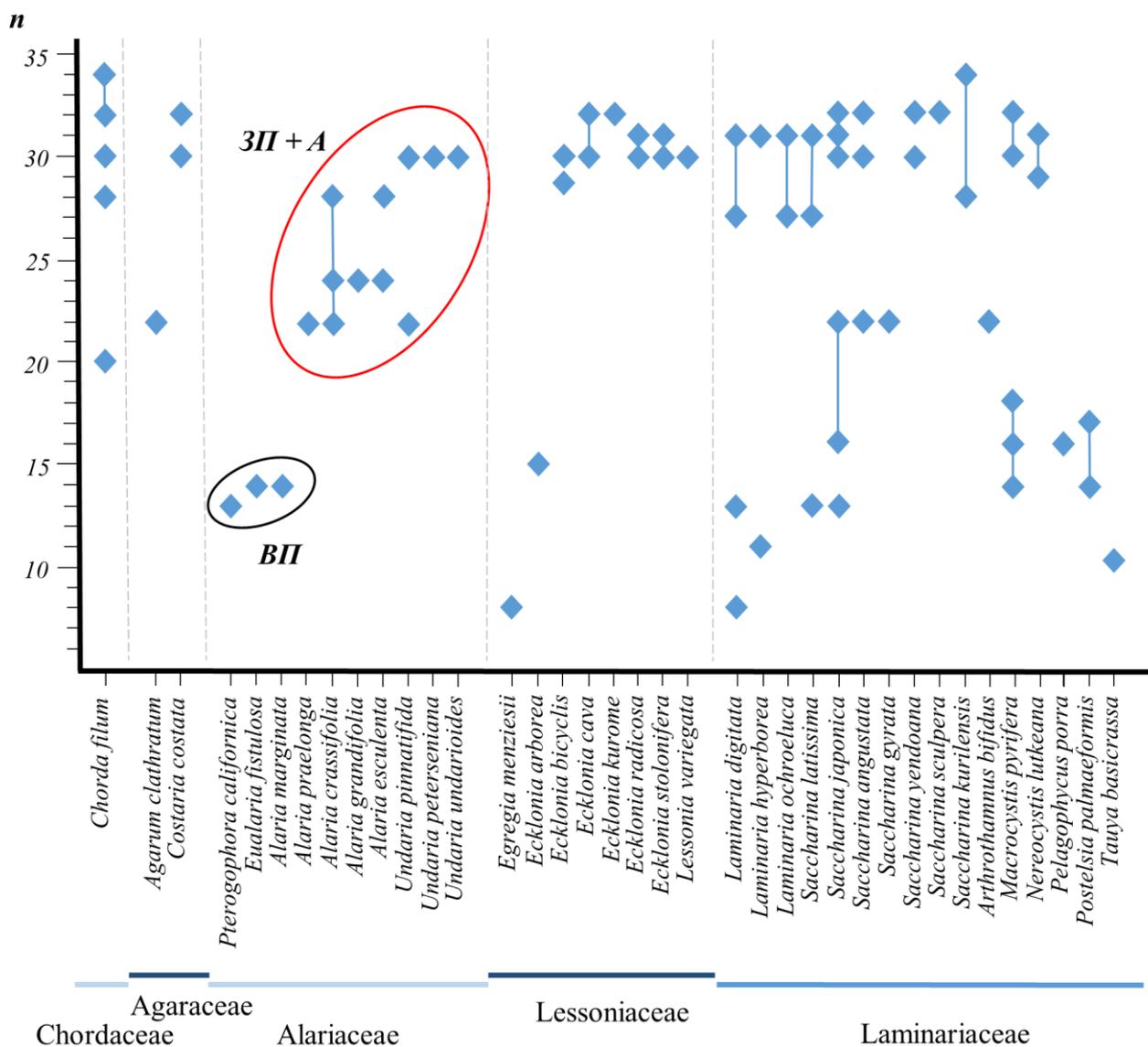


Рисунок 1 – Хромосомные числа (n) представителей порядка Laminariales (по Седовой, 1996; Lewis, 1996). ЗП – западная Пацифика, ВП – восточная Пацифика, А – Атлантика.

Несколько иной ряд образуют хромосомные числа представителей семейства Lessoniaceae ($n=8, 15, 30$), а среди представителей Alariaceae они в основном представлены такими значениями как $n=13$ у *Pterogophora*, $n=30$ для видов рода *Undaria* и $n=14, 22, 28$ для родов *Alaria* и *Eualaria*. Примечательно, что

минимальное хромосомное число встречается только у алариевых водорослей восточной Пацифики, однако для атлантических и западнопацифических видов характерно, в целом, вдвое большее их значение.

Анализ хромосомных чисел представителей порядка Laminariales позволяет говорить о том, что базовым числом является $n=8$. Предполагается, что остальные варианты возникли в результате полиплоидии и частично анеуплоидии (Седова, 1996; Lewis, 1996).

Из представленных в главе 1.4. сведений видно, что кариологические исследования ламинариевых, произрастающих в прибрежных водах российского Дальнего Востока не проводились, за исключением охотоморского вида *Tauya basicrassa*, спорофиты которой имели число хромосом $n=20$ (Klochkova et al., 2017). Вместе с тем, в эпоху доминирования в биологической систематике молекулярно-генетических методов исследования, цитогенетические методы позволяют получить дополнительную информацию, ценную для понимания филогении близких видов и филогеографии, а в некоторых случаях она предоставляет основополагающие сведения для идентификации форм/стадий жизненного цикла организмов (Klochkova et al., 2017). В.А. Лухтанов и В.Г. Кузнецова в своей работе писали, что «... используя в систематике и филогенетике молекулярные, цитогенетические и морфологические структуры, мы не только увеличиваем число признаков, но и вовлекаем в исследование принципиально разные методологические подходы» (Лухтанов, Кузнецова, 2009, С. 433).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Сбор водорослей для исследований

Для проведения диссертационных исследований автор использовала образцы алариевых водорослей, собранные ею в Авачинском заливе в период с 2011 по 2017 гг. (рис. 2.1–2.2). Взрослые спорофиты, традиционно определяемые отечественными альгологами как *Alaria angusta* и *A. marginata* собирали в бух. Сероглазка, у северного входного мыса Маячный в Авачинской губе и в бухте Малая Лагерная в горле Авачинской губы (рис. 2.2). Растения *Alaria paradisea* были собраны автором в августе 2015 г. у охотоморской стороны о. Уруп (45°51,3 N; 149°46,1 E) (рис. 2.3) во время работы Курильско-Командорской экспедиции Тихоокеанского института биоорганической химии им. Елякова, проводившейся на научно-исследовательском судне «Академик Опарин». Референсный образец *A. esculenta* был собран Т.А. Клочковой в 2009 г. в Нью-Олесунне (Конгс-фьорд, о. Свальбард, архипелаг Шпицберген). Высушенные в силикагеле образцы водорослей и гербарный материал хранятся в гербарном фонде Камчатского государственного технического университета (KamchatGTU) и в Национальном университете Конджу (Республика Корея) (KNU).

Для определения гидрологических показателей в районах сбора водорослей – температуры поверхностного слоя (Т, °С), растворенного кислорода (DO, мг/л) и солёности (Sal, ‰) использовали портативный профилограф параметров среды RINKO-AAQ171 (JFE Advantech Co, Япония) и данные спутникового мониторинга (MyOcean: <http://marine.copernicus.eu/>).

2.2. Изучение водорослей из гербарных коллекций

Для поиска типовых и других автентичных образцов исследуемых видов *A. angusta*, *A. marginata* и *A. paradisea* использовали альгологический материал гербарных фондов Уппсальского университета (UPS), Шведского музея

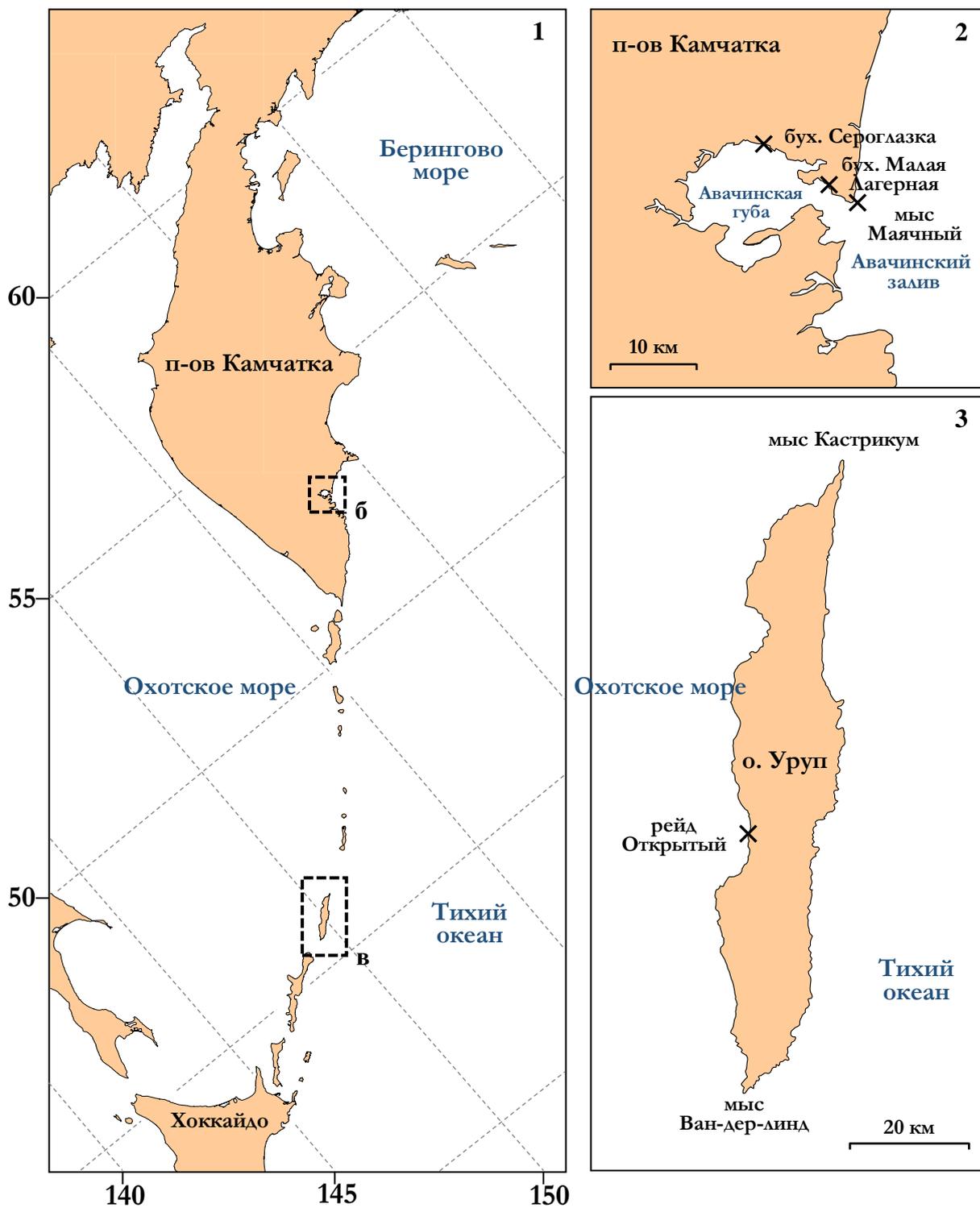


Рисунок 2 – Районы сбора алариевых водорослей у берегов восточной Камчатки и Средних Курил. 1 – общая карта-схема района. 2 – места отбора проб *Alaria angusta* и *A. marginata* в Авачинском заливе. 3 – район сбора *Alaria paradisea* о. Уруп.

Гербарные образцы видов *Alaria*, используемые в нашей работе

Вид	Акроним	Место сбора	Дата сбора	Коллектор	Место хранения образца, акроним фонда
<i>A. angusta</i> (6 образцов)	–	о. Беринга, Командорские острова	14– 19.08.1879	Ф.Р. Челльман	Уппсальский университет (UPS)
<i>A. marginata</i> (1 образец)	S- A18207	Форт-Росс, Калифорния	неизвестна	И.Г. Вознесенский	Шведский музей естествознания (S)
<i>A. marginata</i> (1 образец)	–	Форт-Росс, Калифорния	неизвестна	И.Г. Вознесенский	Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE)
<i>A. marginata</i> (2 образца)	–	о. Уналашка, Алеутские острова	1826–1829	А.К. Мертенс	Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE)
<i>A. marginata</i> (5 образцов)	–	о. Ванкувер, Британская Колумбия	июль 1901	К. Йендо	Университет Хоккайдо (SAP)
<i>P. paradiseum</i> f. <i>typicum</i> (1 образец)	–	о. Атласова, Курильские острова	10.08.1926	Н. Ito, G. Komori	Университет Хоккайдо (SAP)
<i>P. paradiseum</i> f. <i>typicum</i> (1 образец)	–	о. Атласова, Курильские острова	01.08.1930	М. Нагаи	Университет Хоккайдо (SAP)
<i>P. paradiseum</i> f. <i>fasciculatum</i> (1 образец)	–	о. Уруп, Курильские острова	август 1933	Е. Ямада	Университет Хоккайдо (SAP)
<i>P. paradiseum</i> (2 образца)	–	о. Уруп, Курильские острова	2– 5.08.1967	неизвестен	Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE)
<i>P. paradiseum</i> (1 образец)	–	о. Уруп, Курильские острова	4.07.1971	И.С. Гусарова	Камчатский государственный технический университет (KamchatGTU)
<i>P. paradiseum</i> (1 образец)	–	о. Уруп, Курильские острова	16.08.2015	А.В. Климова	Камчатский государственный технический университет (KamchatGTU)

естествознания (S), Университета Хоккайдо (SAP), Ботанического института им. К.В. Комарова (LE) и Камчатского государственного технического университета (KamchatGTU). Ниже представлены сведения об образцах алариевых водорослей, используемых при проведении ревизии и пересмотре информации о типовых образцах исследуемых видов (табл. 2).

2.3. Культивирование водорослей

Сбор водорослей проводили на литорали и в верхнем горизонте сублиторали во время сизигийных отливов или из свежих штормовых выбросов. Образцы упаковывали в непрозрачные полиэтиленовые мешки и доставляли в лабораторию. Количественная выборка для видов *A. angusta* и *A. marginata* составляла по 20–30 растений. Одновременно со сбором водорослей, отбирали морскую воду для приготовления питательной среды. Камеральную обработку материала проводили на базе ФГБОУ ВО «Камчатского государственного технического университета» в лаборатории «Морские биоресурсы». У каждого собранного растения измеряли линейные размеры и общую массу, определяли состояние фертильности и возраст. Часть материала использовали для анатомического исследования, отдельно отбирали спорофиллы для выделения зооспор и получения лабораторных культур.

Для получения лабораторных культур гаметофитов у свежесобранных образцов аларий отделяли спорофиллы со зрелой спороносной тканью и подвергали их стимуляции для массового выхода зооспор. Предварительно спорофиллы обрабатывали в слабом растворе йода (3%) в течение 30 сек., затем их трижды промывали в профильтрованной автоклавированной воде. Затем их подсушивали на открытом воздухе при комнатной температуре до отсутствия влаги на поверхности, заворачивали в фильтровальную бумагу, укладывали в черные полиэтиленовые пакеты и помещали в холодильную камеру при температуре 7–8°C на 14–20 ч. Затем их переносили в стеклянные емкости со стерильной морской водой и выдерживали при естественном освещении и температуре 17–20°C не более двух часов. Полученную суспензию зооспор

фильтровали через двойной слой марли и стерильной пипеткой переносили в чашки Петри диаметром 3 см и высотой 1,5 см, заполненные культуральной средой IMR (Klochko et al., 2006).

Для подготовки IMR-среды использовали автоклавированную морскую воду с соленостью 26–30‰, взятую в районе сбора алариевых водорослей. В 1 л этой воды было добавлено 50 мг NaNO_3 , 6,8 мг KH_2PO_4 , 1 мл раствора микроэлементов (1 г FeCl_3 , 0,62 г MnSO_4 , 0,25 г ZnSO_4 , 0,13 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4 мг $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 4 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 6 г EDTA и 1 л ddH_2O) и 0,1 мл раствора витаминов (10 мг тиамин, 0,1 мг цианокабаламина, 0,1 мг биотин и 100 мл ddH_2O). Для подавления развития диатомовых водорослей и бактерий в культурах аларий к IMR-среде добавляли растворы GeO_2 (1 мг/л) и ампициллина (2 мг/л), соответственно.

Для изучения регулирующего воздействия температуры и света на развитие водорослей культуры содержали при двух режимах. В инкубаторе № 1 поддерживали температуру 6–7°C для *A. angusta* и 8,5°C для *A. marginata* и использовали естественное освещение. В данном случае гаметофиты выращивали в холодильной камере Froster RV PRO 400 G со стеклянной передней дверцей, хорошо пропускающей дневной свет. Световой режим в камере в течение суток не отличался от такового в естественной среде. В инкубаторе № 2 при постоянной температуре 10°C, люминесцентном освещении 30 $\mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (холодный белый свет) и фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота содержали гаметофиты, перенесенные из шкафа № 1 в возрасте 1 мес. В этом случае за развитием гаметофитов наблюдали не с момента развития эмбриоспор, а со стадии появления стерильных гаметофитов. Для продолжения наблюдений за ростом появившихся в культурах спорофитов образцы длиной 2–3 мм из чашек Петри переносили в стеклянные колбы объемом 5 л. Культуральную среду IMR в колбах подвергали аэрации и перемешивали, а также меняли один раз в 10 сут. Культуры водорослей просматривали ежедневно.

2.4. Выделение ДНК водорослей, реакция ПЦР, секвенирование и анализ сиквенсов

Выделение ДНК проводили согласно протоколу фирмы-производителя набора реактивов G-spin™ Total DNA Extraction Mini Kit (Intron Biotech, Seoul, Korea). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали праймеры, приведенные в таблице 3. Были заданы следующие параметры программы: первичная денатурация при 95°C в течение 4 мин → 35 циклов амплификации (денатурация при 94°C в течение 30 сек., отжиг праймера при 55°C в течение 30 сек. и элонгация при 72°C в течение 1,5 мин → достройка цепей при 72°C в течение 10 мин. Секвенирование осуществляли в коммерческой компании Cosmogenetech (г. Тэджон, Республика Корея).

Таблица 3

Праймеры, используемые для проведения ПЦР

Участок ДНК/ген	Название праймера	Последовательность (5'→3')	Источник
ITS1	LB1	CGCGAGTCATCAGCTCGCATT	Yoon et al., 2001
	BC2	CGAGTGGTGTCAACAGACACTCC	Saunders, Druehl, 1993
ITS2	YB1	TTGCAGAATCCAGTGAATCATC	Yoon et al., 2001
	LB2	AGCTTCACTCGCCGTACTIONG	
Rubisco	RS1	GCCAAATGCACCAACTTCTT	Yoon, Boo, 1999
	RS2	AGACCCCATTAATTCCC	
	KR3	ATTGTGGTCAAATGCACCAC	Lane et al., 2006
	KR4	CTTGTTAACTCTCATCACTA	
COI	GazF2	CCAACCAAYAAAGATATWGGTAC	Lane et al., 2006
	GazR2	GGATGACCAAARAACCAAAA	

Поиск гомологичных сиквенсов осуществляли с помощью программы Geneious (ver. 10.2.3, Biomatters, Auckland), имеющей автоматическое подключение к Генбанку NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Полученные нами новые нуклеотидные последовательности и сиквенсы из NCBI автоматически

выравнивали в программе Geneious, используя алгоритм MUSCLE Alignment, после чего автоматическое выравнивание проверяли вручную. Молекулярно-филогенетические деревья выстраивали методом байесовского вывода (Bayesian analysis; MrBayes 3.2.2; Huelsenbeck, Ronquist, 2001) с использованием следующих параметров: модель замещения GTR, 3,000,000 поколений, количество генераций (burn-in) – 300,000 поколений. Анализ максимального правдоподобия (Maximum likelihood) проводили в программе RAxML 7.2.8 (Stamatakis, 2014) с использованием модели замещения GTR+gamma. Статистический бутстрэп (bootstrap support values, %) вычисляли на основании 500 повторов. Новые сиквенсы для аларий были зарегистрированы в базе данных NCBI.

2.5. Флуоресцентное окрашивание гаметофитов

Митохондрии и ядра в клетках гаметофитов окрашивали с помощью флуоресцентных красителей MitoTracker и Hoechst 33342 (Bio Rad), соответственно, внутриклеточные липиды – флуорохром Nile Red (Nile Blue A Oxazone, Sigma), растворенным в ацетоне в концентрации 3 ммоль. Для этого гаметофиты погружали на 10–15 мин в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл с растворами красителей, приготовленные по стандартным методикам фирм-производителей, а затем переносили их в чистую среду IMR и тщательно отмывали от растворов во избежание артефактов при исследовании. Окрашенные препараты просматривали под флуоресцентным микроскопом Olympus BX50 с использованием синего фильтра.

Для изучения специфических различий поверхности репродуктивных клеток и гаметофитов аларий использовали коммерческий набор флуоресцеин изотиоционат (ФИТЦ)-меченных лектинов Fluorescent Lectin Kit-2100 (Vector laboratories, Burlingame, CA, USA) (табл. 4). ФИТЦ-меченные лектины разбавляли в фосфатном буфере (0,2 г KCl, 1,44 г Na₂HPO₄, 0,24 г KH₂PO₄ и 1 л ddH₂O) в концентрации 10 мкг/мл.

Используемые в работе флуоресцеин-изотиоцианат (ФИТЦ) меченные лектины и специфичные им моносахариды

Лектины	Субстрат
Concanavalin A (ConA)	α -D-glucose, α -D-mannose
<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin (DBA)	α -N-acetyl-galactosamine
Peanut agglutinin (PNA)	β -D-galactose, D-galactose- β -galactosamine
<i>Ricinus communis</i> agglutinin (RCA)	β -D-galactose
Soybean agglutinin (SBA)	N-acetyl-galactosamine
<i>Ulex europaeus</i> agglutinin (UEA)	L-fucose
Wheat germ agglutinin (WGA)	N-acetyl-glucosamine

2.6. Окрашивание хромосом

Для проведения кариологических исследований использовали зооспоры алариевых водорослей или их гаметофиты. В качестве красителя применяли раствор ацетокармина в уксусной кислоте (кармин 2 г, уксусная кислота 45 мл, ddH₂O 50 мл) (Kim et al., 2008). Во время подготовки раствора уксусную кислоту нагревали до температуры близкой к кипению для полного растворения кармина, затем доливали дистиллированную воду и процеживали полученный раствор через мембранный фильтр. Свежий водорослевый материал без предварительной фиксации помещали на предметное стекло в каплю красителя, накрывали его покровным стеклом и с силой придавливали таким образом, чтобы произошел разрыв клеточной стенки, и лопнула оболочка ядра. Подготовленный таким образом препарат нагревали над паром в течение 2–3 минут до полного высыхания ацетокармина. Временные давленные препараты использовали для подсчета хромосомных чисел. С помощью фокусирования под биологическим микроскопом Olympus BX53, оснащенного цветной фотокамерой DP73, получали серию фотографий ядер с окрашенными хромосомами на разной глубине резкости одной и той же клетки. Затем каждую хромосому маркировали, множественные

изображения накладывали друг на друга, получая, таким образом, общую картину количества хромосом в клетке. Определение числа хромосом для каждого изученного вида основано на анализе серий фотографий не менее 10 митотических ядер, находящихся в стадии профазы или ранней метафазы.

2.7. Микроскопирование

Для изучения анатомии растений выполнялись поперечные срезы разных участках слоевища водорослей. Для получения тонких срезов 6–10 мкм толщиной использовали криостат-микротом Starlet 2212 (Bright, U.K.). Гистологические препараты изучали с помощью микроскопа Olympus BX53, оснащенный фотокамерой Olympus DP73 (Olympus, Japan).

Наблюдения за протеканием микроскопических стадий развития проводили с помощью обычного и инвертированного микроскопов Olympus BX53 и Olympus IX70. Для фото- и видео-документирования изменений в развитии гаметофитной стадии во времени использовали цифровую фотокамеру Olympus DP73 с программным обеспечением Cell Sens Standard (Olympus, Japan).

ГЛАВА 3. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ALARIA* ПРИКАМЧАТСКИХ ВОД

В данной главе представлена краткая биологическая характеристика форм вида *Alaria esculenta*, распространенных во флоре восточной Камчатки: *f. angustifolia* и *f. latifolia*. Все описания составлены основываясь на анализе литературных источников (Петров, 1973; Клочкова, Березовская, 1997, 2001; Клочкова и др., 2009) и по собственным наблюдениям автора. Полученные автором данные по распространению, морфологии и анатомии обсуждаемых видов водорослей были опубликованы в следующих работах: Климова, Ермакова (2013); Климова (2013а, 2013б, 2013в, 2014); Климова, Клочкова (2014а); Лопатина и др. (2017); Климова и др. (2017), Klimova et al. (2018). Отметим, что в работах отечественных альгологов формы *A. esculenta* – *f. angustifolia* и *f. latifolia*, указывались как *A. angusta* и *A. marginata*, соответственно. Дополнительно приводится информация по редкому Курильскому эндемику *Alaria paradisea*, также включенному в наше исследование, поскольку это необходимо для понимания объема рода *Alaria* в целом. Имеющиеся сведения по нему сводятся только к первоописанию, опубликованному в начале прошлого века, и затрагивают исключительно морфологию. Мы впервые приводим расширенное описание анатомии, морфологии и современного распространения *A. paradisea*, основываясь на имеющемся гербарном материале и современных сборах этой водоросли с о. Уруп (Курильские острова).

3.1. *Alaria esculenta f. angustifolia* Postels et Ruprecht, 1840

Морфология. Растения старшей возрастной группы (2, 2+) имеют слоевище 1–2,5 (4) м длины, 5–25 (40) см ширины и среднюю массу 160 г (рис. 3). Стволик длиной 4–23 (34) см. Органы прикрепления отходят от стволика плотным ризоидальным пучком (рис. 3.2–3.6). Отходящая от жилки пластина тонкая у основания, в средней части кожистая, к ее вершине часто с поперечными надрывами



Рисунок 3 – *Alaria esculenta* f. *angustifolia* у берегов восточной Камчатки. 1 – типичное местообитание вида у открытого океанической волне берега близ скалистых мысов и непропусков. 2, 5 – ювенильные растения со стерильными спорофиллами. 3, 6 – растения 2-го года жизни со зрелыми спорофиллами. 4 – внешний вид взрослого растения, собранного у мыса Маячный. Масштаб: 4 – 50 см, 5, 6 – 10 см.

или вовсе отсутствует из-за разрушительного действия океанических волн (рис. 3.4). Ее активный рост происходит в ранневесеннее время. По всей поверхности пластины в ее подкоровом слое развиваются glandулярные клетки овальной формы.

Спорофиллы располагаются более или менее упорядоченно с каждой стороны рахиса, у взрослых растений *A. esculenta* f. *angustifolia* они отходят компактно, иногда в два ряда с каждой его стороны (рис. 2.6, 3.3–3.4), у ювенильных особей они могут быть расставлены (рис. 3.2). Рахис уплощенный и хорошо просматривается у представителей старшей возрастной группы, у ювенильных растений он, как правило, не отличим от стволика. Новые спорофиллы появляются в верхней части пучка. После созревания спороносной ткани и спороношения нижние спорофиллы со временем обтрепываются и затем обрываются, оставляя на стволике характерные рубцы.

Спорофиллы имеют линейную или удлинненно-ланцетовидную форму, как правило, без черешка, их основание утолщенное, остро-клиновидное, верхушка может быть заостренной или тупой (рис. 3.2–3.6). В прибойных местах они часто скручены (рис. 3.4, 3.6). Растут в течение всего периода вегетации. Спороносная ткань развивается по всей поверхности спорофиллов, иногда их апикальная часть остается стерильной. Спороношение данного вида, судя по нашим данным, сильно растянуто во времени. На спорофиллах растений 1-го года жизни и старше присутствуют зрелые сорусы, независимо от времени года.

Распространение. В Авачинском заливе *A. esculenta* f. *angustifolia* имеет очень широкое распространение и является самым массовым представителем семейства Alariaceae. Предпочитает селиться у скалистых мысов и непропусков в зонах со слабым опреснением, средней и высокой гидродинамической активностью волн. Данный вид встречается здесь достаточно часто, образует чистые (рис. 3.1) или совместные с *Laminaria longipes*, *Saccharina bongardiana* и *Arthrothamnus bifidus* заросли на глубинах 0,5–3 м, глубже вытесняется другими видами, преимущественно представителями семейств Laminariaceae и Agaraceae. В настоящее время *A. esculenta* f. *angustifolia* резко сократила свое присутствие в

Авачинской губе и встречается только в ее горле. У нижней границы распространения на 1 м² обычно встречается 2–5 экз., у верхней – до 30 (42) экз., включая ювенильные растения. Средняя зарегистрированная биомасса формы вида может достигать 0,8 кг/м². В Авачинском заливе *A. esculenta* f. *angustifolia* вегетирует 3–4 года.

Условия произрастания. Температура поверхностного слоя воды прибрежной акватории Авачинского залива в местах произрастания *A. esculenta* f. *angustifolia* за период с 01.04.2017 г. по 18.10.2017 г. изменялась в пределах от +4,0 до +13,5°C (рис. 4). Активный прогрев акватории начался в середине июля, максимальное значение температуры – +13,5°C, зарегистрировано в начале августа. После чего в середине октября происходило осеннее выхолаживание вод Авачинского залива до +8,0°C.

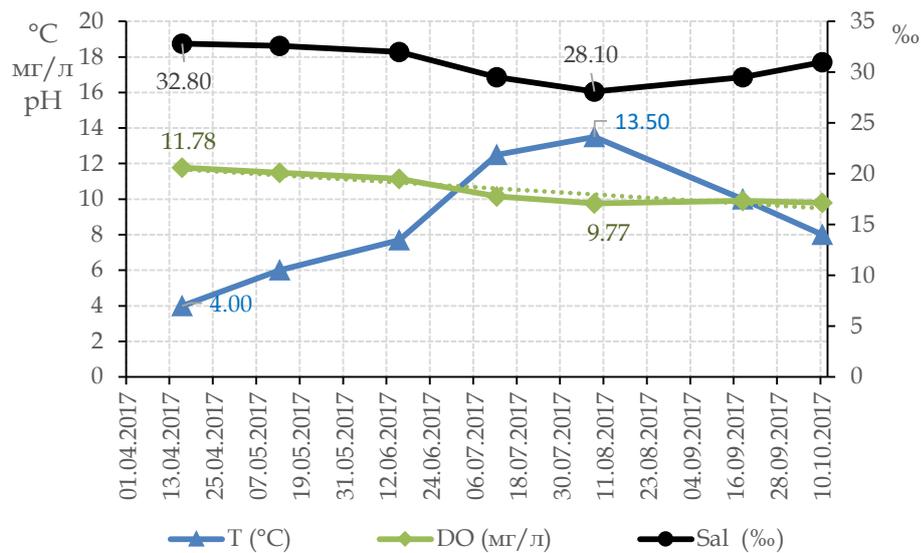


Рисунок 4 – Гидрологические показатели морской воды в местах произрастания *Alaria esculenta* f. *angustifolia* в Авачинском заливе (для каждого показателя приведены максимальное и минимальное значения).

Насыщение поверхностного слоя кислородом изменялось с 11,14 мг/л в июне до 9,77 мг/л в конце сентября (рис. 4). Осенью концентрация растворенного кислорода не превышала значения 9,9 мг/л. Солёность поверхностного слоя воды в Авачинском заливе изменялась в пределах 28,1–33,0‰ (рис. 4). Солёность

морской воды у входа в залив колебалась в пределах 29–32‰, в открытой части диапазон был 31–32‰

3.2. *Alaria esculenta* f. *latifolia* Postels et Ruprecht, 1840

Морфология. Общая длина растений в Авачинском заливе может достигать 1,5–3,3 м, ширина – 10–25 (50) см (рис. 5.2). Стволик у этого вида достаточно длинный, до 50 см длиной, вальковатый, в месте развития спорофиллов уплощенный. У молодых растений в области развития спорофиллов рахис не отличим от стволика (рис. 5.3). Ризоиды жесткие, отходят по всей окружности стволика. Активный рост слоевища происходит в ранневесеннее время, рост спорофиллов в длину и ширину продолжается в течение всего лета. У растений старшей возрастной группы верхняя часть пластины сильно рассечена (рис. 5.2). Гландулярные клетки, как и у выше описанной формы вида *A. esculenta* f. *angustifolia* встречаются в пластинчатой части слоевища.

Спорофиллы у *A. esculenta* f. *latifolia* располагаются, как правило, равномерно, с двух сторон стволика на некотором расстоянии друг от друга (рис 5.2, 5.4). В местах с умеренным прибоем они сближены, образуют плотный пучок (рис. 5.2). Спорофиллы имеет несколько иную, чем у *A. esculenta* f. *angustifolia* форму. Они овальные, ланцетовидные, реже линейные, их толщина не изменяется по всей длине, имеют выраженный черешок (рис. 5.3–5.4). Основание спорофиллов неутолщенное, округлое или клиновидное. Первые спорофиллы формируются у ювенильных растений 2-го месяца жизни и старше (рис. 5.3). Спороносная ткань в период полного созревания развивается почти по всей поверхности спорофилла, исключая узкую краевую кайму и небольшой участок его вершины. В зависимости от условий среды спорофиллы могут достигать 35 см длины и 25 см ширины; в таких случаях спороносная ткань располагается только у их основания (рис. 5.5). Растения с подобными гигантскими спорофиллами характерны для участков побережья, испытывающих постоянное антропогенное воздействие.



Рисунок 5 – *Alaria esculenta* f. *latifolia* у берегов восточной Камчатки. 1 – типичное местообитание вида в закрытых бухтах или у подветренной стороны мысов. 2 – взрослое растение со зрелыми спорофиллами 3-го года жизни из бухты Шлюпочная. 3 – ювенильные растения 1-го года жизни, у некоторых уже сформировались спорофиллы. 4 – пучок спорофиллов у растения 2-го года жизни. 5 – зрелые спорофиллы растения, собранного в бухте Сероглазка. Масштаб: 2 – 30 см, 3–5 – 10 см.

Морфологически *A. esculenta* f. *latifolia* наиболее близка к предыдущей форме вида – *A. esculenta* f. *angustifolia*, однако, отличается от нее описанными выше признаками. Кроме того, у данной формы вида пластина имеет наибольшую ширину в средней ее части. Процесс спороношения так же, как и у предыдущей формы вида *A. esculenta* f. *angustifolia*, сильно растянут во времени. В местах совместного произрастания обеих камчатских форм *A. esculenta* инфравидовая идентификация часто затруднительна.

Распространение. В Авачинском заливе *A. esculenta* f. *latifolia* распространена достаточно широко, селится предпочтительно в закрытых и полужакрытых бухтах с подветренной стороны мысов на глубинах 0–5 м. Во внутренней части Авачинской губы в условиях постоянного антропогенного загрязнения у некоторых растений наблюдаются чрезмерное развитие спорофиллов в ущерб основной пластине (рис. 5.5). В чистых местообитаниях вид формирует узкий пояс часто совместно с *Saccharina bongardiana*. Редко одиночные растения могут встретиться на глубинах – 5–6 м. Проективное покрытие в чистых зарослях не превышает 15–30%, максимальная плотность 14–16 экз./м², биомасса 4 кг/м².

Условия произрастания. Температура поверхностного слоя воды акватории Авачинской губы в местах произрастания *Alaria esculenta* f. *latifolia* во внутренней части Авачинской губы за период с 01.04.2017 г. по 18.10.2017 г. изменялась в пределах от +1,15 до +18,01°C (рис. 6). Активный прогрев акватории начался в последней декаде мая, максимальное значение температуры – +18,01°C, зарегистрировано в начале августа. После чего происходило осеннее выхолаживание вод Авачинской губы до +6,3 °C в середине октября.

Насыщение поверхностного слоя кислородом с начала исследований плавно снижалось с 12,49 мг/л в начале апреля до 8,15 мг/л в конце сентября (рис. 6). В октябре концентрация растворенного кислорода стала проявлять положительную динамику и к окончанию исследований достигла значения 10,02 мг/л. Максимальное значение этого показателя за указанный выше период было зарегистрировано нами 8.06.2017 г.

Солёность поверхностного слоя воды изменялась в широких пределах (рис. 6). В период паводков и речного половодья ее значение уменьшилось с 30,58 ‰ до минимальной отметки в 4,90 ‰. Среднее значение солёности воды в этот период продолжительностью 4 месяца (с конца мая по начало сентября) составило 9,50 ‰. В весенний и осенний период 2017 г. солёность воды не опускалась ниже 25 ‰.

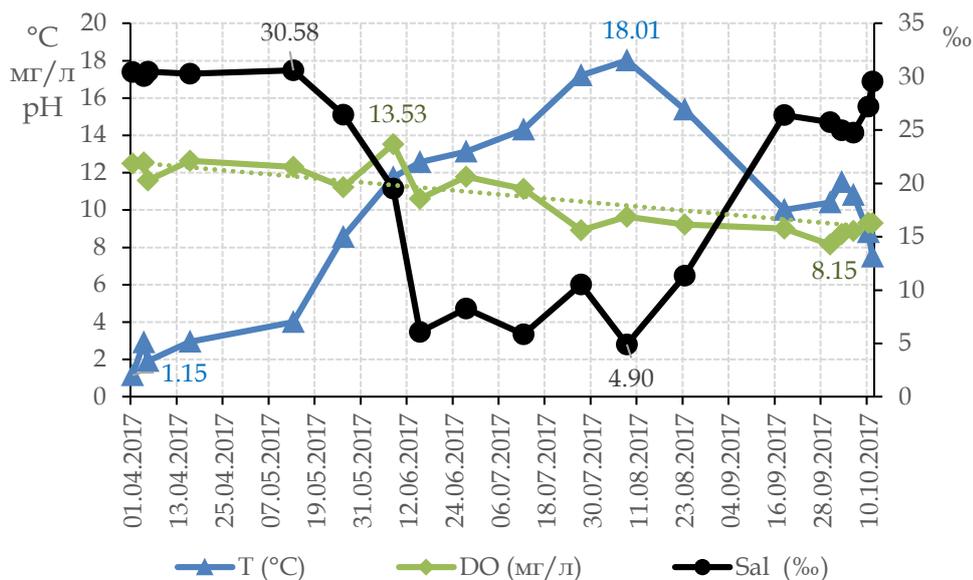


Рисунок 6 – Гидрологические показатели морской воды в местах произрастания *Alaria esculenta* f. *latifolia* во внутренней части Авачинской губы (для каждого показателя приведены максимальное и минимальное значения).

Подробные сведения об экологическом состоянии Авачинской губы и трансформации сообществ макрофитобентоса в указанном районе представлены в работах Н.Г. Ключковой и В.А. Березовской (2001), С.О. Очеретяна (2017) и Н.А. Лопатиной с соавторами (2017).

3.3. *Alaria paradisea* (Miyabe et Nagai) Widdowson, 1971

Морфология. Длина растений может достигать 1,2–4,0 м, ширина пластины – 6,5–27,5 см (рис. 7, табл. 5). Стволик цилиндрический, его максимальная длина 60 см, встречаются и короткочерешковые растения с минимальной длиной стволика 2,5 см. Рахис уплощенный, отчетливо выраженный, от 2 до 9 см в длину (рис. 7.3). Ризоиды жесткие, отходят по всей окружности стволика. У растений старшей возрастной группы верхняя часть пластины, как и у указанных выше видов, сильно рассечена (рис. 7.2).



Рисунок 7 – Растения *Alaria paradisea*, собранные с о. Уруп в 2015 г. Стрелкой обозначены β -спорофиллы. Пунктирной стрелкой отмечена область пластины со спороносной тканью. Масштаб: 1, 2 – 20 см, 3 – 10 см.

Ниже приведена сводная таблица с размерными характеристиками изученных образцов *A. paradisea*, собранных в разное время Х. Ито и Г. Комори, М. Нагаи, Е. Ямада, отечественными альгологами и лично автором диссертационной работы. В настоящее время гербарные образцы этой эндемичной аларии хранятся в Музее естественной истории Университета Хоккайдо (SAP), в гербарном фонде БИН РАН (LE) и Камчатском государственном техническом университете (КамчатГТУ) (табл. 5).

A. paradisea отличается от всех других представителей рода *Alaria* гетероморфностью развивающихся на рахисе спороносных листочков. Одни из них, без жилок, похожи на таковые у аларии, другие с хорошо выраженной центральной жилкой. Разными авторами эти морфологические образования назывались по-разному. Так, К. Миябе и М. Нагаи называли их «стерильными перышками» («sterile pinnae»; Miyabe, Nagai, 1933; Nagai, 1940), Е. Ямада – «листочками с жилкой» («leaflets with midrib»; Yamada, 1935), а Т.Б. Виддоусон – «стерильными боковыми ветвями» («sterile side branches»; Widdowson, 1971). Учитывая то, что на этих морфологических образованиях, как и на обычных

спорофиллах может развиваться спороносная ткань мы считаем, что они выполняют ту же репродуктивную функцию. В связи с этим обычные листочки без жилок мы называем ниже α -спорофиллы, а листочки с жилкой β -спорофиллами.

Таблица 5

Размерные характеристики (см) изученных образцов *Alaria paradisea*

Часть слоевища и ее характеристики	Сборщик материала и место хранения гербарных образцов (код гербарной коллекции)				
	А.В. Климова, KamchatGTU*	Отечественные альгологи, LE	Х. Ито и Г. Комори, SAP	М. Нагаи, SAP	Е. Ямада, SAP
Стволик					
длина	> 15,8	3,3–11,7	40–60	< 15	2,5–4
ширина	0,8–1	0,5–0,9	0,7–1,1	0,4–0,9	0,8–1,0
Рахис					
длина	3,2–4,5	2,7–3,6	3–9	2–3	–
Пластина					
длина	165,8–380	151,7–255,6	80–135	300–370	> 300
ширина	8,7–27,5	15–25,2	7–15	15–17,5	6,5–19
ширина жилки	0,8–1,5	1,1–1,3	0,4–0,5	0,6–1,4	1,0–1,2
Спорофиллы					
количество	14–22	> 14	32–72	32–36	20–30
длина (α)	5,2–28,5	9,4–26,1	8–14	9–22	7–12
ширина (α)	0,9–6	1,7–6,1	0,7–1,5	1,2–2,1	1,2–2,2
длина (β)	7,9–25	43,2–54,9	20–90	35–42	15–50
ширина (β)	0,6–3,5	2,7–5,4	1,5–3	1,0–1,2	1,3–2,8

* Примечание: образцы, использованные для ДНК-анализа.

Общее количество спорофиллов у *A. paradisea* варьирует от 14–72. α -спорофиллы овальной, ланцетовидной или неправильной формы с утолщенным клиновидным основанием, черешок часто слабо выражен (рис. 7). Их линейные размеры 5,2–28,5 см длины и 0,7–6,1 см ширины. β -спорофиллы длиннее и уже предыдущих: их длина может достигать 55 см при ширине от 0,6 до 5,4 см. Спороносная ткань развивается по всей поверхности α -спорофиллов, иногда их апикальная часть остается стерильной. Она также может образовываться в нижней части β -спорофиллов и основной пластины (рис. 7.2). Судить о

протяженности периода спороношения *A. paradisea* затруднительно, поскольку все известные образцы этого вида были собраны в течение июля-августа и имели развитую спороносную ткань.

Анатомия. С момента первоописания *P. paradiseum* (Miyabe, Nagai, 1932) у побережья Северных и Средних Курил были обнаружены еще несколько образцов этого вида (Yamada, 1935; Nagai, 1940; Петров, 1975). Отметим, что 7 из них были собраны более 80 лет назад и 4 более 40 лет назад, многие из них находятся в плохом состоянии, некоторые растения были засушены частями, соотнести которые между собой не представляется возможным. Это касается, в частности, образцов из коллекции БИНа (LE). Использовать их для изучения анатомического строения и молекулярно-генетического анализа невозможно из-за общей дегградации клеток и тканей. Поэтому для изучения внутреннего строения и молекулярно-генетического анализа использовали свежий материал, собранный автором диссертации в 2015 г. у о. Уруп (рис. 7).

Материнская пластина во взрослом состоянии достигает 300 мкм и более толщины, покрыта округло-многоугольными эпидермальными клетками 3,4–8,5 мкм в поперечнике (рис. 8.1). Меристодерма состоит из 2–3 слоев темно-окрашенных клеток. На поперечном срезе клетки корового слоя плотно сомкнуты, просматриваются только в жилке (рис. 8.2). Сердцевина образована гифоподобными нитями, хорошо развита и занимает большую часть внутреннего объема пластины (более 90% ее общей толщины).

β -спорофиллы стерильные или с сорусами спорангиев, достигают 145 мкм толщины в пластинчатой части и 1,1 мм в области жилки, покрыты эпидермальными клетками вытянуто-многоугольной формы 3,7–12,5 × 2,5–7,5 мкм (рис. 8.3). Меристодерма состоит из 2–3 слоев темно-бурых клеток, пронизана многочисленными слизистыми лакунами 12–30 мкм в поперечнике. Клетки расположенного под меристодермой корового слоя плотно сомкнуты. Сердцевина хорошо просматривается только в жилке, в пластинчатой части β -спорофиллов она отсутствует или составляет менее 5% от их общей толщины, представлена единичными разветвленными гифоподобными нитями (рис. 8.4).

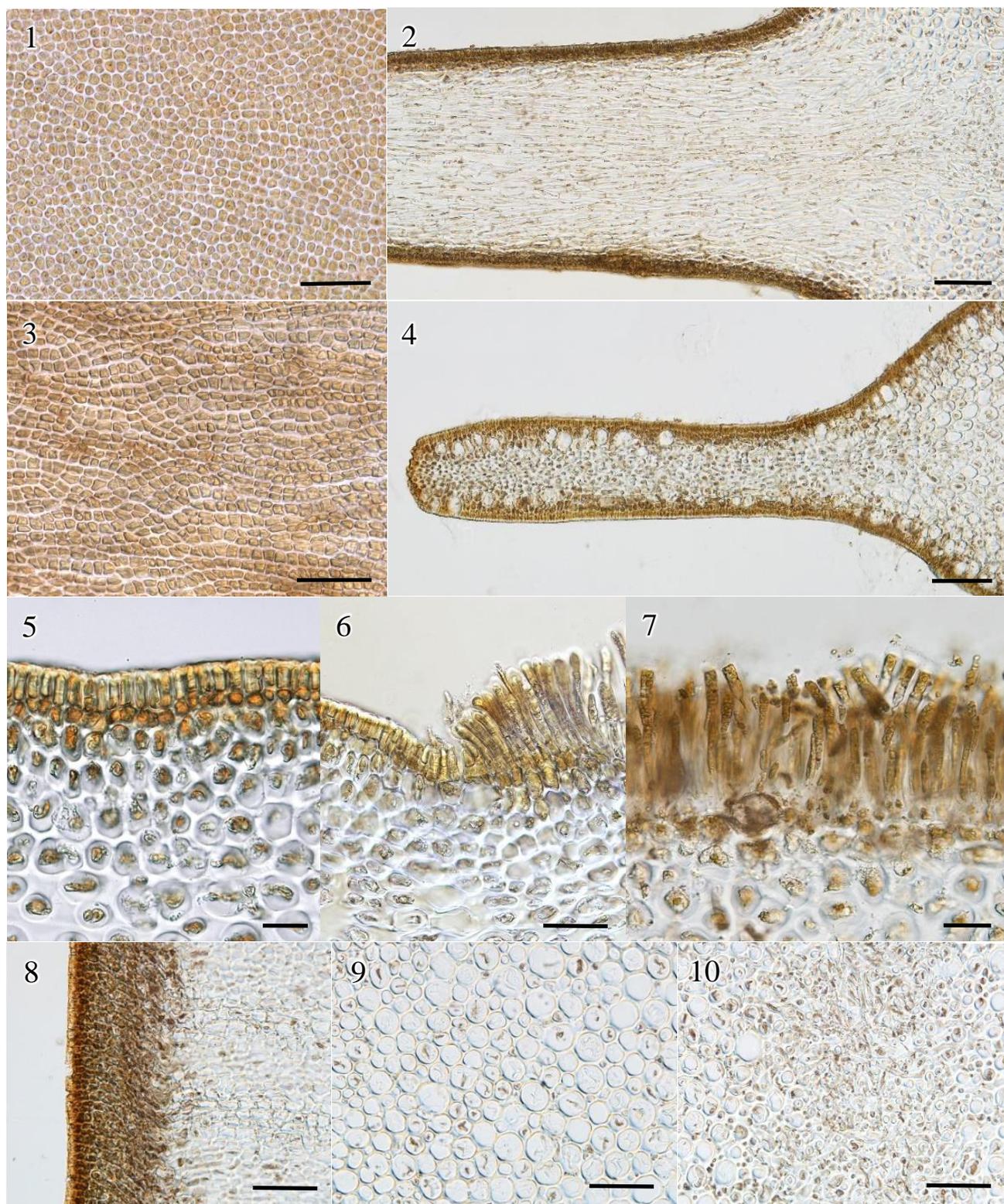


Рисунок 8 – Анатомическое строение образцов *Alaria paradisea*, собранных у берегов о. Уруп в 2015 г. 1 – многоугольные клетки эпидермы с поверхности пластины. 2 – зона стыка листовой части пластины и жилки. 3 – вытянуто-многоугольные клетки β -спорофиллов с поверхности. 4 – поперечный срез β -спорофиллов, в их пластинчатой части отсутствует сердцевина, видны многочисленные слизистые ходы. 5–7 – поперечные срезы α -спорофиллов. 5 – меристодерма α -спорофиллов, состоящая из 2-3 рядов клеток. 6 – область формирования споронной ткани. 7 – зрелая споронная ткань, состоящая из спорангиев и клеток парафиз. 8–10 – поперечные срезы стволика.

Продолжение подписи к рисунку 8.

8 – меристодерма стволика, состоящая из 8–9 рядов плотно сомкнутых клеток и наружная кора. 9 – клетки внутренней коры. 10 – гифоподобные нити сердцевины. Масштаб: 1, 3, 6, 7 – 40 мкм, 2, 4, 8–10 – 100 мкм, 5 – 20 мкм.

α -спорофиллы образованы плотно сомкнутыми клетками. Меристодерма состоит из 2–3 слоев клеток (рис. 8.5), кора – из 6 и более слоев клеток, сердцевина хорошо развита, составляет 30–45% от общей толщины α -спорофиллов. Толщина зрелой спороносной ткани в среднем составляет 125 мкм, редко достигает 150 мкм. Одноклеточные парафизы 100–130 мкм длины, спорангии – 67–75 мкм (рис. 8.6, 8.7). Слизистые образования на вершине парафиз не превышают 20 мкм в высоту, их ширина всегда больше длины.

Стволик имеет типичное для ламинариевых водорослей анатомическое строение. В нем отчетливо выделяются меристодерма, внутренняя и внешняя кора и сердцевина. Меристодерма состоит из 8–9 слоев клеток бурого цвета, ее общая толщина достигает 210 мкм (рис. 8.8), слизистые ходы и лакуны здесь не обнаружены. Внешняя кора 500–600 мкм толщины, состоит из 15–20 слоев клеток (рис. 8.8). Внутренняя кора занимает основную часть стволика и составляет до 70% от его общей толщины (рис. 8.9). Сердцевина представляет собой компактный пучок тонких нитей, 3.6–10 мкм в поперечнике (рис. 8.10).

Распространение. Вид *A. paradisea* распространен у Средних и Северных Курил, произрастает на скалистых участках литорали на глубинах до 2 м и в сублиторальной кайме совместно с другими представителями рода *Alaria*. Судя по существующим гербарным образцам и описаниям авторов вида ареал его распространения включает острова Уруп, Симушир, Ушишир, Харимкотан, Оннекотан и Атласова (рис. 9). Что касается современного распространения *A. paradisea*, отметим, что в период 1993–2001 гг. у островов Атласова, Шумшу и Парамушир сотрудниками СахНИРО несколько раз проводились комплексные гидробиологические исследования. В них особое внимание уделялась изучению запасов и распределению ламинариевых водорослей (Огородников, 2007). *A. paradisea* в ходе этих исследований не встретилась. Исчезновение вида у

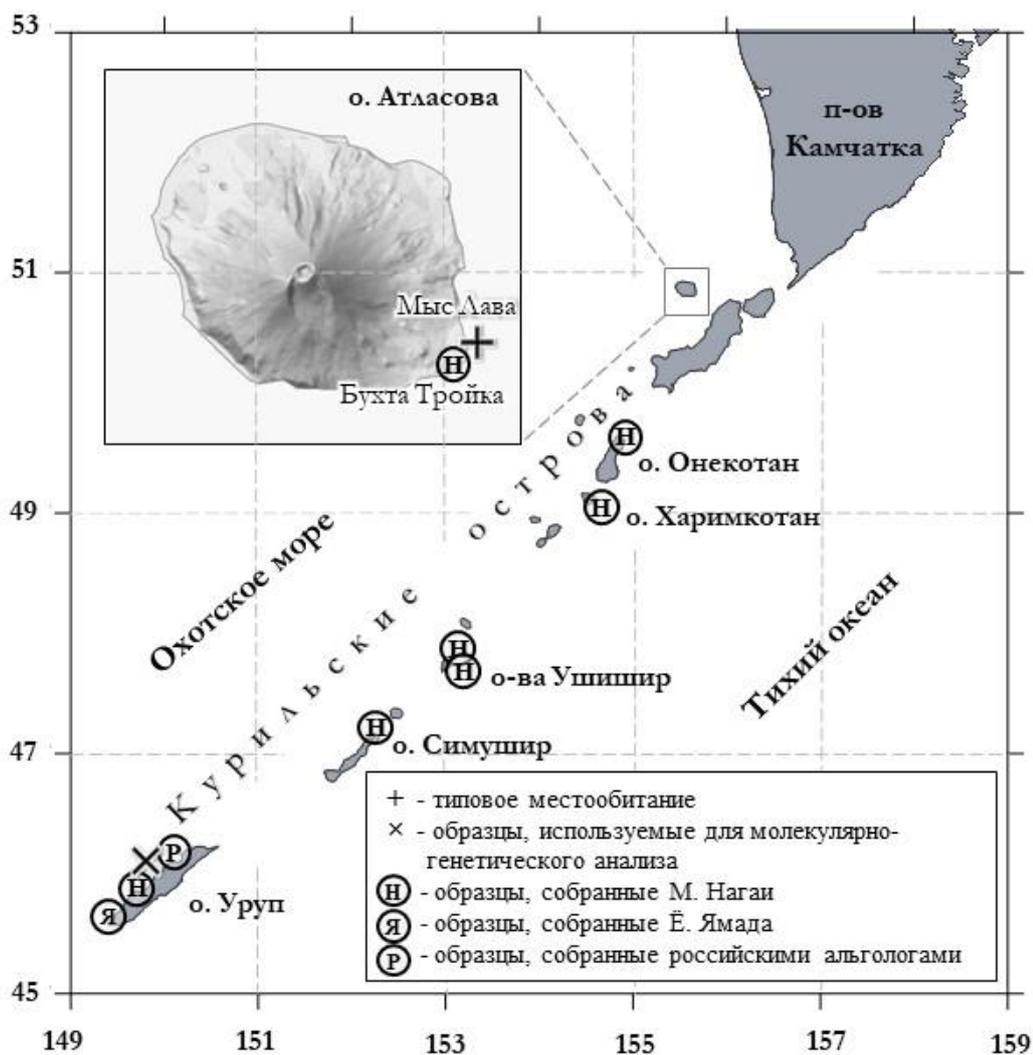


Рисунок 9 – Распространение *Alaria paradisea* у Средних и Северных Курил. + – типовое местообитание. × – образцы, используемые для анатомического и молекулярно-генетического изучения.

о. Атласова может быть связано с высокой сейсмической активностью расположенного на нем вулкана Алаид. Его значительное влияние на наземную флору острова отмечали С.Ю. Гришин с соавторами (2009). *A. paradisea* указывалась ранее М. Нагаи (1940) в бух. Броутона у о. Симушир. В августе 2015 г. автор настоящей работы в ходе проведения там альгофлористических сборов на литорали и в сублиторальной кайме ее не обнаружила. С одной стороны, это можно объяснить ее редкой встречаемостью, с другой может свидетельствовать о сокращении за последние десятилетия ареала вида. Крайне редкое и единичное нахождение *A. paradisea* в естественной среде и ограниченный ареал вида позволяет рекомендовать его для включения в региональную Красную книгу Сахалинской области с категорией статуса редкости – редкие узкоареальные эндемики (3а).

ГЛАВА 4. ГЕНОТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ALARIA* ПРИКАМЧАТСКИХ ВОД

4.1. Ретроспективный анализ состояния изученности камчатских алариевых водорослей

История изучения алариевых водорослей дальневосточных морей берет начало с эпохи освоения прибрежных восточных окраин Российской империи во время Второй Камчатской экспедиции В. Беринга. Первые упоминания о нахождении алариевых водорослей у берегов Камчатки можно встретить в работе С.Г. Гмелина (1768), где наряду с другими ламинариевыми он указал два вида аларий – как *Fucus fimbriatus* Gmelin (= *Alaria esculenta* (Linnaeus) Greville f. *latifolia* Postels et Ruprecht) и *Fucus polyphyllus* Gmelin (= *Alaria esculenta* (Linnaeus) Greville f. *pinnatifida* Postels et Ruprecht), по материалам Г.В. Стеллера, собранным им в ходе «Второй Камчатской экспедиции» (1740–1741 гг.) (табл. 6).

Активное изучение морской флоры мирового океана, начатое в конце XVIII в. и, как следствие, нахождение и описание новых родов и видов ламинариевых привело к тому, что алариевые водоросли в публикациях XVIII–XIX вв. упоминались под разными родовыми названиями, поскольку у ученых того времени не всегда имелась возможность сопоставлять свои данные и находки. Так, разными авторами алариевые водоросли указывались под следующими именами: *Fucus* Linnaeus (1753), *Ceramium* Gaertner ex Stackhouse (Stackhouse, 1797), *Laminaria* Lamouroux (1813), *Agarum* Bory (1826), *Orgya* Stackhouse (1816), *Musaefolia* Stackhouse (1809), *Podopteris* de la Pylaie (1830) и *Phasganon* Ruprecht (1850). Современное приоритетное родовое название *Alaria* было выделено английским ботаником Р.К. Гревиллем (Greville, 1830). В настоящее время оба указанных Г.В. Стеллером вида аларий относят к *A. esculenta*, а их автентичные гербарные образцы (т.е. первые сборы Г.В. Стеллера) утеряны.

Спустя почти 90 лет в начале XIX в. участниками кругосветной экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829 гг.) были собраны образцы аларий из

Авачинской губы. В этой экспедиции участвовали два шлюпа – «Сенявин» и «Моллер». На первом под командованием Ф.П. Литке находились натуралисты К.Х. Мертенс (ботаник), А. Постельс (геолог) и Ф.К. Китлиц (орнитолог). Во главе шлюпа «Моллер» был М.Н. Станюкович и единственным естествоиспытателем на нем был Г. Кастальский (Ширина, 1991). Участники экспедиции собрали обширный материал в северной части Тихого океана, при этом основными районами сбора морских водорослей послужили острова Баранова и Уналашка на Аляске и в большей мере Авачинская губа у восточной Камчатки (Postels, Ruprecht, 1840). Документально известно, что каждый из шлюпов этой экспедиции трижды посещал Авачинскую губу в течение 1827–1828 гг.

В настоящее время гербарная коллекция водорослей, собранных в кругосветной экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича хранится в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова (код коллекции: LE) и Уппсальском университете (код коллекции: UPS). Гербарные образцы из этой коллекции являются, вероятно, самыми ранними из сохранившихся к настоящему времени сборов представителей рода *Alaria*, собранных у берегов Камчатки. В результате ее научной обработки А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом (Postels, Ruprecht, 1840) был издан цветной иллюстрированный атлас морских растений северной части Тихого океана, в котором они указали три вида рода *Alaria sensu lato*: *A. fistulosa* (алария дудчатая), *A. esculenta* (алария съедобная) и *A. marginata* (алария отороченная). Кроме того, А. Постельс и Ф.И. Рупрехт (Postels, Ruprecht, 1840) выделили три «разности» *A. esculenta* для Тихоокеанского региона – α *angustifolia* (узколистная), β *latifolia* (широколистная) и γ *pinnatifida* (перистораздельная) (табл. 6). Как будет показано в главах 4 (разделы 4.2–4.3) и 5, две из этих «разностей» (α , β), переведенные нами в ранг форм вида, являются устойчивыми и различаются между собой по морфологии, анатомии и цитохимии.

Отметим, что качество образцов и их этикеток, хранящихся в европейских зарубежных коллекциях (S, UPS) и БИНе (LE) значительно отличается, даже когда образцы были привезены из одной экспедиции и затем распределены по разным коллекциям. Как правило, в европейских гербарных коллекциях образцы не

Виды рода *Alaria* и внутривидовые формы, описанные у берегов Камчатки
или регистрировавшиеся здесь впервые*

№	Вид	Экспедиция (год)	Сборщик образцов	Публикация
1	<i>A. angusta</i>	Экспедиция А.Э. Норденшельда (1878–1880)	Челльман Ф.Р.	Kjellman 1889
2	<i>A. crassifolia</i>	Промысловая экспедиция ТИНРО-центра (1963)	Возжинская В.Б.	Возжинская, 1965
3	<i>A. esculenta</i>	Экспедиция, организованная Академией наук (1839–1849)	Вознесенский И.Г.	Ruprecht, 1850
4	<i>A. esculenta</i> f. <i>angustifolia</i>	Кругосветная экспедиция Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829)	Мертенс К.Г., Кастальский Г.	Postels, Ruprecht, 1840; Ruprecht, 1850
5	<i>Alaria esculenta</i> f. <i>latifolia</i> (как <i>Fucus</i> <i>fimbriatus</i>); как <i>A. esculenta</i> f. <i>latifolia</i>	Вторая Камчатская экспедиция (1740–1741) Кругосветная экспедиция Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829)	Стеллер Г.В. Мертенс К.Г.; Кастальский Г.	Gmelin, 1768 Postels, Ruprecht, 1840; Ruprecht, 1850
6	<i>A. esculenta</i> f. <i>pinnatifida</i> (как <i>Fucus</i> <i>polyphyllus</i>); как <i>A. esculenta</i> f. <i>pinnatifida</i>	Вторая Камчатская экспедиция (1740–1741) Кругосветная экспедиция Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829)	Стеллер Г.В. Мертенс К.Г.; Кастальский Г.	Gmelin, 1768 Postels, Ruprecht, 1840; Ruprecht, 1850
7	<i>A. lanceolata</i>	Экспедиция А.Э. Норденшельда (1878–1880)	Челльман Ф.Р.	Kjellman, 1889
8	<i>A. laticosta</i>	Экспедиция А.Э. Норденшельда (1878–1880)	Челльман Ф.Р.	Kjellman, 1889
9	<i>A. macroptera</i>	Кругосветная экспедиция Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829)	Мертенс К.Г.; Кастальский Г.	Yendo, 1919
10	<i>A. marginata</i>	–	–	Щапова, 1948

Таблица 6 – продолжение.

№	Вид	Экспедиция (год)	Сборщик образцов	Публикация
11	<i>A. ochotensis</i>	1930	В. Umemo	Widdowson, 1971
12	<i>A. praelonga</i>	Экспедиция А.Э. Норденшельда (1878–1880)	Челльман Ф.Р.	Kjellman, 1889
13	<i>A. pylaii</i>	Комплексная камчатская экспедиция Ф.П. Рябушинского (1908–1909)	Савич В.П., Раменский Л.Г.	Воронихин, 1914
14	<i>A. taeniata</i>	Экспедиция А.Э. Норденшельда (1878–1880)	Челльман Ф.Р.	Kjellman, 1889
15	<i>A. tenuifolia</i>	Комплексная камчатская экспедиция Ф.П. Рябушинского (1908–1909)	Савич П.В.	Савич, 1914

* Примечание: список видов приводится в алфавитном порядке.

настолько изломаны, даже если на одном листе было засушено одно крупное растение, оригинальные этикетки подклеены к образцу, без зачеркиваний и дополнительных записей, сделанных разными людьми в разные годы. В случае с образцами из БИНа растения часто изломаны на части, в них может быть вложено несколько этикеток, при этом многие с зачеркиваниями и дополнительными записями, сделанными, как правило, в советское время (рис. 8). Изломанность хранящихся в БИНе образцов объясняется тем, что во время Великой Отечественной Войны 1941–1945 гг. фондовые гербарные коллекции эвакуировали и неоднократно переносили, поэтому мы отдаем дань уважения отечественным ученым, сохранившим эти уникальные коллекции во время войны.

К сожалению, в БИНе нет практики ставить красную печать «Turus» (или «Lectotype») на типовых образцах водорослей-макрофитов и присваивать им акроним. Если строго следовать правилам МКБН, тип без печати и акронима является невалидным. Поэтому проследить историю зарубежных образцов, как правило, бывает намного легче. Что касается образцов из БИНа, наиболее целесообразным представляется анализировать самую первую этикетку (т.е. машинописную или сделанную чернилами перьевой ручкой непосредственно

участниками экспедиции).

В 40-х гг. XIX в. по специальному заданию Академии наук изучением флоры и фауны северной части Тихого океана, Аляски и западного побережья Северной Америки занимался И.Г. Вознесенский. В настоящее время собранные им образцы ламинариевых водорослей хранятся в гербарных коллекциях БИНа (LE), Тринити-Колледжа Дублина (TCD), Шведского музея естественной истории (S) и Британского музея естествознания (BM). Далее Ф.И. Рупрехт проанализировал гербарные коллекции водорослей-макрофитов, собранные в северной Пацифике в первой половине XIX в. И.Г. Вознесенским и повторно изучил сборы К.Г. Мертенса и Г. Кастальского (Ruprecht, 1850). В результате их обработки он указал для флоры западной и восточной Камчатки только *A. esculenta*, однако без указания «разностей» (т.е. в современном понимании форм вида) (рис. 10). Остальной гербарный материал, идентифицированный Ф.И. Рупрехтом как *A. fistulosa* и *A. marginata*, был собран И.Г. Вознесенским у берегов Алеутских островов и Калифорнии (табл. 6).

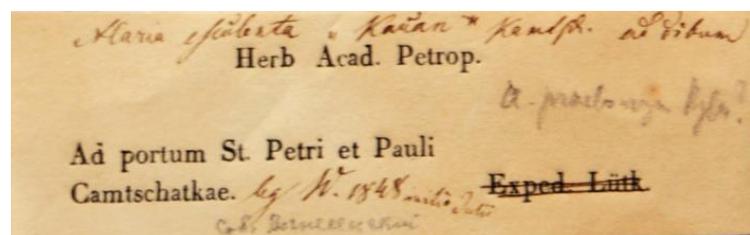


Рисунок 10 – Образец *Alaria esculenta*, собранный И.Г. Вознесенским в Авачинской губе в 40-х гг. XIX в., хранящийся в гербарной коллекции БИН РАН (LE). Отдельно показана оригинальная этикетка образца, на которой имеется несколько подписей, сделанных разными исследователями в разное время, при этом самая ранняя подпись, очевидно, принадлежит И.Г. Вознесенскому, а зачеркивания и записи карандашом сделаны значительно позже.

Следующая значимая в альгофлористическом отношении экспедиция в северной части Тихого океана была предпринята шведским исследователем

Арктики, геологом и географом А.Э. Норденшельдом в 1878–1880 гг. на пароходе «Вега». В этой арктической экспедиции принял участие профессор ботаники Уппсальского университета Ф.Р. Челльман, который собрал обширный водорослевый материал у берегов Аляски (порт Кларенс), островов Св. Лаврентия, Беринга и Хоккайдо (Wynne, 2009). После экспедиции он обработал собранную коллекцию водорослей и описал 9 новых для науки видов рода *Alaria*. Некоторые из них в настоящее время утратили самостоятельный таксономический статус и сведены в синонимы *A. esculenta* и *A. marginata* (Lane et., 2007; Guiry, Guiry, 2018). В прикамчатских водах у о. Беринга (Командорские острова) он выделил и описал пять видов аларий (табл. 6) – *A. angusta*, *A. lanceolata*, *A. laticosta*, *A. praelonga* и *A. taeniata* (Kjellman, 1889). В настоящее время образцы алариевых водорослей, собранные в экспедиции А.Э. Норденшельда хранятся в гербарных коллекциях Шведского музея естественной истории (S) и Уппсальского университета (UPS). О некоторых из них будет более подробно рассказано в разделе 4.2 нашей работы.

В начале XX в. обширная коллекция водорослей была собрана в ходе комплексной камчатской экспедиции Русского географического общества (1908–1909 гг.), спонсируемой российским промышленником Ф.П. Рябушинским. Руководил экспедицией ботаник В.Л. Комаров, который также возглавлял ее ботаническое отделение. В ходе этой экспедиции В.П. Савичем и Л.Г. Раменским был собран ценный гербарий лишайников, грибов, мхов и водорослей в Авачинском и Кроноцком заливах. По результатам альгологического изучения Авачинской губы в мае 1909 г. В.П. Савич опубликовал детальную информацию по водорослям для большинства ее бухт, указав 30 видов, в том числе *A. fistulosa* и *A. tenuifolia* (Савич, 1914). Позже водорослевые коллекции экспедиции обработал ботаник Н.Н. Воронихин (1914) и указал виды *A. fistulosa*, *A. praelonga* и *A. pylaii* для восточной Камчатки (табл. 6). Весь гербарий, собранный в комплексной камчатской экспедиции Ф.П. Рябушинского в 1908–1909 гг., хранится в настоящее время в гербарных коллекциях БИН РАН (LE).

К началу XX в. разными авторами было описано уже более 32 видов рода

Alaria, что вызывало определенные трудности в их идентификации. Первую ревизию данного рода предпринял японский альголог К. Йендо (K. Yendo) в 1919 г., при этом из всех известных на тот момент видов он выделил только 15, являющихся, по его мнению, законными (Yendo, 1919). У берегов Камчатки он указал 7 видов – *A. angusta*, *A. dolichorachis*, *A. fistulosa*, *A. lanceolata*, *A. macroptera*, *A. praelonga* и *A. taeniata*. В ходе ревизии К. Йендо основывался на оригинальных публикациях авторов видов, альгологических сводках и сотрудничал с кураторами ведущих гербарных фондов, в том числе и с БИН РАН (LE).

В последующие годы сбор водорослей-макрофитов в прикамчатских водах проводили достаточно регулярно. Результаты таксономической обработки собранных гербарных коллекций отражены в работах Т. Арвидсона (Arwidsson, 1932), К. Окамуры (Okamura, 1928), М. Нагаи (Nagai, 1933), Е.С. Зиновой (1933, 1954), Т.Ф. Щаповой (1948), А.Д. Зиновой (1953), В.Б. Возжинской (1965), Е.И. Блиновой и И.С. Гусаровой (1971). В них впервые для берегов Камчатки были указаны виды *A. crassifolia* (Возжинская, 1965) и *A. marginata* (Щапова, 1948) (табл. 6). К началу 70-х гг. XX в. в этом районе разными авторами указывались 14 видов рода *Alaria*, включая *A. fistulosa*. В настоящее время гербарные коллекции, собранные в экспедициях отраслевых и академических научно-исследовательских институтов, хранятся в гербарном фонде БИН РАН (LE), Тихоокеанском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ТИНРО), Институте океанологии РАН, Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), Камчатском отделении Тихоокеанского института географии ДВО РАН и Камчатском государственном техническом университете (КамчатГТУ).

В 1971 г. канадским альгологом Т.Б. Виддоусоном была выполнена вторая ревизия рода *Alaria* на основе изучения обширного материала из Тихого и Атлантического океанов, в том числе типовых образцов практически всех видов (Widdowson, 1971). К этому времени было известно 108 видовых и внутривидовых названий алариевых водорослей, которые Т.Б. Виддоусон условно разделил на три группы. Первая из них включала 66 таксонов, для которых он

обнаружил правомерный и отвечающий требованиям описания и обнародования Международного кодекса ботанической номенклатуры (МКБН) типовой гербарий. Во вторую группу он отнес 22 названия и пометил их как «*nomina inquirenda*» (т.е. сомнительные названия, с недостаточным описанием и несоответствующие требованиям МКБН). Третья группа объединила остальные таксоны, являющиеся незаконными или изъятыми из рода *Alaria* с точки зрения МКБН. Таким образом, в своей работе Т.Б. Виддоусон детально изучил виды, входящие только в первую группу, при этом остальные 42 таксона он не рассматривал из-за отсутствия соответствующего типового материала (Widdowson, 1971). Также важно отметить, что он не принимал во внимание автентичные образцы алариевых водорослей из гербарных коллекций БИНа (LE) и не работал с ними, что очевидно из текста его статьи. Именно поэтому он отнес ко второй сомнительной группе все виды и внутривидовые таксоны, собранные и описанные из Авачинской губы в XIX в. и, соответственно, не учел их в своем таксономическом анализе. Для прикамчатских вод он указал 6 видов – *A. angusta*, *A. esculenta*, *A. fistulosa*, *A. ochotensis*, *A. praelonga* и *A. taeniata*. Вид *A. ochotensis* он указал для Авачинской губы впервые по сборам Б. Юмено (B. Umeno) в 1930 г., гербарий которого сохранился в Музее естественной истории Университета Хоккайдо (SAP).

Практически одновременно с Т.Б. Виддоусоном ревизию рода *Alaria* для видов, распространенных в территориальных водах СССР проводил отечественный альголог Ю.Е. Петров (1973). Материалом для его ревизии послужили полевые наблюдения и сборы, проводимые с 1965 г. по 1970 г. на Дальнем Востоке (ДВР), в Белом и Баренцевом морях. Кроме того, им изучались гербарные образцы и формалинные пробы, хранящиеся в БИНе, ВНИРО, ТИНРО, СахНИРО и Институте океанологии АН СССР.

Проводя анализ имеющихся гербарных образцов и литературных источников, Ю.Е. Петров отметил, что в морях России в разное время указывалось 19 видов рода *Alaria*, из которых 14 произрастали на Камчатке. Он отметил, что из всех видов только *A. fistulosa* и *A. ochotensis* обладали четкими

диагностическими признаками, в то время как идентификация остальных видов была затруднительной, поскольку они отличались «признаками, подверженными различного рода изменчивости» (Петров, 1973, С. 50) и, как правило, с перекрывающимися характеристиками. Ю.Е. Петров провел детальное анатомо-морфологическое изучение алариевых водорослей, результаты которого в совокупности с полевыми наблюдениями позволили ему выделить в морях России следующие виды: *A. angusta*, *A. esculenta*, *A. fistulosa*, *A. ochotensis* и *A. marginata*. Широкий ареал распространения, включающий Атлантический и Северный Ледовитый океаны, он указал только для *A. esculenta*, а все остальные виды произрастали, по его мнению, исключительно в северной части Тихого океана (Петров, 1973). Он также свел в синонимы *A. angusta* и *A. marginata* следующие виды: *A. dolichorachis*, *A. lanceolata*, *A. laticosta*, *A. taeniata* и *A. crispa*, *A. macroptera*, *A. praelonga*, *A. tenuifolia*, соответственно. К неясным видам он отнес *A. crassifolia*, *A. elliptica*, *A. membranacea*, *A. pylaii* и *A. oblonga*. Важно отметить, что все предыдущие монографы рода *Alaria* не указывали американский вид *A. marginata* для флоры ДВР. В работе Ю.Е. Петрова (1973) нет пояснений для включения этого вида во флору ДВР, а в его описании сказано следующее: «в синонимике мы не рассматриваем виды, известные для северо-западного берега Америки, так как для их ревизии необходим популяционный подход и полевые исследования» (Петров, 1973, С. 58). Таким образом, очевидно, что этот автор не изучал водорослевый материал восточной Пацифики.

В поисках признаков, пригодных для определения видов рода *Alaria*, Ю.Е. Петров провел тщательное изучение имеющихся в его распоряжении образцов, что позволило ему выделить 7 групп признаков, на основе которых он составил цифровой политомический ключ для определения видов этого рода в морях СССР (Петров, 1973). Первая группа признаков основывалась на строении центральной жилки (наличие или отсутствие у нее полости и желобов), а вторая – на форме glandularных клеток (разветвленные, овальные или цилиндрические). Однако с помощью этих признаков было возможно определить только по одному виду для каждой группы, *A. fistulosa* и *A. ochotensis*, соответственно. Третья

группа признаков основывалась на расположении ризоидов (в одной плоскости со спорофиллами или по всей окружности стволика), но по ним также отчетливо выделялись только *A. fistulosa* и *A. ochotensis*.

Остальные группы признаков имели перекрывающиеся характеристики, но в совокупности позволяли определить конкретный вид *Alaria*. Они основывались, главным образом, на особенностях строения спорофиллов, в частности, на их форме, толщине, наличию стебелька и их внутреннему строению. Отметим, что отличить *A. angusta* от остальных видов с помощью этого политомического ключа можно было только по двум группам признаков, таким как наличие утолщения в основании спорофиллов и по их рыхлому строению на поперечном срезе. Разрешить же при его помощи принадлежность образцов к видам *A. esculenta* или *A. marginata* практически невозможно, поскольку они отличаются только по одной группе признаков – форме спорофиллов, варианты которой у них часто перекрываются.

Тем не менее, после работы Ю.Е. Петрова во всех последующих альгологических публикациях для флоры Камчатки стали указывать *A. angusta*, *A. fistulosa* и *A. marginata* (Виноградова и др., 1978; Ошурков и др., 1989; Клочкова, Березовская, 1997; Суховеева, Подкорытова, 2006; Клочкова и др., 2009; Klochkova, 1998). Позднее канадскими альгологами были проведены молекулярно-филогенетические исследования вида *A. fistulosa*, на основании которых он был выделен в самостоятельный монотипный род *Eualaria* (Lane et al., 2006; Wynne, 2009). Поэтому далее в своей работе мы не рассматриваем *A. fistulosa* в составе рода *Alaria*.

Таким образом, в настоящее время у юго-восточной Камчатки род *Alaria* представлен двумя видами – *A. angusta* и *A. marginata* (Клочкова, Березовская, 1997; Клочкова и др., 2009). Для них характерна высокая морфологическая изменчивость и перекрывание всех свойственных этому роду таксономических признаков: формы и размеров пластины, стволика и спорофиллов; особенностей прикрепления спорофиллов к рахису, соотношения у них площади стерильной и фертильной ткани (табл. 7).

Морфометрические и экологические характеристики представителей рода
Alaria во флоре юго-восточной Камчатки
 (по Клочкова, Березовская, 1997; Клочкова и др., 2009)

Вид	Слоевище		Стволик	Спорофиллы		Условия произрастания	
	Длина, см	Ширина, см		Длина, см	Общая форма	Форма основания	Глубина, м
<i>Alaria angusta</i>	100–400	5–40	6–23	Линейная, удлиненно-ланцетовидная	Остроклиновидная, утолщенная	0–6	Высокая, средняя
<i>Alaria marginata</i>	100–250	6–30	< 40	Овальная, ланцетовидная, линейная	Округлая, клиновидная	0–5	Средняя, низкая

Камчатские виды аларий очень избирательны к воздействию экологических факторов. Так *A. angusta* предпочитает селиться на открытых океаническому прибою участках побережья или мысах, а *A. marginata*, напротив, произрастает в защищенных от сильного волнового воздействия закрытых бухтах. В местах с умеренным прибоем эти виды могут формировать смешанные поселения и сильно менять свой морфологический облик, что значительно затрудняет их видовую идентификацию.

4.2. Таксономическая ревизия представителей рода *Alaria*

В данной главе представлена таксономическая информация по формам вида *Alaria esculenta*, описанным А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом для флоры восточной Камчатки как α *angustifolia*, β *latifolia*, γ *pinnatifida* (Postels, Ruprecht, 1840), а также по видам *A. angusta* и *A. marginata*, указанным в этом регионе. Для форм *A. esculenta* даны описания из первоисточников, поскольку они не рассматривались ни в одной из ревизий рода и все имеющиеся о них сведения содержатся только в протологе. Кроме того, приводится информация по редкому Курильскому эндемику *Alaria paradisea*, также включенному в наше исследование, поскольку это необходимо для понимания объема рода *Alaria* в целом.

Одной из проблем современной альгологии является то, что в настоящее время в таксономии водорослей-макрофитов все чаще игнорируется работа с типовыми образцами. Между тем еще Карл Линней сказал, что без познания имен умрет и познание вещей («Nomina si nescis, perit et cognitio rerum»). Именно это его высказывание является золотым правилом таксономии и биологии в целом. Поэтому изучение представителей рода *Alaria* во флоре Камчатки и в прикамчатских водах мы посчитали целесообразным начать именно с поиска их типовых образцов, прежде чем приступить к рассмотрению вопросов их экологии, цитологии и молекулярной систематики. Это было необходимо сделать, во-первых, для подтверждения правильности определения изученных нами видов и, во-вторых, чтобы документально подтвердить валидность камчатских алариевых, поскольку виды без типовых образцов являются невалидными (ICBN, 2018). Полученные нами данные были опубликованы в соавторстве в следующих работах: Климова и др. (2016), Klimova et al. (2018).

Alaria esculenta f. *angustifolia* Postels et Ruprecht ex A.Klimova, T.Klochkova & N.Klochkova comb. et stat. nov.

Non *Alaria esculenta* α *angustifolia* Postels et Ruprecht (1840, P. 11).

Этимология: *angustifolia* – узколистная.

Типовое местообитание: Авачинская губа, юго-восточная Камчатка («Kamtschatka ad portum St. Petri et Pauli») (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Дата сбора типа/сборщик: 1827–1828 гг. / Г. Кастальский.

Место хранения типа: Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE).

Автор формы: А. Постельс и Ф.И. Рупрехт (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Акроним типа: Отсутствует.

Типовые сиквенсы таксона в NCBI: MG993131 (COI), MG993133 (Rubisco), MG993136 (pДНК). Ваучерный образец (KAV_AvB01) для выделения ДНК был собран 29 октября 2014 г. у мыса Маячный (Авачинская губа) А.В. Климовой (Климова, Клочкова, 2017).

Описание: «Пластинка шириною от 1 до 2 дюймов [1 дюйм = 2,54 см]¹, у края плоская» (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

A. esculenta α *angustifolia* была описана А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом по сборам участников кругосветной экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829 гг.) на шлюпах «Сенявин» и «Моллер» (см. главу 4, раздел 4.1). В предисловии к их работе сказано следующее: «основанием нашего сочинения служили: значительное собрание морских растений с островов Ситхи и Уналашки, особенно же из гавани Св. Петра и Павла [Авачинская губа], составленное преимущественно покойным Доктором Мертенсом, большое число изображений, снятых с природы на самых местах непосредственно со свежих образцов А.Ф. Постельсом и несколько кратких замечаний о морских растениях [составленных К.Г. Мертенсом]» и «к этим материалам присоединилось еще, хотя не большое, но любопытное собрание морерослей [водорослей] с берегов Ситхи, Уналашки, Аляски и Камчатки, привезенное покойным Профессором Кастальским, находившимся в качестве естествоиспытателя на шлюпе Моллер» (Postels, Ruprecht, 1840, P. I).

К сожалению, в работе А. Постельса и Ф.И. Рупрехта не приведено

¹ Здесь и далее в квадратных скобках приводятся наши пояснения к оригинальному авторскому тексту.

изображение вида, поскольку правила ботанических публикаций тех лет этого не требовали. Информация, указанная ими в протологе весьма скудная и касается только ширины пластины. Тем не менее, приводя описание вида *A. esculenta*, авторы указывали его распространение в северной части Тихого океана от Камчатки до о. Ситха, помимо Атлантического и Северного Ледовитого океанов (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11). Среди тихоокеанских образцов *A. esculenta* они выделили «...следующие различия»: α *angustifolia*, β *latifolia* и γ *pinnatifida*. Поскольку в современной альгологии подобный термин и обозначения таксонов не применяются, мы переводим их в формы вида *A. esculenta*. Отметим, что в электронной базе данных AlgaeBase (Guiry, Guiry, 2018) они уже указываются как формы и вариегат этого вида, хотя номенклатурные комбинации, т.е. перевод «разностей α , β , γ » в формы и вариегат официально опубликованы не были.

В фонде типовых образцов БИНа (LE) сохранились два гербарных листа *A. esculenta* α *angustifolia*. Один из них, состоящий из двух фрагментов, был собран Г. Кастальским у берегов Камчатки (рис. 11). На оригинальной этикетке Ф.И. Рупрехтом указано внутривидовое название, место сбора – Kamtsch. [Камчатка] и сборщик – Kastals [лат. Kastalsky, т.е. Кастальский] (рис. 11).



Рисунок 11 – Образец *Alaria esculenta* f. *angustifolia*, хранящийся в гербарной коллекции БИН РАН (LE). На этикетке к этому образцу указано его внутривидовое название, место сбора (Камчатка) и сборщик (Кастальский). Отметим, что, хотя все записи на этикетке сделаны разной рукой, наиболее старые из них принадлежат Ф.И. Рупрехту (черные чернила).

Точную дату сбора определить невозможно, поскольку она не указана. Известно, что шлюп «Моллер» трижды посещал Авачинскую губу: 18 июня–13 августа 1827 г., 11–27 апреля и 26 августа–30 октября 1828 г. (Литке, 1835). Таким образом, этот образец был собран в летнее или осеннее время.

Другой образец *A. esculenta* *α angustifolia* из коллекции БИНа (LE) был собран ботаником экспедиции К.Х. Мертенсом. Гербарный лист включает 4 фрагмента, два из них содержат стволик, рахис со спорофиллами и пластину, остальные представляют собой только часть пластины (рис. 12). На этикетке Ф.И. Рупрехтом также указано видовое название, экспедиция и сборщик. Определить место сбора образцов затруднительно. Так, исходя из сведений о местах сбора водорослей в работе А. Постельса и Ф.И. Рупрехта (Postels, Ruprecht, 1840), ими могут быть острова Ситха, Уналашка или Авачинская губа. Дату сбора также невозможно определить достоверно, поскольку в путевых таблицах экспедиции



Рисунок 12 – Образец *Alaria esculenta* f. *angustifolia* (1), собранный К.Х. Мертенсом (2) и хранящийся в гербарной коллекции БИН РАН (LE).

все даты были привязаны к географическим координатам (Литке, 1835). Можно лишь упомянуть, что экспедиция в северной части Тихого океана проходила в 1827–1828 гг.

Необходимо отметить, что в начале XX в. пересмотр коллекции водорослей, собранных в ходе кругосветной экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829 гг.) проводила альголог БИНа Е.С. Зинова. Она определила все образцы *A. esculenta* α *angustifolia* как *A. angusta*, о чем свидетельствует вложенная в образец дополнительная этикетка с таксономическими замечаниями (рис. 11). Поскольку авторами таксона не был выделен голотип, то все сохранившиеся гербарные образцы является синтипами. Мы предлагаем выделить образец *A. esculenta* f. *angustifolia*, собранный Г. Кастальским (рис. 11) в качестве лектотипа формы вида, основываясь на статьях 9.11–9.12 МКБН^{2,3} (ICBN, 2018).

Alaria esculenta f. *latifolia* Postels et Ruprecht ex A.Klimova, T.Klochkova & N.Klochkova comb. et stat. nov.

Non *Alaria esculenta* β *latifolia* Postels et Ruprecht (1840, P. 11).

Базиним: *Fucus fimbriatus* Gmelin.

Этимология: *latifolia* – широколистная.

Типовое местообитание: Авачинская губа, юго-восточная Камчатка («Kamtschatka ad portum St. Petri et Pauli») (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Дата сбора типа/сборщик: 1827–1828 гг. / К.Г. Мертенс, Г. Кастальский.

Место хранения типа: Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE).

² Статья 9.11 (МКБН) – Если голотип не был указан автором названия вида или внутривидового таксона, или если голотип был утерян или уничтожен, или если было установлено, что материал, обозначенный как тип, принадлежит к более чем одному таксону, то в качестве замены голотипа может быть обозначен лектотип, или, если позволяют правила (ст. 9.7), неотип.

³ Статья 9.12 (МКБН) – В качестве лектотипа должен быть выбран изотип, если таковой существует, или, при отсутствии изотипа, синтип, если таковой существует. Если не имеется ни изотипа, ни синтипа, ни изосинтипа (дублета синтипа), то лектотип следует выбирать среди паратипов, если они существуют. Если не существует никаких цитированных экземпляров, лектотип должен быть выбран среди нецитированных экземпляров и цитированных и нецитированных иллюстраций, которые составляют остальной первоначальный материал, если таковой существует.

Автор формы: А. Постельс и Ф.И. Рупрехт (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Акроним типа: Отсутствует.

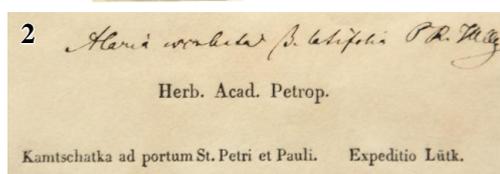
Типовые сиквенсы таксона в NCBI: MG993132 (COI), MG993134 (Rubisco), MG993137 (рДНК). Ваучерный образец (KAV_AvB02) для выделения ДНК был собран 20 апреля 2014 г. в бух. Завойко (Авачинская губа) А.В. Климовой (Климова, Клочкова, 2014б).

Описание: Пластинка шириною от 0,5 до 1 фута [1 фут = 30,48 см], поперек волнисто-складчатая (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

В своей работе авторы внутривидового таксона *A. esculenta* β *latifolia* привели цветную иллюстрацию водоросли (Postels, Ruprecht, 1840, tab. XVII), однако соотнести ее с хранящимися в БИНе (LE) гербарными образцами не представляется возможным (рис. 13, 14.3–14.4). Из краткого описания в протологе и внешнего вида гербарных образцов следует, что β *latifolia* отличается от α



Рисунок 13 – Образец *Alaria esculenta* f. *latifolia*, хранящийся в гербарной коллекции БИН РАН (LE).



angustifolia более широкой складчатой пластиной и наличием стерильной апикальной части спорофиллов у взрослых растений. Если рассуждать по этимологии названия с привязкой к морфологии образцов, β *latifolia* отличается более широкими пластиной и спорофиллами, в то время как у α *angustifolia* они узкие, вытянутые, часто удлинённые.

В фонде типовых образцов БИНа (LE) сохранились три гербарных листа *A. esculenta* β *latifolia*. Все они были собраны в Авачинской губе и только у одного из них на этикетке отмечен сборщик – К.Г. Мертенс (рис. 14.3–14.4). Из сохранившегося гербарного материала наиболее полно отражает все функциональные части алариевых водорослей образец, представленный на рисунке 13. Он содержит два фрагмента: нижней части слоевища, состоящей из органов прикрепления, стволика, рахиса с расставленными спорофиллами и основания пластины (фрагмент 1) и ее зрелой части (фрагмент 2). На этикетке образца указано, что он был собран в кругосветной экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829 гг.) в порту Св. Петра и Павла в Авачинской губе, а рукой Ф.И. Рупрехта на ней написано *A. esculenta* β *latifolia*. Хотя дата сбора и сборщик не указаны, образцы могли быть собраны К.Г. Мертенсом или Г. Кастальским. Из путевых таблиц экспедиции известны точные даты нахождения шлюпов в порту Петропавловск-Камчатского, но поскольку они проводили работы не одновременно, а сборщик материала точно не известен, невозможно безошибочно определить время сбора. Остальные образцы *A. esculenta* β *latifolia* из Авачинской губы, хранящиеся в LE непоказательны, поскольку не имеют пластины.

Авторами таксона *A. esculenta* β *latifolia*, А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом, также не был выделен голотип. Из сохранившихся гербарных образцов мы предлагаем выделить в качестве лектотипа *A. esculenta* f. *latifolia* образец, представленный на рисунке 13.

Alaria esculenta γ *pinnatifida* Postels et Ruprecht (1840, P. 11).

Базиним: *Fucus pinnatus* Gunner.

Этимология: *pinnatifida* – перистораздельная.

Типовое местообитание: Авачинская губа, юго-восточная Камчатка («Kamtschatka ad portum St. Petri et Pauli») (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Дата сбора типа/сборщик: 1827–1828 гг. / К.Г. Мертенс, Г. Кастальский.

Место хранения типа: Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE).

Автор формы: А. Постельс и Ф.И. Рупрехт (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Акроним типа: Отсутствует.

Описание: «Пластинка перистораздельная, плоская. В совершенном [взрослом] возрасте, когда перистые листья уже отпали, стебель является в месте прикрепления их сплюснутый и на обеих краях зубчатый или пиловый. Иногда одни только верхние перистые листья остаются, между тем, как нижние вместе с вершиною пластинки пропадают. О таком не совершенном образце из Камчатки упоминает Гмелин под названием Фукуса многолистного» (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

В гербарном фонде БИНа сохранилось несколько образцов этой формы (рис. 14.1–14.2, 15). Все они были собраны в Авачинской губе в ходе экспедиции Ф.П. Литке и М.Н. Станюковича (1826–1829 гг.). В гербарии БИНа также имеются образцы *A. esculenta* γ *pinnatifida*, собранные И.Г. Вознесенским и впоследствии определенные Ф.И. Рупрехтом, однако мы не учитываем их в своем таксономическом анализе, поскольку на момент опубликования первоописания γ *pinnatifida* (Postels, Ruprecht, 1840) образцы И.Г. Вознесенского еще не были собраны.

Большая часть образцов представлена фрагментами слоевищ (рис. 6) и ни для одного гербарного листа не указаны дата сбора и сборщик. Единственный образец, демонстрирующий все свойственные роду функциональные части слоевища представлен на рисунке 14.1. На его этикетке рукой Ф.И. Рупрехта отмечено γ *pinnatifida*, при этом сверху им же сделана дополнительная запись – β *latifolia* (рис. 14.1–14.2), из чего не совсем понятно к какой именно «разности» *A. esculenta* относил этот образец сам автор таксона.

Исходя из большого объема изученных нами образцов алариевых водорослей

восточной Камчатки, включая старые и современные гербарные коллекции, и свежесобранный материал, мы полагаем, что выделенный А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом признак «разности» *A. esculenta* γ *pinnatifida* – рассечение пластины, является возрастной изменчивостью этих водорослей. Наиболее явно он прослеживается у представителей самой старшей возрастной группы. Образцы с такой морфологией пластины нередко отмечались нами среди *A. angusta* и *A. marginata*.

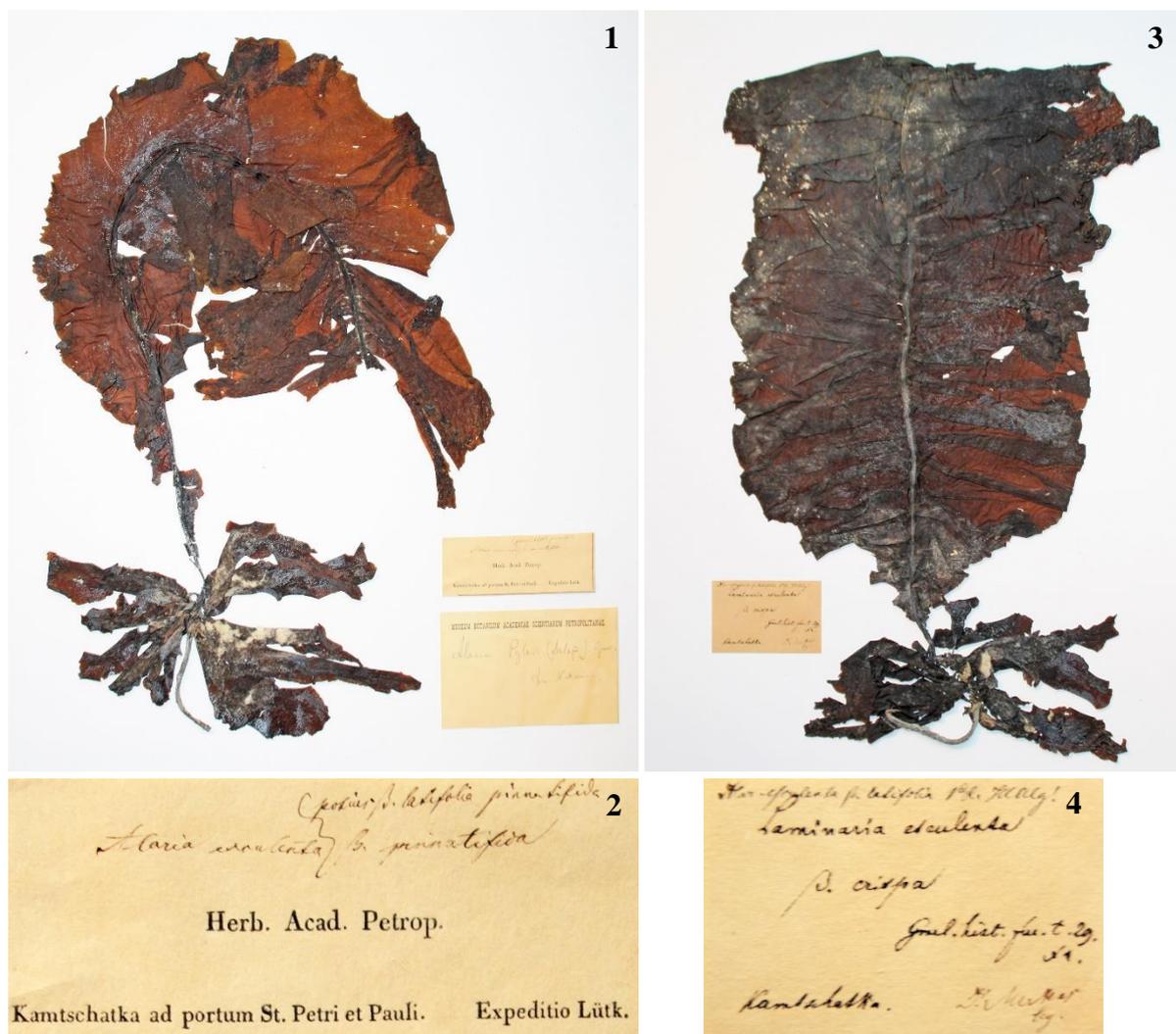


Рисунок 14 – Образцы *Alaria esculenta* γ *pinnatifida* (1–2) и *A. esculenta* f. *latifolia* (3–4), собранные в Авачинской губе К.Г. Мертенсом во время кругосветной экспедиции Ф.П. Литке (1826–1829 гг.), хранящиеся в гербарной коллекции БИН РАН (LE).

Таким образом, выделение формы *A. esculenta* f. *pinnatifida* не может быть законным в рамках МКБН (ICBN, 2018). Мы предлагаем закрыть этот таксон как *nomen illegitimum* (т.е. является незаконным) и свести его в синонимы вида *A. esculenta*:

Alaria esculenta γ *pinnatifida* Postels et Ruprecht **nom. illeg.** (1840, P. 11).

Синоним: *Alaria esculenta* (Linnaeus) Greville.



Рисунок 15 – Гербарный образец *Alaria esculenta* γ *pinnatifida*, состоящий из трех фрагментов. Хранится в гербарной коллекции БИН РАН (LE).

Alaria angusta Kjellman (1889, P. 38).

Типовое местообитание: о. Беринга, Командорские острова («Beringön, sparsam; spridd inom sublitoral regionen såsom beståndsdel i Laminariacé formationen; med sporangier. [Bering Island, scarce, scattered within sublitoral zone as part of Laminaraceae formation; with sporangia]») (Kjellman, 1889, P. 38).

Дата сбора типа/сборщик: 14–19 августа 1879 г. / Ф.Р. Челльман.

Место хранения типа: Музей эволюции, Уппсальский университет (UPS).

Автор вида: Ф.Р. Челльман (Kjellman, 1889).

Автор, выделивший лектотип: Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971, P. 28).

Акроним типа: Отсутствует.

В отношении типового образца *A. angusta* сложилась запутанная ситуация. Автор вида Ф.Р. Челльман не выделил типовой образец и не отметил в своих сборах с о. Беринга растение, с которого он сделал рисунок этого вида (Kjellman, 1889), что неудивительно, поскольку в 1889 г. правила описания новых таксонов этого не требовали. Т.Б. Виддоусон, работавший с типовыми образцами из гербария Уппсальского университета, дал рисунок одного из шести хранящихся в нем автентичных образцов *A. angusta*, собранных Челльманом, выбрав среди них экземпляр с пометкой «orig. exempl» (т.е. оригинальный экземпляр) (Widdowson, 1971). Однако выбранный Т.Б. Виддоусоном тип нельзя считать формально принятым, поскольку, во-первых, он не был зарегистрирован, во-вторых, по сообщению проф. С. Экмана (Prof. Stefan Ekman) в коллекции UPS хранится несколько образцов *A. angusta* с пометкой «orig. exempl» (рис. 16), и поскольку фотография типа не публиковалась, однозначно определить его среди этих образцов затруднительно. В ходе переписки проф. С. Экман высказал мнение о том, что за тип можно принять один из образцов с пометкой «orig. exempl» с наиболее развитыми спорофиллами (рис. 16.1). Он определен как *A. angusta* Ф.Р. Челльманом, хотя запись «orig. exempl» на нем сделана не его рукой (рис. 16.2). Таким образом, все шесть челльманновских образцов *A. angusta* становятся синтипами (рис. 16.3), а один из них по согласованию с проф. С. Экманом и руководствуясь статьями 9.11–9.12 МКБН (ICBN, 2018), мы предлагаем выделить как лектотип (рис. 16.1).

На рисунке 16.3 показан один из синтипов *A. angusta*, имеющий более широкую, чем у типа вида пластину и менее развитые спорофиллы. Наличие образца с такой достаточно широкой пластиной позволяет говорить, что имя «*angusta*», т.е. узкая (Kjellman, 1889), было выбрано Ф.Р. Челльманом не совсем удачно. Описывая характерные признаки этого вида, Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971) отметил наличие у него длинных спорофиллов. Это утверждение, по нашему мнению, также не совсем верное. Это видно даже при

сравнении между собой синтипов, у которых спорофиллы действительно узкие, но не столь большой длины.



Рисунок 16 – Автентичные образцы вида *Alaria angusta* с о. Беринга, хранящиеся в гербарном фонде Музея эволюции Уппсальского университета (UPS). 1 – образец, предложенный нами в качестве лектотипа в соответствии со статьями 9.11–9.12 МКБН. 2 – этикетка лектотипа с пометкой «orig. exempl». 3 – синтип с широкой пластиной и менее развитыми спорофиллами.

В гербарии университета Хоккайдо (SAP) нами были встречены образцы, собранные у берегов о. Хоккайдо и определенные как *A. angusta*. Один из них представлен на рисунке 17.1. Образцы с такой же морфологией спорофиллов были собраны нами с о. Парамушир в 2015 г. (рис. 17.2). Они на самом деле имеют очень узкие и очень длинные спорофиллы, например, их длина у образцов с о. Парамушир достигает 80 см и более. В Авачинском заливе за весь период проведенных нами исследований образцы аларий со схожей морфологией обнаружены не были. Однако следует учитывать, что места сбора, о. Парамушир и в значительной степени о. Хоккайдо находятся далеко от типового

местообитания, о. Беринга. Поэтому определенно говорить об их принадлежности к *A. angusta* нельзя.



Рисунок 17 – *Alaria angusta* с длинными и узкими спорофиллами. 1 – образец, собранный у побережья Японии и хранящийся в гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP). 2 – образец, собранный в 2015 г. с о. Парамушир.

***Alaria marginata* Postels et Ruprecht (1840, P. 11).**

Типовое местообитание: о. Уналашка, Алеутские острова («In oceano pacifico septemtrionale v.g. ad Unalaska») (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Дата сбора типа/сборщик: 10–18 августа 1827 г. / К.Г. Мертенс.

Место хранения типа: Ботанический институт им. К.В. Комарова РАН (LE).

Автор вида: А. Постельс и Ф.И. Рупрехт (Postels, Ruprecht, 1840, P. 11).

Акроним типа: Отсутствует.

Место сбора неотипа: Форт Росс, Калифорния.

Дата сбора неотипа/сборщик: 30 июля–23 октября 1840 г. / И.Г. Вознесенский.

Место хранения неотипа: Шведский музей естествознания (S).

Автор, предложивший неотип: Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971, P. 36).

Акроним неотипа: S-A18207.

Основание для выделения неотипа приведено в работе Т.Б. Виддоусона (Widdowson, 1971).

Необходимость выделения неотипа для *A. marginata* Т.Б. Виддоусон обосновал тем, что типовой образец этого вида, собранный у о. Уналашка (Алеутские острова), утерян. В своей работе он сделал следующее заключение (Widdowson, 1971, P. 36): «...Местообитанием вида была указана северная часть Тихого океана, о. Уналашка («v.g. ad Unalascha»); однако Ф.И. Рупрехт (Ruprecht, 1855: 355) упоминал только растения из Форт Росс (Калифорния). Отсутствие упоминания материала с о. Уналашка в списке Рупрехта, а также отсутствие иллюстраций в работе А.Ф. Постельса и Ф.И. Рупрехта (Postels, Ruprecht, 1840) вызывает некоторые сомнения в том, что материалы когда-либо собирались Постельсом и Рупрехтом. В коллекции Аресшуга (Areschoug) в Стокгольме (S) имеется единственный образец с напечатанной этикеткой следующего содержания: «Herb. Acad. Petrop. California boreal Ross leg. Wosnessensky» (т.е. гербарная коллекция БИН (LE), бореальный, Калифорния, собрал Вознесенский), а рукой Рупрехта на нем на латинском языке написано «*Alaria marginata* PR (sp. meliore exhiberi non potest)» (т.е. «лучше всего демонстрирует вид»)» (рис. 18.1–18.2).

Рассуждая таким образом Т.Б. Виддоусон полагал, что данная заметка Ф.И. Рупрехта «...указывает на то, что в Ленинграде (LE) не существует лучших подлинных образцов». Далее он писал «...Нам представляется невозможным доказать, что образец в Стокгольме является возможным лектотипом, тем не менее он представляется нам наиболее пригодным для этого обозначения. Этот образец явно связан с Рупрехтом, если не с Постельсом и Рупрехтом. Мы нарекаем его неотипом...» (Widdowson, 1971, P. 36).

С мнением Т.Б. Виддоусона согласился американский таксономист П. Сильва (Silva, 1979, P. 337). В размещенном им в AlgaeBase (Guiry, Guiry, 2018) электронном сообщении от 21 июня 2006 г. он написал следующее: «Судя по протологу *A. marginata*, материал с о. Уналашка, несомненно, собрал молодой



Рисунок 18 – Образцы *Alaria marginata* из сборов И.Г. Вознесенского в Форт Росс (Калифорния). 1–2 – неотип вида (акроним: S-A18207), хранящийся в Шведском музее естественной истории (S). 3–4 – образец из тех же сборов И.Г. Вознесенского в Форт Росс, хранящийся в БИН РАН (LE). Стрелка указывает на этикетку образца (увеличенное изображение на рис. 18.4).

Мертенс на борту «Сенявин» в период 1826–1829 гг. Когда Сетчелл приезжал в Ленинград в ноябре 1903 г. в поисках типового образца он нашел «1 хороший экземпляр – о. Уналашка, сборщик Вознесенский», но, как мне кажется, образец был из Форт Росс, Калифорния, который идентичен нашему калифорнийскому с

более широкой жилкой «*A. praelonga*» (записи Сетчелла). Этикетка неверная, так как нет никаких записей о том, что Вознесенский собирал на о. Уналашка. В случае отсутствия оригинального материала, применима статья 9.6 кодекса Ботанической номенклатуры, и Виддоусон имел право назначить образец [хранящийся] в Стокгольме неотипом. Однако, если будущие исследования популяций с о. Уналашка и Форт Росс, докажут, что мы имеем дело с двумя видами, то неотипификация Виддоусона должна быть запрещена, а для вида из Форт Росс должно быть найдено новое имя, или же можно предложить сохранить [название] *Alaria marginata* и сохранить [этот] типовой образец. Полагаю, что выбор неотипа из какой-то местности, отличной от той местности, где был собран типовой образец – не самая лучшая практика, однако это не будет «в серьезном конфликте с протологом». Поэтому, несмотря на протолог, местообитанием нео(типа) является Форт Росс» (Guiry, Guiry, 2018).

Таким образом, как видно из приведенных выше высказываний, взятых из работы Т.Б. Виддоусона и сообщения П. Сильвы, в отношении типового образца и типового местообитания *A. marginata* сложилась очень запутанная ситуация, при этом комментарии П. Сильвы (Guiry, Guiry, 2018) делают ее еще более запутанной. Вид *A. marginata* был описан А.Ф. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом по материалам, собранным К. Мертенсом на о. Уналашка во время экспедиции Ф.П. Литке 1826–1829 гг. В зарубежных гербарных фондах из образцов, определявшихся Ф.И. Рупрехтом, сохранился образец, собранный И.Г. Вознесенским на очень большом отдалении от типового местообитания, в Форт Росс, Калифорния. Он и был выбран Т.Б. Виддоусоном как неотип вида. Следует отметить, что до марта 2015 г. в гербарии Шведского музея естествознания он не был обозначен как типовой и, следовательно, не имел акронима. Таковой (S-A18207) был присвоен ему куратором водорослевой коллекции шведского Музея естествознания доктором А. Далсатт (Dr. Åsa Dalsätt) после нашего к нему обращения и просьбы выслать фотоизображение неотипа. Отметим, что образец плохо сохранился и представляет собой несколько отдельных фрагментов слоевища (рис. 18.1–18.2).

Между тем в БИН РАН (LE) хранится образец *A. marginata* из сборов

И.Г. Вознесенского в Форт Росс (рис. 19), о котором ни Т.Б. Виддоусон, ни П. Сильва не знали. Наряду с ним там же хранятся гербарные листы *A. marginata*, собранные К. Мертенсом в ходе экспедиции Ф. Литке у о. Уналашка, и подписанные рукой Рупрехта. На одном из них засушена нижняя часть растения (рис. 19.1–19.2), на другом верхняя (рис. 19.3–19.4).



Рисунок 19 – Автентичные образцы *Alaria marginata* с о. Уналашка, собранные А.К. Мертенсом во время экспедиции Ф.П. Литке в 1826–1829 гг., хранящиеся в гербарном фонде БИН РАН. На их этикетках рукой Ф.И. Рупрехта сделана запись «*Alaria marginata*» (2, 4). Мы предлагаем считать эти автентичные образцы лектотипом в соответствии со статьями 9.11, 9.13, 8A4 МКБН, поскольку они являются частью материала, на основании которого данный вид был описан А.Ф. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом.

Мы полагаем, что, согласно статье 9.11 МКБН (ICBN, 2018), эти два образца и следует принять за лектотип вида *A. marginata*, поскольку они являются частью первоначального материала, на основании которого указанный вид был описан А.Ф. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом. В данном случае к лектотипу следует отнести два сохранившихся гербарных образца К. Мертенса, поскольку это предусматривает статья 8А.4 МКБН (ICBN, 2018). Статья 9.13 МКБН предусматривает преимущество первоначального материала (т.е. тех экземпляров, на которых было основано описание) над неотипом (ICBN, 2018). Кроме того, мы полагаем, что выбор неотипа *A. marginata* из Форт Росс, расположенного южнее о. Уналашка более чем на 3 тысячи километров был изначально неоправданным. Как уже упоминалось в главе 1.1, 4.1, все монографы рода *Alaria* (Yendo, 1919; Widdowson, 1971) не указывали *A. marginata* у азиатского побережья северной Пацифики. Впервые она была отмечена здесь в Беринговом и Японском морях Т.Ф. Щаповой (1948, С. 121, табл. 3).

В гербарии К. Йендо в Музее естественной истории Университета Хоккайдо (SAP) мы нашли пять образцов *A. marginata*, собранных у о. Ванкувер в июле 1901 г. Два из них показаны на рисунке 18. Из представленного рисунка видно, что они значительно отличаются от Калифорнийских растений более широкой жилкой (1–2,3 см) и длинными (более 20 см), толстыми, плотными спорофиллами. У растений с о. Уналашка спорофиллы тоже плотные и длинные (10–20 см), но жилка не такая широкая. Исходя из морфологических различий, можно предполагать, что «*A. marginata*» с Ванкувера, «*A. marginata*» из Форт Росс и «*A. marginata*» с Уналашки – разные виды. До тех пор, пока не будет проведено их сравнительное молекулярно-филогенетическое изучение вопрос об объеме обсуждаемого вида остается открытым. В ходе своих исследований мы никогда не находили растения с морфологией, подобной растениям с Ванкувера (рис. 20), на восточной Камчатке, поэтому считаем, что в нашем регионе вид *A. marginata* (в его современном понимании североамериканскими альгологами) не произрастает.

Как уже было сказано выше, одной из проблем современной альгологии является игнорирование работы с типовыми образцами. В разделе II, главе II,

статье 7.2 МКБН сказано, что «Номенклатурный тип (*typus*) – это та составная часть таксона, с которой постоянно связывается название данного таксона, независимо от того, правильное ли это название или синоним. Номенклатурный тип не обязательно наиболее типичный или представительный элемент таксона» (ICBN, 2018). Мы полагаем, что смысл второй части этой статьи кодекса не должен пониматься абсолютно буквально, поскольку, как было показано выше на примере *A. marginata*, это чревато тем, что в попытках найти отсутствующие типы определенных видов авторы (Widdowson, 1971; Silva, 1979; Guiry, Guiry, 2018) изменили саму суть выделения нового для науки вида, положенную в основу его первоописания.

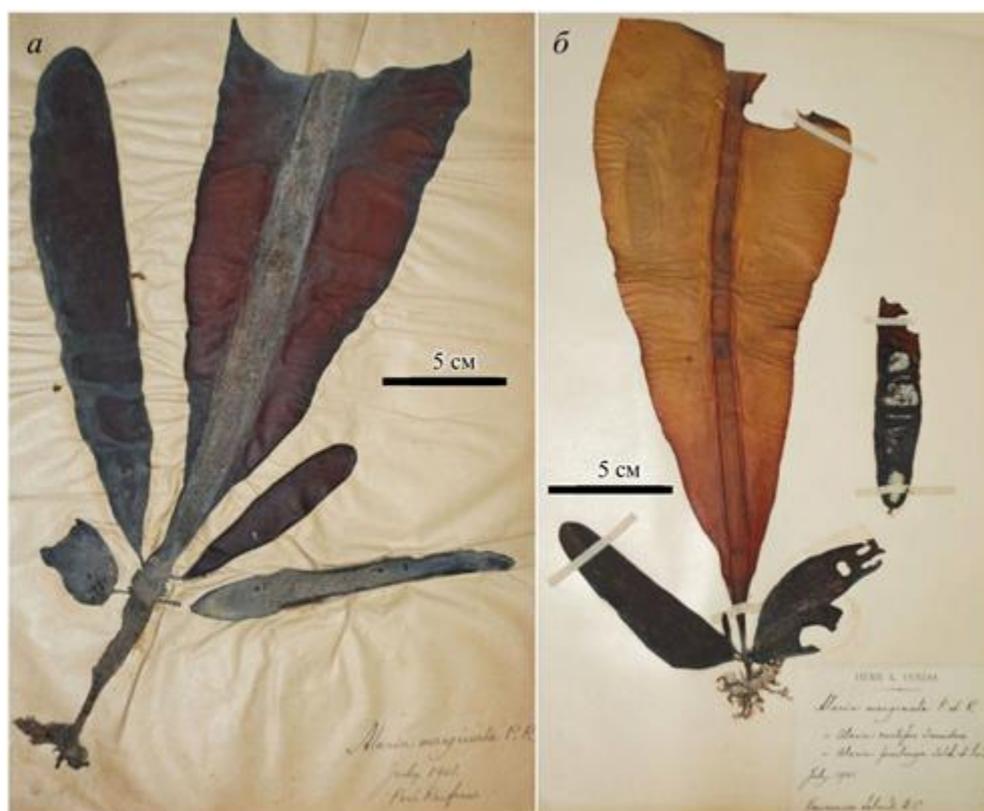


Рисунок 20 – Растения *Alaria marginata* из гербарной коллекции К. Йендо, хранящейся в гербарии Музея естественной истории университета Хоккайдо (SAP). Оба образца были собраны у побережья о. Ванкувер в июле 1901 г. Они значительно отличаются от образцов из Калифорнии и из типового местообитания вида, о. Уналашка, более широкой жилкой и толстыми, плотными спорофиллами.

Alaria paradisea (Miyabe et Nagai) Widdowson (1971, P. 38)

Базионим: *Pleuropterum paradiseum* Miyabe et Nagai.

Типовое местообитание: мыс Лава, о. Атласова («Sekinezaki, Araido»)

(Miyabe, Nagai, 1932).

Дата сбора типа/сборщик: 10 августа 1926 г. / Х. Ито и Г. Комори (H. Ito, G. Komori).

Место хранения типа: До 2015 г. все автентичные образцы этого вида хранились в Музее естественной истории Университета Хоккайдо (SAP). Летом 2015 г. музей был закрыт на реконструкцию и часть старых водорослевых коллекций, включая коллекцию К. Йендо (K. Yendo), в которой находились все образцы этого вида, были временно отправлены в университет Токио на верификацию (Klimova et al., 2018).

Автор, выделивший лектотип: Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971, P. 38).

Акроним типа: Отсутствует.

Автор, предложивший новую номенклатурную комбинацию: Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971).

Вокруг *Alaria paradisea* длительное время велись научные споры, поскольку отечественные альгологи не приняли точку зрения Т.Б. Виддоусона о включение *Pleuropterum paradiseum* в род *Alaria* на основе морфологических признаков и продолжали указывать его в региональных сводках как *P. paradiseum* (Петров, 1973, 1975; Огородников, 2007; Klochkova, 1998).

Типовым местообитанием вида *A. paradisea* является самый северный остров Большой Курильской гряды – Атласова. В 1926 г. Х. Ито и Г. Комори (H. Ito, G. Komori) собрали первые образцы этого вида у мыса Лава (яп.: Sekinezaki), расположенного в юго-восточной части острова (рис. 21.1–21.2). В 1930 г. М. Нагаи (M. Nagai) повторно собрал этот вид у того же острова в бухте Тройка (яп.: Minamiura) (рис. 21.3–21.4). Сборы с о. Атласова К. Миябе и М. Нагаи (Miyabe, Nagai, 1932) использовали для описания ими нового для науки рода *Pleuropterum* и вида *P. paradiseum*. Для иллюстрации его морфологии они использовали растение, собранное у мыса Лава (рис. 21.1–21.2) (Miyabe, Nagai, 1932), а образец из бухты Тройка поместили как «со-туре» (рис. 21.3–21.4).

В 1935 г. у южной оконечности о. Уруп японским альгологом Е. Ямада был описан еще один вид рода *Pleuropterum* – *P. fasciculatum* (Yamada, 1935). Один из

автентичных образцов этого вида из Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP) приведен на рисунке 19.5–19.6. Позднее при описании морской альгофлоры Курильских островов М. Нагаи указал только один вид рода *Pleuropterum*, но выделил у него три формы: *f. typicum*, *f. brevipes* и *f. fasciculatum* (Nagai, 1940), понизив, таким образом, статус описанного Е. Ямада вида до формы.

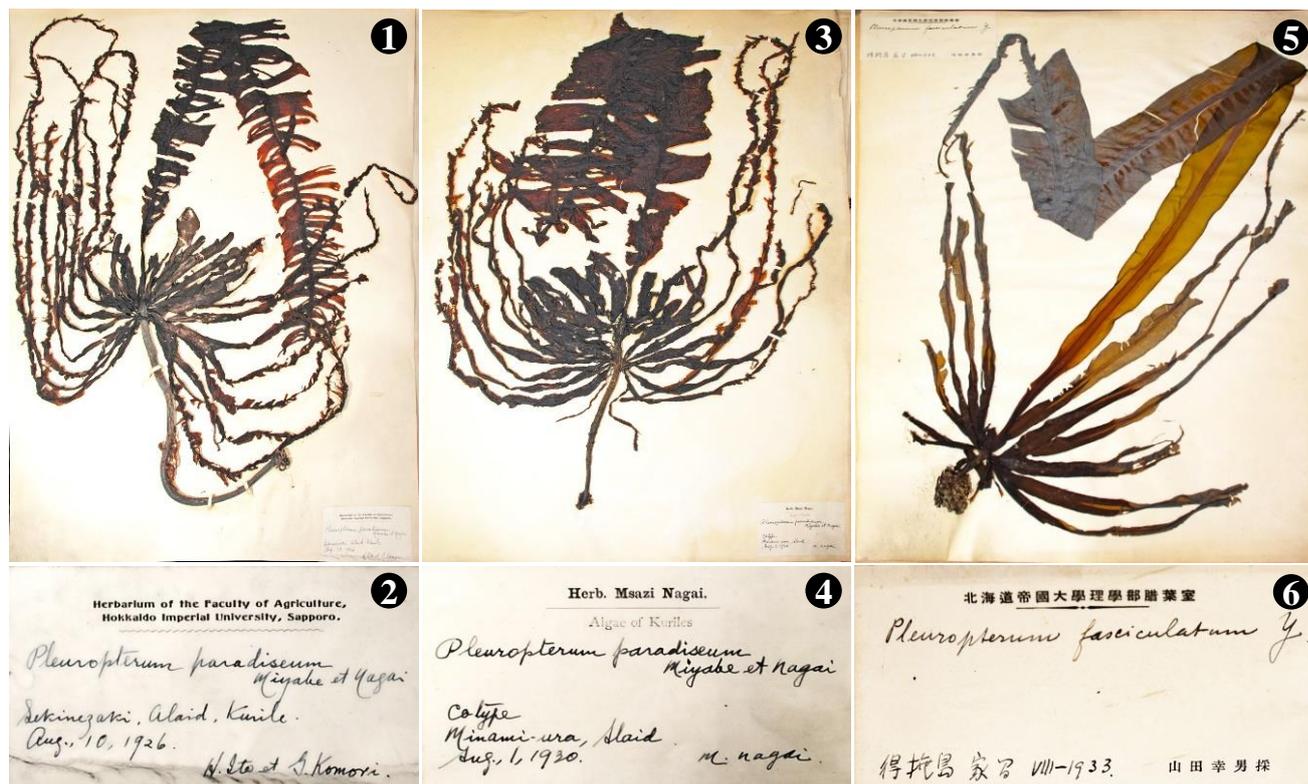


Рисунок 21 – Типовые образцы *Alaria paradisea*, хранящиеся в гербарии Музея естественной истории университета Хоккайдо (SAP). 1, 2 – лектотип вида, собранный Х. Ито и Г. Комори 10 августа 1926 г. у мыса Лава (о. Атласова). 3, 4 – котип, собранный М. Нагаи 1 августа 1930 г. в бух. Тройка (о. Атласова). 5, 6 – синтип с о. Уруп.

Авторы базионима отнесли его к семейству Alariaceae, отметив, что этот род наиболее близок к представителям рода *Alaria*, но отличается от него гетероморфностью развивающихся на рахисе спороносных листочков. Одни из них похожи на обычные спорофиллы у аларий (т.е. без жилки), а другие имеют хорошо выраженную центральную жилку, причем разными авторами эти морфологические образования назывались по-разному. Так, К. Миябе и М. Нагаи называли их «стерильными перышками» («sterile pinnae»; Miyabe, Nagai, 1933; Nagai, 1940), Е. Ямада – «листочками с жилкой» («leaflets with midrib»; Yamada,

1935), а Т.Б. Виддоусон – «стерильными боковыми ветвями» («sterile side branches»; Widdowson, 1971). Наши исследования хранящихся в КамчатГТУ образцов *Alaria paradisea* показали, что эти морфологические образования не являются стерильными и на них, как и на обычных спорофиллах, может развиваться спороносная ткань. Таким образом, поскольку они выполняют репродуктивную функцию, обычные спорофиллы *Alaria paradisea* без жилок мы называем α -спорофиллами, а с жилкой – β -спорофиллами.

В ходе ревизии рода *Alaria* в Мировом океане Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971) упразднил род *Pleuropterum*, предложив новую номенклатурную комбинацию для его единственного вида *P. paradiseum*: *Alaria paradisea* (Miyabe et Nagai) Widdowson. В качестве лектотипа он выделил образец, представленный на рисунке 21.1–21.2 и упразднил все ранее описанные формы этого вида, поскольку считал, что β -спорофиллы у *Pleuropterum* являются «результатом мутации» и что «... разные виды *Pleuropterum* более близки определенным видам *Alaria*, чем между собой» (по Widdowson, 1964, С. 41), и что для выделения самостоятельного рода *Pleuropterum* было «недостаточно основывать генетическое различие по единственному [морфологическому] признаку» (Widdowson, 1971, С. 24). При этом он не дал пояснение, о какой именно мутации шла речь. Также отметим, что в Японии Т.Б. Виддоусон работал с ограниченным количеством образцов и не видел гербарные образцы этого вида, хранящиеся в БИНе (LE), а также не имел возможности собрать новые образцы на Курилах. В ходе наших исследований было выявлено, что у *A. paradisea* β -спорофиллы являются устойчивым морфологическим признаком, отличающим ее от всех известных в настоящее время аларий. Забегая вперед скажем, что, несмотря на это существенное морфологическое отличие, генетически этот вид попадает в кладу аларий.

4.3. Молекулярно-филогенетический анализ алариевых водорослей прикамчатских вод

В любом биологическом исследовании, имеющем дело с изучением живых организмов, полученные результаты не имеют ценности, пока не установлена их таксономическая принадлежность. Для верификации видовой идентификации изучаемых нами алариевых водорослей прикамчатских вод нами был выполнен их молекулярно-филогенетический анализ по трем последовательностям ДНК: из хлоропластов (Rubisco), ядра (рДНК) и митохондрий (цитохромоксидаза субъединица 1, COI), поскольку эти маркеры являются универсальными при проведении подобных исследований в порядке Laminariales (Yoon et al., 1999; Lane et al., 2006, 2007; Klochkova et al., 2017). Полученные нами новые сиквенсы аларий были зарегистрированы в базе данных NCBI (2018) с присвоением следующих порядковых номеров:

- MG913356–MG913359 (*Alaria paradisea*, COI) – ранее указывалась для флоры Курильских островов как *Pleuropterum paradiseum*;
- MG913356–MG913359 (*A. paradisea*, рДНК);
- MG993131 (*Alaria esculenta* f. *angustifolia*, COI) – ранее указывалась для флоры восточной Камчатки как *Alaria angusta*;
- MG993136 (*A. esculenta* f. *angustifolia*, рДНК);
- MG993133 (*A. esculenta* f. *angustifolia*, Rubisco);
- MG993132 (*Alaria esculenta* f. *latifolia*, COI) – ранее указывалась для флоры восточной Камчатки как *Alaria marginata*;
- MG993137 (*A. esculenta* f. *latifolia*, рДНК);
- MG993134 (*A. esculenta* f. *latifolia*, Rubisco);
- MG993135 (*A. esculenta*, рДНК) – образец, собранный в 2009 г. в Нью-Олесунне (Конгс-фьорд, о. Свальбард, архипелаг Шпицберген). Этот образец был собран Т.А. Клочковой и включен в наш анализ, поскольку типовым местообитанием *A. esculenta* является Атлантический океан. Хотя в Генбанке NCBI зарегистрировано много сиквенсов этого вида из Атлантического океана

(Исландия, Норвегия, Франция) и Тихого океана (Канада, США (Аляска)), нам было важным проанализировать собственный образец настоящей *A. esculenta* из типового местообитания, т.е. из Атлантики. Особо отметим, что морфология растений *A. esculenta* из Конгс-фьорда совпадает с *A. esculenta* f. *latifolia* из Авачинской губы. Так, у них широкая пластина примерно одинаковой длины и крупные округло-вытянутые листочки спорофиллов. Сорусы спорангиев у исследованных нами растений из обоих регионов развивались у основания спорофиллов (рис. 22).



Рисунок 22 – Морфология образцов *Alaria esculenta* f. *latifolia* из Авачинской губы (1–2, ранее указывалась для флоры восточной Камчатки как *A. marginata*) и *A. esculenta* из Конгс-фьорда, о. Свальбард (3–4). 1, 3 – растения в природных зарослях. 2, 4 – гербарные образцы. Стрелкой показаны места образования сорусов спорангиев у основания спорофиллов.

Нами впервые был выполнен молекулярно-филогенетический анализ редкого Курильского эндемика *A. paradisea*. Как уже говорилось выше, в отношении этого вида ведутся многолетние научные споры, поскольку отечественные альгологи не приняли точку зрения Т.Б. Виддоусона (Widdowson, 1971) о включение *Pleuropterum paradiseum* в род *Alaria* на основе морфологических признаков. Мы нашли 4 растения этого вида на о. Уруп в 2015 г. и проанализировали их по наиболее репрезентативным и информативным в таксономическом отношении маркерам – ITS1, ITS2 и COI. При определении родовой принадлежности *A. paradisea* мы следуем сложившимся традициям и отдаем предпочтение молекулярным данным, хотя наличие у нее разных по морфологии спорофиллов (т.е. с жилкой и без нее) – устойчивый признак, отличающий этот вид от всех известных аларий. В традиционной систематике он был достаточным для выделения *P. paradiseum* в самостоятельный род, поскольку многие другие близкие к *Alaria* роды семейства Alariaceae, как и *A. paradisea*, отличаются от нее также только одним признаком (Klimova et al., 2018).

Однако в настоящее время в связи с развитием методов молекулярно-генетического анализа систематика водорослей становится все более запутанной, поскольку для определения таксономического положения родов и видов все чаще используются только молекулярные данные без учета морфолого-анатомических особенностей изучаемых таксонов. Тенденции современной альгологии таковы, что описывать новые роды и виды и производить номенклатурные изменения сейчас принято на основе молекулярных данных (De Clerck et al., 2013). В систематике ламинариевых водорослей этим особенно отличается группа канадских альгологов под руководством Г.В. Сондерса (Lane et al., 2006, 2007; Jackson et al., 2017). При этом единого мнения о таксономической ценности молекулярно-генетических признаков среди альгологов нет, как и нет единых требований к выбору секвенируемых генов и интерпретации сиквенсов. Так, анализ данных по систематике некоторых ламинариевых (Cho et al., 2006; Lane et al., 2006; Boo et al., 2011; Jackson et al., 2017), красных пластинчатых (Sutherland et al., 2011), зеленых хламидомонадовых (Klochkova et al., 2008) и кораллиновых водорослей

(Hind et al., 2014) показывает, что в каждой из этих групп близкие по морфологии виды на основе молекулярных данных попадают в разные роды и, наоборот, очень далекие в морфологическом отношении виды оказываются в составе одного рода. Чем больше появляется новых молекулярных данных, тем более обесцениваются традиционные принципы систематики водорослей, основанные на выделении видоспецифических морфолого-анатомических признаков, а в Генбанке NCBI (2018) быстрыми темпами нарастает объем информации, не имеющей таксономической ценности. Так, к началу 2018 г. там было зарегистрировано несколько миллионов сиквенсов, зарегистрированных как *cf.* (т.е. с предварительной идентификацией изученного образца), *sp.* (т.е. с не установленной видовой принадлежностью изученного образца) и *unknown/unclassified* (т.е. неизвестный/неопределенный образец) (NCBI, 2018).

Для «ДНК-штрихкодирования» и закрепления за определенным видом сиквенсов его нуклеотидных/аминокислотных последовательностей в идеале следовало бы использовать результаты изучения его типового образца, но для видов, описанных в прошлом и позапрошлых веках они настолько старые, что не пригодны для молекулярно-филогенетических исследований. Так, выделить неповрежденную ДНК из старых гербарных образцов ламинариевых водорослей оказалось невозможным (Klochko et al., 2010). Это связано с тем, что растительные клетки со временем подвергаются деградации, особенно это касается ламинариевых водорослей, клеточные стенки которых включают маннит, альгиновые и глюкуроновые кислоты. В случаях невозможности использования типовых образцов их следовало бы заменять растениями из типовых местообитаний, имеющими все характерные для данного вида признаки. Однако, число альгологов, следующих этим нормам, в настоящее время, к сожалению, неуклонно сокращается, а работа с типовыми образцами и образцами из типовых местообитаний или хотя бы близких к ним географических районов часто игнорируется. В своей работе мы использовали образцы, точно попадающие под морфологическое описание исследуемых нами видов, собранные в типовых местообитаниях или близких к ним районах (рис. 23–25).

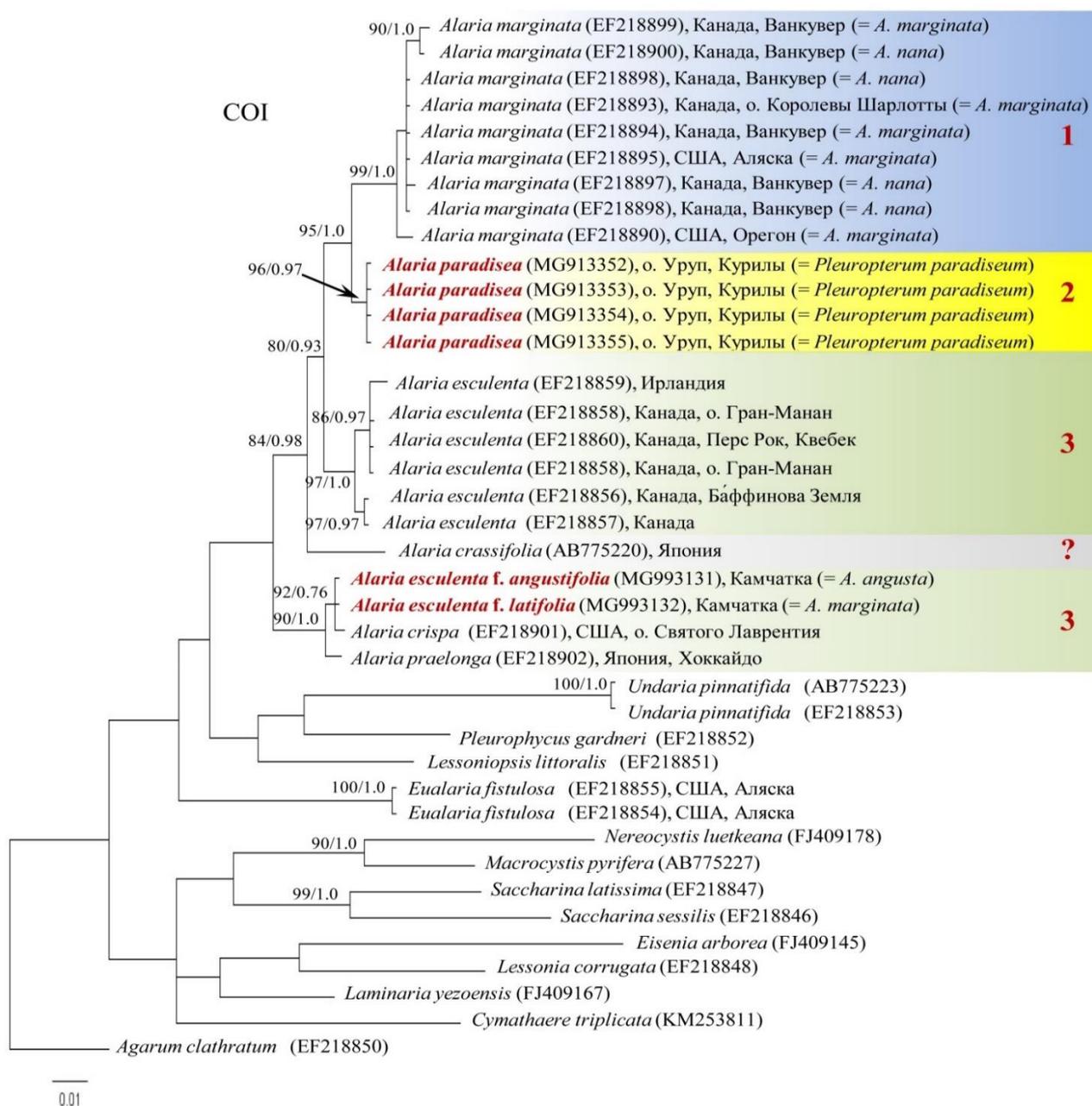


Рисунок 23 – Филогенетическое древо представителей порядка Laminariales по гену цитохромоксидаза субъединица 1 (COI). Значения напротив ветвей древа – статистический бутстрэп/апостериорная вероятность сходства (учитывались только значения выше 75). Исследованные нами образцы алариевых водорослей обозначены красным шрифтом. Среди представителей рода *Alaria* выделены 3 комплекса видов (отмечены заливкой фона и нумерацией).

Примечание: использованный в анализе сиквенс *Alaria praelonga* (EF218902) не может считаться «типовым сиквенсом» для этого вида, поскольку образец был собран в Японии. Типовое местообитание этого вида – о. Беринга, Командорские острова. Сиквенс *Alaria crispa* целесообразно считать «типовым» для этого вида. Хотя Т.Б. Виддоусон (Widdowson, 1971) указал 2 типовых местообитания для *A. crispa* – о. Святого Лаврентия (Аляска) и залив Лаврентия (Чукотка), расстояние между ними 80 км. Образец *A. crispa* для секвенирования (EF218901) был собран у о. Святого Лаврентия.

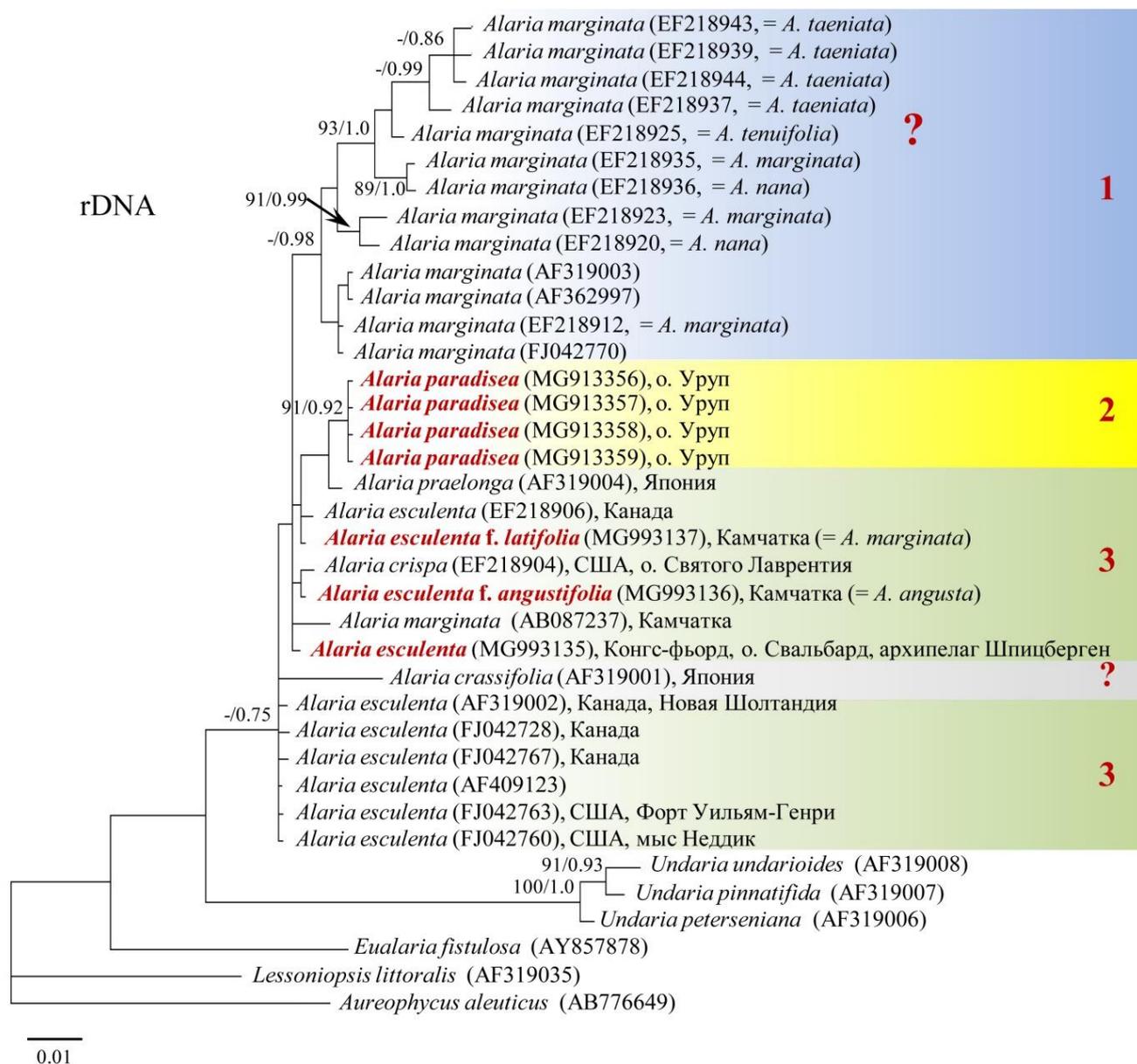


Рисунок 24 – Филогенетическое древо представителей порядка Laminariales по рДНК (включает 18S, ITS1, 5,8S, ITS2, 28S). Значения напротив ветвей древа – статистический бутстрэп/апостериорная вероятность сходства (учитывались только значения выше 75. В случаях, когда статистический бутстрэп был ниже 75 ставился прочерк «-»). Исследованные нами образцы алариевых водорослей обозначены красным шрифтом. Среди представителей рода *Alaria* выделены 3 комплекса видов (отмечены заливкой фона и нумерацией).

Примечание: использованные в анализе сиквенсы *Alaria praelonga* (AF319004) не могут считаться «типовыми сиквенсами» для этого вида, поскольку образцы были собраны в Японии. Типовое местообитание этого вида – о. Беринга, Командорские острова. Сиквенс *Alaria marginata* (AB087237) целесообразно считать *Alaria esculenta*, однако невозможно определить в какой форме вида принадлежало это растение. Оно было собрано в Авачинской губе японским альгологом Хироши Кавай в июле 1998 г. Процент сходства между этим образцом и нашими образцами *A. esculenta* f. *angustifolia* и f. *latifolia* равен 98,8%.

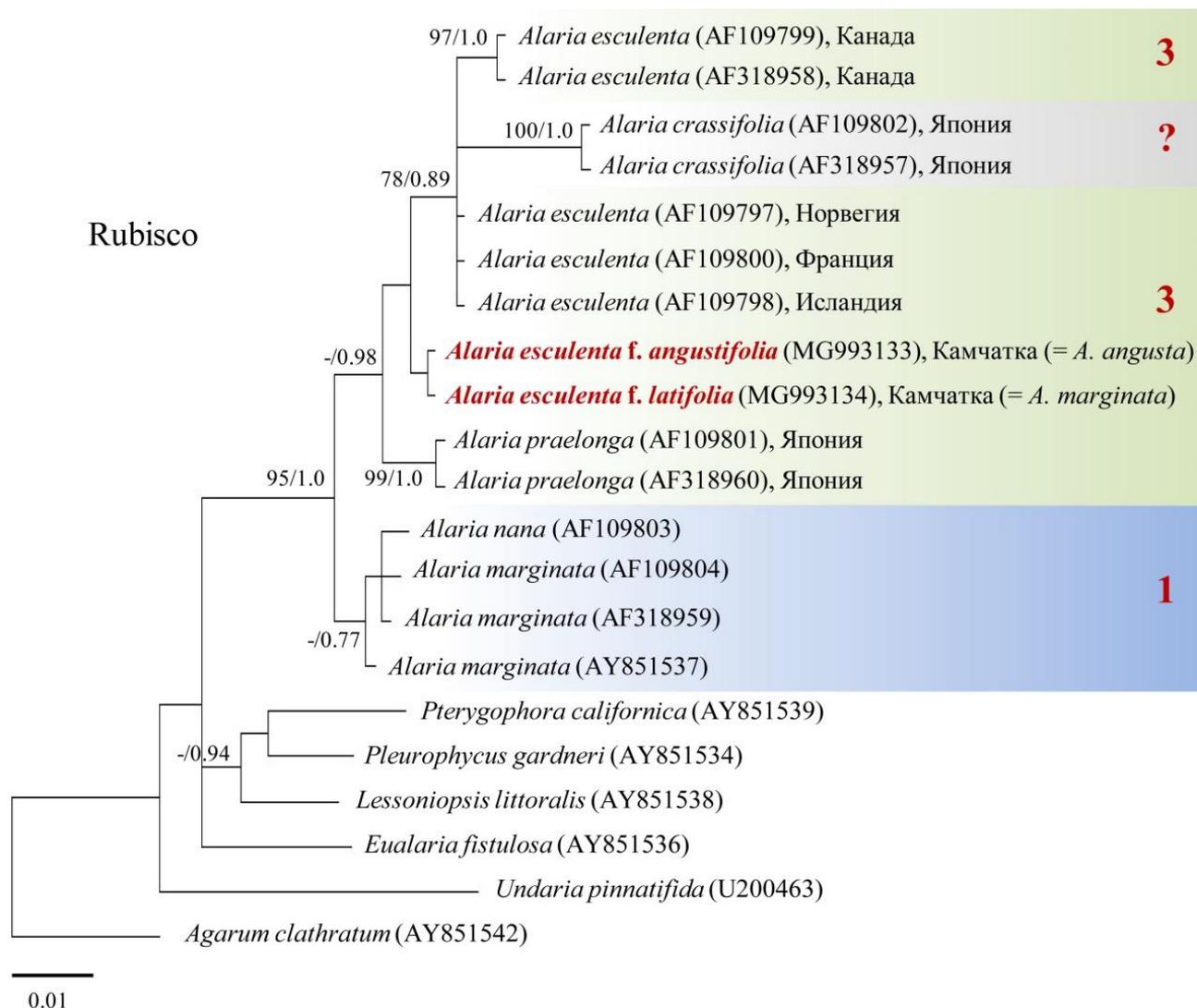


Рисунок 25 – Филогенетическое древо представителей порядка Laminariales по Rubisco. Значения напротив ветвей древа – статистический бутстрэп/апостериорная вероятность сходства (учитывались только значения выше 75. В случаях, когда статистический бутстрэп был ниже 75 ставился прочерк «-»). Исследованные нами образцы алариевых водорослей обозначены красным шрифтом. Среди представителей рода *Alaria* выделены 3 комплекса видов (отмечены заливкой фона и нумерацией).

Примечание: использованные в анализе сиквенсы *Alaria praelonga* (AF109801, AF318960) не могут считаться «типовыми сиквенсами» для этого вида, поскольку образцы были собраны в Японии. Типовое местообитание этого вида – о. Беринга, Командорские острова. Сиквенс *Alaria nana* (AF109803) целесообразно считать *Alaria marginata*, поскольку процент сходства между *A. nana* и тремя образцами *A. marginata* в этой кладе равен 99,5–100%.

Молекулярная идентификация *Alaria paradisea*. Анализ древ по генам COI и рДНК, выстроенных методом байесовского вывода показал, что *A. paradisea* следует относить к роду *Alaria*. На обоих древах наши образцы сформировали

отдельную устойчивую кладу, поместившуюся между видами *A. marginata* и *A. esculenta*, т.е. они являются так называемыми «сестринскими группами» в роде *Alaria* (рис. 23–25). Генетическая разница между *A. paradisea* и другими представителями рода *Alaria* меньше, чем разница между некоторыми другими видами аларий. Так, процент сходства между *A. marginata* и *A. esculenta* по гену цитохромоксидаза субъединица 1 (COI) равен 96,7–97,2%, тогда как процент сходства между этими видами и *A. paradisea* равен 98,0–98,4% и 97,0–97,2%, соответственно (рис. 23). Разница между сиквенсами COI вида *A. paradisea* и другими алариями выражалась в транзиции, т.е. в замене тимина на цитозин и аденина на гуанин. Следует отметить, что в пределах рода *Alaria* в сиквенсах COI регистрировали транзиции, при этом они не изменяли аминокислотную последовательность белка (рис. 26). Среди разных родов представителей семейства Alariaceae наряду с транзициями регистрировали трансверсии, т.е. замену пуринового основания на пиримидиновое или наоборот, что изменяло аминокислотную последовательность белка (например, происходила замена глицина на аланин или изолейцина на валин). По рДНК (включает 18S, ITS1, 5,8S, ITS2, 28S), разница между сиквенсами разных видов аларий выражалась, в основном, в инсерции и делеции нуклеотидов. Сходство между *A. marginata* и *A. crassifolia* по рДНК составляет 93,5%, тогда как сходство между ними и *A. paradisea* составляет 95,24–95,38% и 95,58%, соответственно, т.е. в среднем на 2% больше (рис. 24). При этом морфологически *A. paradisea* отличается от всех известных видов аларий наличием на рахисе β -спорофиллов с жилкой. Это указывает на необходимость пересмотра таксономического диагноза рода *Alaria* с учетом этого признака.

Говоря о современном распространении этого вида, отметим, что в период 1993–2001 гг. у островов Атласова, Шумшу и Парамушир сотрудниками СахНИРО несколько раз проводились комплексные гидробиологические исследования. В них особое внимание уделялось изучению запасов и распределению ламинариевых водорослей (Огородников, 2007). Однако *A. paradisea* в ходе этих исследований не встретилась. Мы полагаем, что

исчезновение вида у о. Атласова может быть связано с регулярной высокой сейсмической активностью вулкана Алаид, расположенного в центре острова, поскольку подводные фумаролы способствуют изменению температуры, химического состава и pH морской воды. Кроме того, в весенний период в морскую воду попадают терригенные стоки, несущие в себе вулканический пепел и обломочный материал. Значительное влияние вулкана Алаид на наземную флору острова отмечали С.Ю. Гришин с соавторами (2009).

A. paradisea указывалась ранее в бух. Броутона у о. Симушир (Nagai, 1940). В августе 2015 г. автор диссертации проводила альгофлористические сборы на литорали и в сублиторальной кайме у о. Симушир и не обнаружила этот вид. С одной стороны, это можно объяснить редкой встречаемостью *A. paradisea*, с другой может свидетельствовать о сокращении ее ареала за последние десятилетия. В связи с этим нами было выдвинуто предложение включить *A. paradisea* в список охраняемых редких видов для флоры Курильских островов (Климова и др., 2017; Klimova et al., 2018).

Молекулярная идентификация *Alaria esculenta* f. *angustifolia* и f. *latifolia*.

Как показывают результаты выполненного нами секвенирования ДНК, таксоны, традиционно определяемые в Авачинской губе как *A. angusta* и *A. marginata*, на 99,8–100% идентичны в генетическом отношении (по COI – 100%, рДНК – 99,8%, Rubisco – 100%), т.е. являются одним биологическим видом (рис. 23–25). При этом они также имеют высокий процент генетического сходства с атлантическими растениями *A. esculenta* (по COI – 96,5–96,9%, рДНК – 94,5–98,8%, Rubisco – 98,7–99,3%). Совпадение наших камчатских образцов с *A. esculenta* из Конгс-фьорда (о. Свальбард) по рДНК составляет 99,8%. Мы полагаем, что в настоящее время наиболее целесообразно относить наши камчатские образцы к разным формам *A. esculenta*: f. *angustifolia* и f. *latifolia*, поскольку несмотря на генетическое совпадение, они отличаются в морфологическом отношении. Однако мы не исключаем, что в будущем *A. esculenta* может быть разделена на несколько видов, и подгруппе, включающей камчатские образцы, будет дано другое видовое название. Для окончательного выяснения этого вопроса необходимо выполнить

молекулярно-филогенетический анализ всех указываемых в северной Пацифике видов аларий, особенно описанных Ф.Р. Челльманом с Командорских островов (Kjellman, 1889).

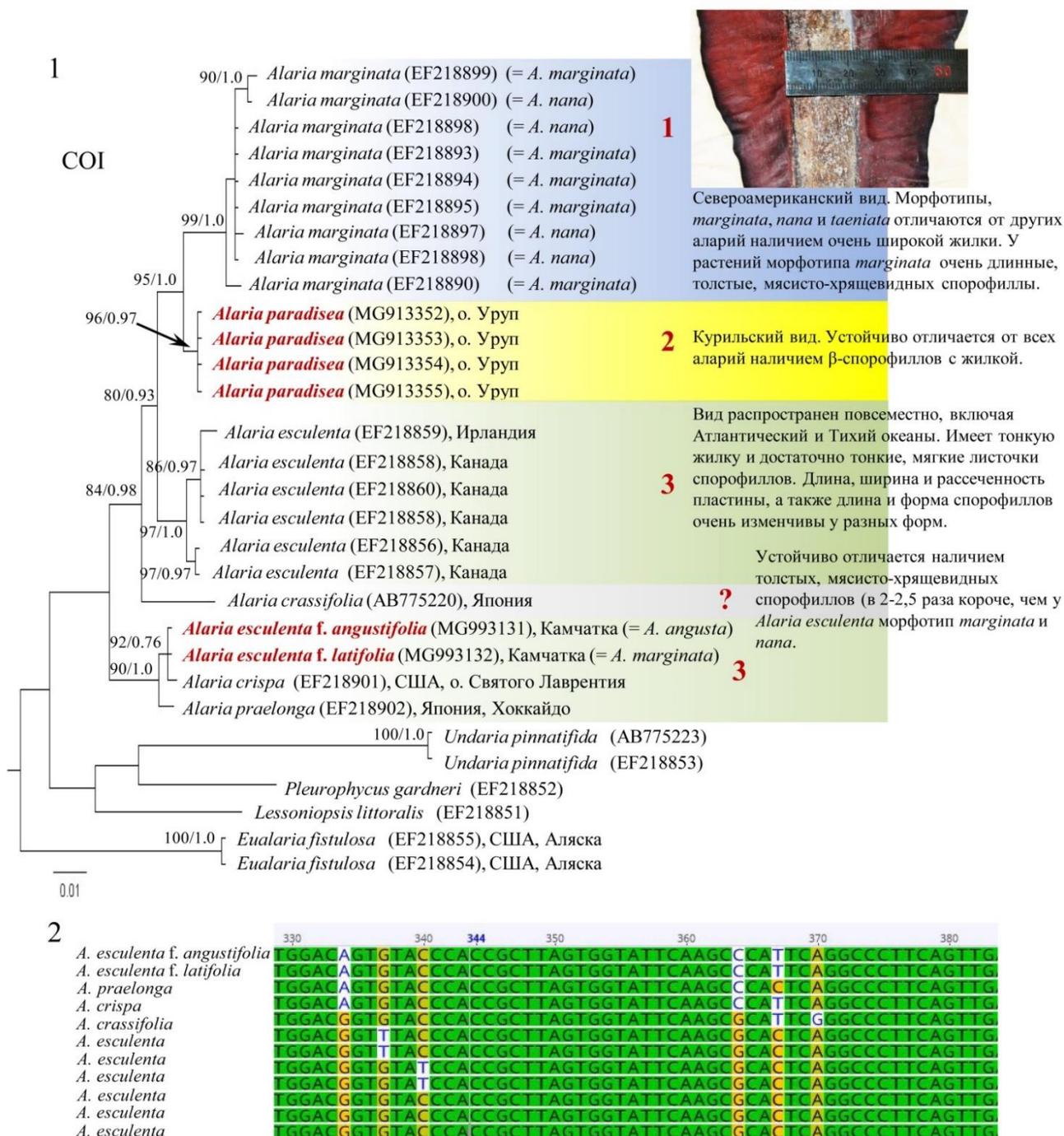


Рисунок 26 – Филогенетическое древо представителей семейства Alariaceae по гену цитохромоксидаза субъединица 1 (COI) и пример различий между сиквенсами в пределах рода *Alaria* (транзиции: замена тимина на цитозин, аденина на гуанин). Все обозначения на древе соответствуют таковым на рис. 23. Среди представителей рода *Alaria* выделены 3 комплекса видов (отмечены заливкой фона и нумерацией), которые целесообразно считать конспецифичными и приведены их таксономические признаки.

Рассуждая о картине построенных нами филогенетических древ, мы считаем, что род *Alaria* включает намного меньшее количество видов, чем их для него описано. Несколько из них полиморфные, т.е. способны существовать в разных внешних формах, например, *A. marginata* и *A. esculenta*. Внешний полиморфизм может быть обусловлен внутривидовыми генетическими различиями, что наглядно подтверждает анализ сиквенсов этих видов. С другой стороны, в случае с алариями имеет место и полиморфизм, при котором практически идентичные в генетическом отношении таксоны в зависимости от внешних условий (т.е. экологии произрастания) приобретают различные фенотипические формы. Мы считаем, что подобный случай наглядно демонстрируется камчатскими формами *A. esculenta* – f. *angustifolia* и f. *latifolia*.

В работе К. Лейна с соавторами (Lane et al., 2007) на основании только молекулярно-филогенетических данных в синонимы вида *A. marginata* были сведены такие виды как *A. nana*, *A. taeniata*, *A. tenuifolia*, формы видов *A. fragilis* f. *bullata*, *A. tenuifolia* f. *amplior*, а также упразднены форма и сорт *A. marginata*, f. *nana* и var. *musiformis*. Ранее считалось, что все указанные выше таксоны характеризуются значительными морфологическими различиями, однако в статье Lane et al. (2007) они даже не обсуждаются. Также отметим, что из всех сведенных в единый таксон видов, форм и сорта, авторы секвенировали только растения, определенные ими как *A. marginata*, *A. nana*, *A. taeniata* и *A. tenuifolia*, т.е. остальные таксоны были сведены в синонимы умозрительно. Мы согласны в отношении того, что четыре исследованных таксона являются конспецифичными, однако полагаем, что в подобных случаях следует выделять морфологические формы и/или объяснять морфологическую изменчивость с экологической точки зрения. В своей работе авторы не показали растения, которые по их определению являются *A. marginata*, *A. nana*, *A. taeniata* и *A. tenuifolia* (Lane et al., 2007). Морфология канадских растений *A. marginata* (т.е. с широкой жилкой, см. комментарий П. Сильвы в разделе 4.2), *A. nana* и *A. taeniata* до определенной степени схожа (рис. 27), при этом отличается от описания морфологии *A. tenuifolia* (Setchell, Gardner, 1903). В литературных

источниках и интернете нет информативного изображения последнего вида, т.е. неизвестно, что к нему относят североамериканские альгологи. Единственное изображение старого гербарного образца растения, определенного как *A. tenuifolia*, представлено на портале гербария водорослей-макрофитов Полевого музея естественной истории (<http://macroalgae.org/portal/index.php>). Насколько можно судить по нему (рис. 28), у этого вида мягкие листочки спорофиллов и узкая жилка. Также отметим, что типовое местообитание *A. taeniata* – о. Беринга на Командорах, однако в статье Lane et al. (2007) использовались образцы с побережья Северной Америки.

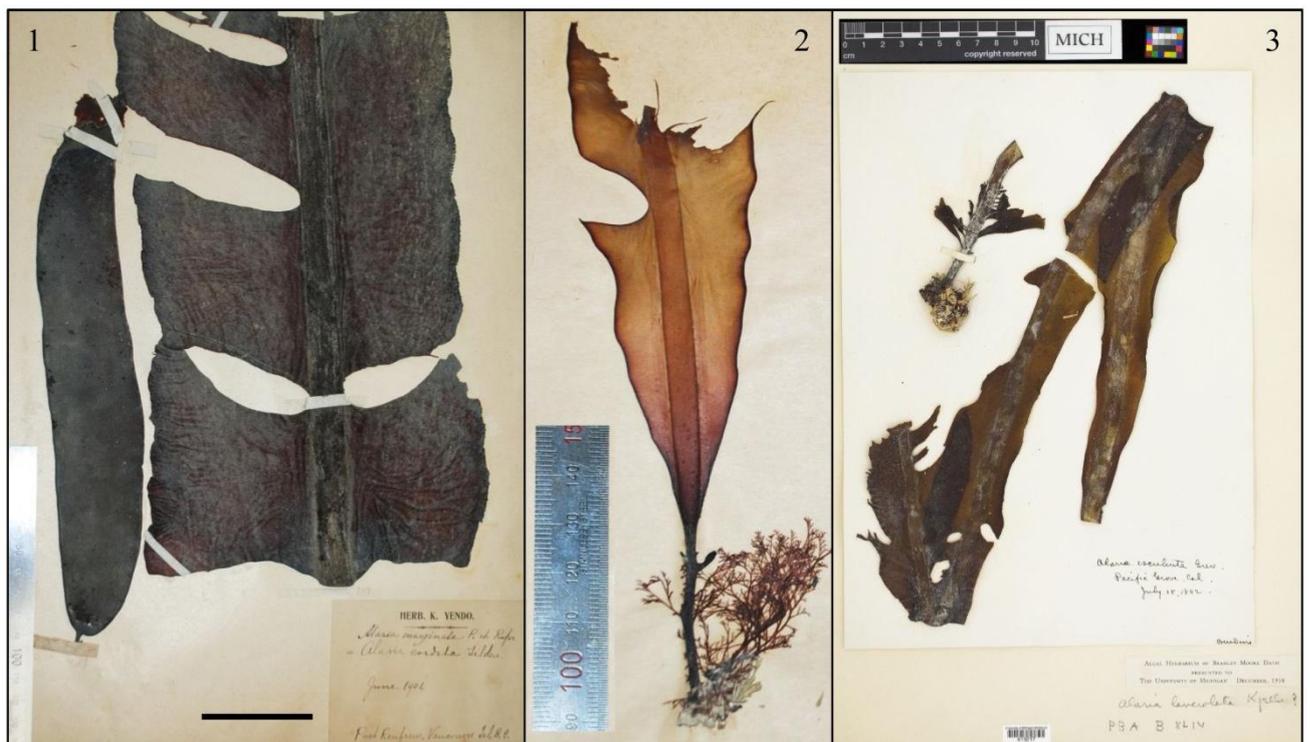


Рисунок 27 – Образцы *Alaria marginata* (1) и *Alaria nana* (2), собранные в июле 1901 г. у побережья Ванкувера и хранящиеся в гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP) и образец *Alaria taeniata*, представленный на портале гербария водорослей-макрофитов Полевого музея естественной истории (<http://macroalgae.org/portal/index.php>) (идентификационный номер изображения: be4336bb-9afa-4099-b2c8-b2a8261d6fb7). У всех растений широкая жилка (масштабная линейка для рис. 1: 5 см).

Мы разделили представителей рода *Alaria*, для которых существуют молекулярные данные, на 3 группы, далее называемые нами «комплексы видов». Два из них – комплексы «*A. esculenta*» и «*A. marginata*», являются полиморфными. На рисунке 26 приведены таксономические признаки, по которым собранные в

природе растения можно условно отнести к этим группам, однако дальнейшее определение внутри каждой из них должно основываться на результатах анализа ДНК, поскольку выделенные признаки не применимы ко всем видам внутри них или перекрываются с признаками видов в другой группе.

– Группа 1: полиморфный вид *A. marginata* – распространен у берегов Северной Америки. Выделенные в статье Lane et al. (2007) морфотипы *marginata*, *nana* и *taeniata* отличаются наличием очень широкой жилки. У морфотипа *marginata* очень длинные, эллипсоидно-вытянутые, толстые, мясисто-хрящевидные спорофиллы (рис. 27). В случае морфотипа *tenuifolia* эти признаки не могут быть использованы.



Рисунок 28 – Образец *Alaria tenuifolia*, представленный на портале гербария водорослей-макрофитов Полевого музея естественной истории (<http://macroalgae.org/portal/index.php>) (идентификационный номер изображения: 85257642-c15d-4cb4-99db-b72f20eccfa2).

Очевидно, что у этого вида мягкие тонкие листочки спорофиллов, отличающиеся от длинных, эллипсоидно-вытянутых, толстых, мясисто-хрящевидных спорофиллов *Alaria marginata*. Тем не менее, эти виды были сведены в один по результатам сравнения сиквенсов рДНК.

– Группа 2: *A. paradisea* – распространена у берегов Курильских островов. Устойчиво отличается от всех аларий наличием на рахисе β -спорофиллов с жилкой.

– Группа 3: полиморфный вид *A. esculenta* – распространена повсеместно,

включая Атлантический и Тихий океаны. Имеет относительно тонкую жилку и достаточно тонкие, мягкие листочки спорофиллов. Длина, ширина и рассеченность пластины, а также длина и форма спорофиллов очень изменчивы у разных форм.

В настоящее время в последнюю третью группу мы также относим виды *A. crispa* и *A. praelonga* (рис. 29), хотя делать какие-либо выводы по ним очень рано. Эти виды являются спорными, поскольку на филогенетических деревьях, построенных по разным генам, их положение неустойчиво. Зарегистрированные в NCBI (2018) сиквенсы *A. praelonga* нельзя считать «типовыми сиквенсами» для этого вида, поскольку образцы для анализа были собраны в Японии, а типовое местообитание этого вида – о. Беринга, Командорские острова. Кроме того, анализ японских образцов *A. praelonga*, хранящихся в гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP), дает основание предполагать, что у японских альгологов нет четкого представления о морфологии этого вида (рис. 29).



Рисунок 29 – Образцы *Alaria praelonga*, собранные у побережья Японии и хранящиеся в гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP). Все три образца различаются формой, длиной и плотностью спорофиллов. Достоверно неизвестно какие именно растения использовали для выделения ДНК авторы сиквенсов *A. praelonga*.

В третьей группе есть еще один «проблемный» вид – *A. crassifolia* (рис. 30), поскольку на филогенетических деревьях по рДНК и Rubisco он помещается между

образцами, определенными как *A. esculenta*, при этом отличается от всех других аларий в этой группе наличием толстых, мясисто-хрящевидных спорофиллов (рис. 31). Поскольку авторы зарегистрированных в NCBI (2018) сиквенсов не показали в своей работе растения, которые по их определению являются *A. crassifolia*, это делает невозможным дальнейшие рассуждения в отношении этого таксона. В гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP) в папке «*A. crassifolia*» лежат образцы с очень различающейся морфологией спорофиллов (рис. 30), что дает основание предполагать, что у японских альгологов мнение в отношении идентификации этого вида не совпадает.



Рисунок 30 – Образцы *Alaria crassifolia*, собранные у побережья Японии и хранящиеся в гербарии Музея естественной истории Университета Хоккайдо (SAP). Толщина и плотность спорофиллов у этих растений разная. Достоверно неизвестно какие именно растения использовали для выделения ДНК авторы сиквенсов *A. crassifolia*.

По нашему мнению, молекулярно-филогенетический анализ отдельных видов рода *Alaria* вовсе не дал окончательного ответа на вопрос их точной идентификации, он скорее обозначил необходимость продолжать исследования в

этом направлении. Пока результаты изучения алариевых водорослей прикамчатских вод подтвердили следующее:



Рисунок 31 – Природные заросли *Alaria crassifolia* (г. Муроран, Хоккайдо, Япония, 2015 г.). Стрелками показаны характерные этому виду очень толстые, мясисто-хрящевидные спорофиллы.

– Виды *A. angusta* и *A. marginata* должны быть исключены из флоры восточной Камчатки. Растения, традиционно определяемые в этом регионе как *A. angusta* и *A. marginata* являются формами вида *A. esculenta*: f. *angustifolia* (узколистная) и f. *latifolia* (широколистная), соответственно. Таким образом, во флору юго-восточной Камчатки должен быть включен вид *A. esculenta*. При этом

мы не закрываем вид *A. angusta*, поскольку для подтверждения его таксономического статуса необходимо исследовать образцы из типового местообитания – о. Беринга (Командорские острова).

– Вид *Pleuropterum paradiseum* должен быть включен в род *Alaria* как *A. paradisea* на основе молекулярно-филогенетического анализа. В настоящее время это единственный мономорфный вид в роде *Alaria*.

ГЛАВА 5. ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ ИЗУЧЕННЫХ ВИДОВ И ИХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НА РАННИХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ

5.1. Развитие *Alaria esculenta* f. *angustifolia*

Для получения гаметофитов *A. esculenta* f. *angustifolia* в лабораторных условиях проводили стимуляцию спороносной ткани как описано в главе 2.2. Погружение простимулированных спорофиллов *A. esculenta* f. *angustifolia* в стерильную морскую воду через 15–20 мин вызывало массовый выход жизнеспособных зооспор. Они имели типичную для ламинариевых водорослей грушевидную форму и достигали 6,5–8 мкм длины и 4,5 мкм ширины. Локомоторная активность у большинства зооспор сохранялась в течение двух часов после выхода из зооспорангиев. Затем зооспоры оседали на субстрат, втягивали жгутики, становились округлыми (рис. 32.1) и превращались в толстостенные эмбриоспоры. Спустя 2–3 дня в эмбриоспорах происходило первое клеточное деление и появлялись двухклеточные гаметофиты (рис. 32.2). Через несколько дней женские и мужские гаметофиты уже отчетливо различались (рис. 32.3–32.7). При этом женские гаметофиты на начальном этапе развития были представлены двумя устойчивыми морфотипами: растениями со слабо разветвленными многоклеточными нитями шириной 15–25 мкм (рис. 32.3–32.4) и короткими нитями из 2–12 крупных округлых клеток 20–35 мкм в поперечнике (рис. 32.5). Взрослые мужские гаметофиты всегда имели вид многоклеточных густо разветвленных нитей с ветвями шириной 6–10 мкм (рис. 32.6–32.7); они были мельче и тоньше женских гаметофитов в 2–2,5 раза.

Клетки разнополых растений включали многочисленные мелкие пристеночные пластиды бурого цвета (рис. 32.3, 32.5–32.6) и одно крупное ядро (рис. 32.3, 32.5, 32.8–32.11). Ядра были значительно крупнее пластид и располагались обычно в центре клеток. У женских гаметофитов они хорошо просматривались даже под световым микроскопом. Диаметр ядер в клетках женских гаметофитов составлял 5 мкм, мужских – 4 мкм. Окрашивание клеток

флуоресцентным красителем MitoTracker показало, что в их апикальной части (рис. 32.3) и в околядерных цитоплазматических тяжах (рис. 32.5) концентрировались многочисленные митохондрии.

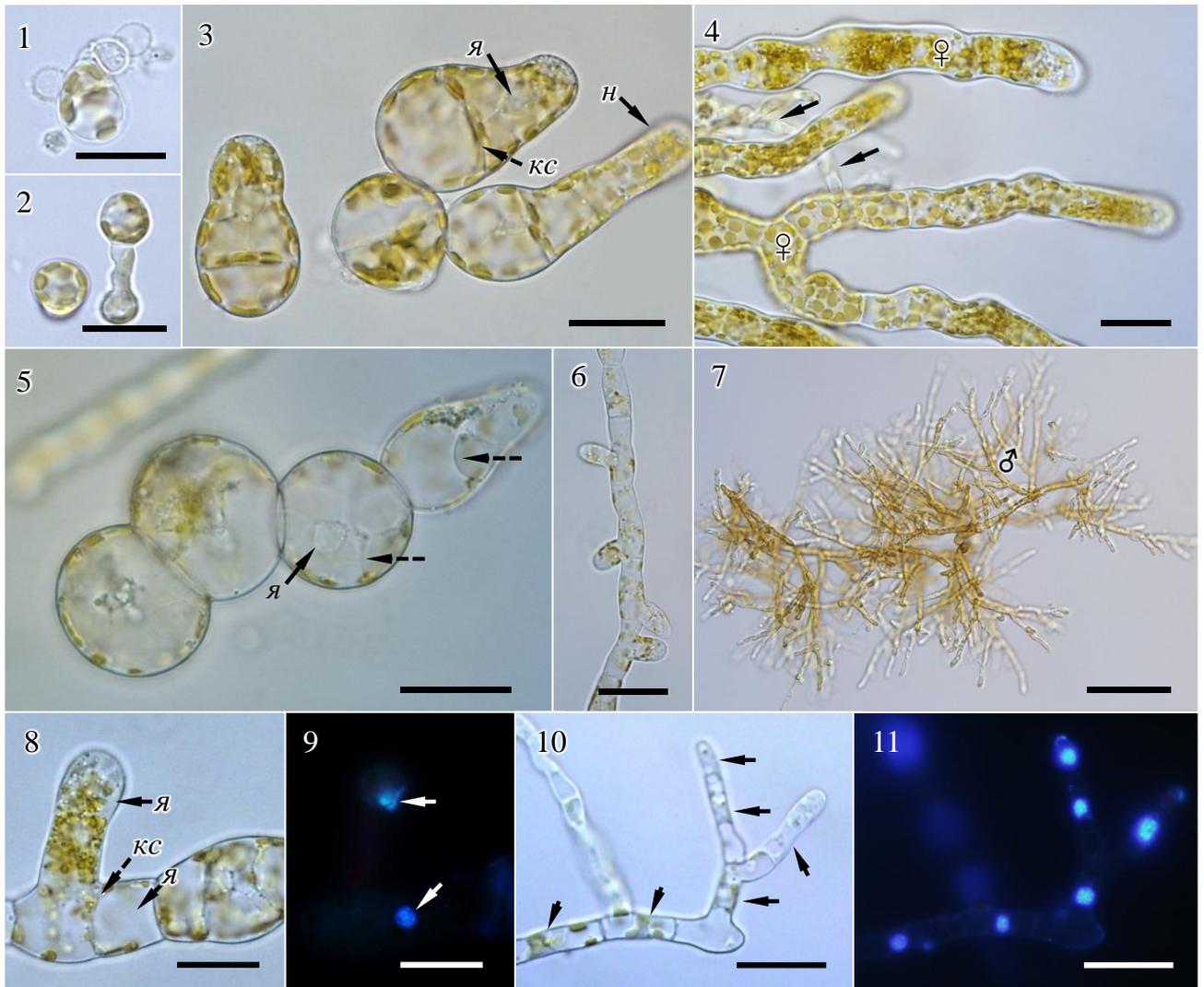


Рисунок 32 – Разные стадии развития гаметофитов *Alaria esculenta* f. *angustifolia*. 1 – осевшая зооспора; 2 – эмбриоспора (слева) и начавший рост гаметофит (справа); 3–4 – женские гаметофиты, формирующие узкие нити, стрелкой показаны тонкие нити мужского гаметофита; 5 – женский гаметофит, состоящий из крупных клеток, сплошная стрелка показывает ядро, пунктирная – околядерные цитоплазматические тяжи; 6 – нить стерильного мужского гаметофита; 7 – мужские гаметофиты; 8 – клетки женского гаметофита; 9 – те же клетки с окрашенными ядрами; 10 – фрагмент мужского гаметофита; 11 – тот же фрагмент с окрашенными ядрами. Масштаб: 1 – 5 мкм, 2 – 10 мкм, 3–6, 8–11 – 20 мкм, 7 – 60 мкм. Условные обозначения: кс – клеточная перегородка (септа), н – формирующаяся нить, я – ядро.

Продолжительность периода, в течение которого гаметофиты оставались стерильными, зависела от условий культивирования (табл. 8). Так, при температуре 6–7°C и естественном освещении они оставались стерильными почти

5 мес., а при температуре 10°C, освещении 30 $\mu\text{моль фотон}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота стерильные (одномесечные) гаметофиты формировали гаметангии уже на 10-й день культивирования (табл. 8).

Таблица 8

Развитие гаметофитов у *Alaria esculenta* f. *angustifolia* в искусственных условиях

Режим культивирования	Лабораторные условия			Сроки появления*		
	t, °C	Освещение	Фотопериод	Фертильных гаметофитов, день		Ювенильных спорофитов, день
				♀	♂	
I	6–7	Естественное	Естественный	144	144	145
II	10	Искусственное, 30 $\mu\text{моль фотон}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$	12 ч свет : 12 ч темнота	9 ⁺	9 ⁺	10 ⁺

* Примечание: 9⁺, 10⁺ – исходным материалом послужили стерильные культуры.

Органы полового размножения независимо от условий инкубирования гаметофитов развивались одинаково (рис. 33.1–33.7). В каждой гаметангии формировалась только одна половая клетка. Многочисленные антеридии (рис. 33.1–33.2) и оогонии (рис. 33.4–33.5) развивались практически из всех клеток осевой нити. Антеридии на мужских гаметофитах появлялись на несколько дней раньше, чем зрелые оогонии на одновозрастных женских растениях. Асинхронность формирования половых продуктов у *A. esculenta* f. *angustifolia*, как и у многих других растений, обеспечивает гетерозиготность ее природных популяций (Graham et al., 2009). Оогонии развивались в достаточно длинных боковых выростах, отходящих от многих клеток центральной оси нитчатого кустика (рис. 32.8, 33.4–33.5). Они были заполнены гранулированной цитоплазмой со множеством бесцветных везикул и пластид. Ядро из клетки, формирующей оогоний, перемещалось в его апикальную часть (рис. 32.8–32.9). Когда оогоний достигал определенной длины, почти вся цитоплазма материнской клетки перемещалась в его апикальную часть (рис. 33.6), уплотнялась, покрывалась

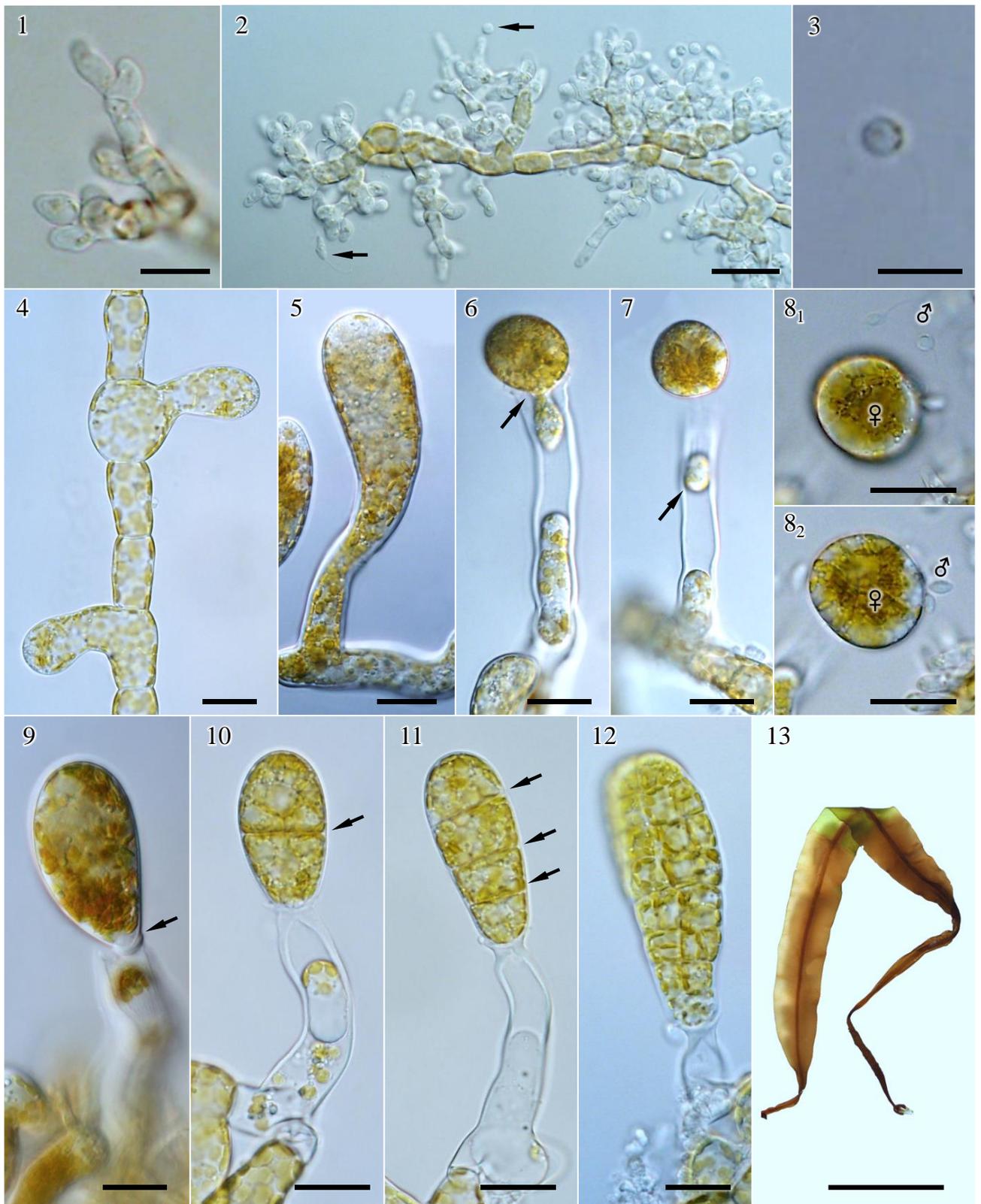


Рисунок 33 – Гаметогенез развитие спорофита у *Alaria esculenta* f. *angustifolia*. 1, 2 – зрелые антеридии и выходящие из них антерозоиды (стрелки); 3 – округлый антерозоид; 4 – начальная стадия формирования оогониев; 5 – взрослый оогоний перед началом формирования яйцеклетки; 6 – движение цитоплазмы к вершине оогония (стрелка); 7 – выход зрелой яйцеклетки из оогония, стрелкой показана оставшаяся в оогонии цитоплазма; 8₁–8₂ – одна и та же яйцеклетка при разной глубине резкости с окружающими ее антерозоидами; 9 – зигота, прикрепленная к оогонию маленькой подошвой (стрелка); 10–12 – поперечные деления ювенильного спорофита (стрелки);

Продолжение подписи к рисунку 33.

12 – однослойный проросток спорофита; 13 – спорофит через 10 мес. культивирования в лаборатории. Масштаб: 1, 3 – 10 мкм, 2, 4–12 – 20 мкм, 13 – 3 см.

плазмалеммой и формировала компактную округлую одноядерную яйцеклетку (рис. 33.7).

Незначительная часть цитоплазмы с множественными пластидами и бесцветным жидким веществом не участвовала в формировании генеративной клетки (рис. 33.7). По мере созревания яйцеклетки апикальная часть оогония подвергалась лизису и через образовавшееся отверстие половая клетка выходила наружу, но оставалась связанной с оогонием. После оплодотворения ее местоположение не менялось (рис. 33.8). Окрашивание яйцеклеток флуоресцентным красителем Nile Red показало, что свободные липидные капли, играющие роль запасных питательных веществ, в ее цитоплазме практически отсутствовали.

У зрелых яйцеклеток *A. esculenta* f. *angustifolia* в области их контакта с пустой оболочкой оогония нами были обнаружены жгутики (рис. 34). Впервые жгутики у яйцеклеток были описаны у *Saccharina angustata* (Motomura, Sakai, 1988; Motomura, 1991) и, хотя их функциональная роль не была исследована, авторы высказали предположение, что они являются рудиментарными структурами. После работ Т. Мотомуры аналогичные структуры у других

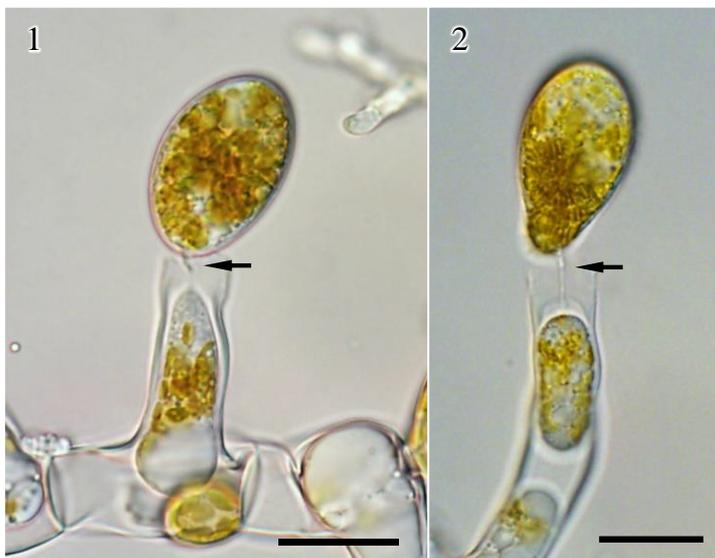


Рисунок 34 – Созревшие яйцеклетки *Alaria esculenta* f. *angustifolia*, вышедшие из оогония. Стрелки указывают на жгутики. Масштаб: 20 мкм.

представителей порядка Laminariales специально не изучались и у алариевых водорослей вплоть до наших исследований не указывались.

Антеридии у *A. esculenta* f. *angustifolia* были почти бесцветными; они располагались на мужских гаметофитах группами по 4–12 и формировались со всех сторон осевой нити (рис. 33.1–33.2). Созревающие в антеридиях разножгутиковые антерозоиды имели мелкую пристеночную пластиду бурого цвета, достигали длины 5–6 мкм и ширины 3,5–4 мкм, их форма менялась от округлой до овальной (рис. 33.3, 33.8). Из оплодотворенных яйцеклеток (рис. 33.8) появлялись спорофиты. Во всех случаях первое и следующее за ним деление яйцеклеток осуществлялось перпендикулярно центральной оси будущего растения (рис. 33.9–33.11). В дальнейшем клетки делились в продольном и поперечном направлениях (рис. 33.12), и в результате формировались однослойные пластинки. При появлении третьего направления деления они становились двух-, а затем и многослойными. Морфологическая дифференциация спорофита начиналась уже на стадии однослойных проростков и выражалась в появлении в базальной части слоевища ризоидальных выростов.

Как известно, спорофиты ламинариевых могут нормально развиваться только при постоянном движении воды. Поэтому для наблюдений за развитием спорофитов мы использовали большие колбы (объем 1–3 л), подключенные к источнику аэрации; культуры содержались при температуре 10°C, люминесцентном освещении и фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота. Через 2 мес. культивирования образцов у всех пластин обычно начинала формироваться центральная жилка. Через 9–10 мес. растения длиной 10–20 см уже имели хорошо развитые ризоиды, черешок и пластину с центральной жилкой (рис. 33.13). В пластинах хорошо просматривались пигментированная кора и сердцевина. При дальнейшем лабораторном культивировании однолетних спорофитов в аэрируемых колбах (объем 5 л) их размеры увеличивались незначительно, однако, в течение двух лет спорофиты оставались живыми. Через 21 мес. культивирования спорофиты аларии достигали 35 см и более длины. У 1/3 из них за это время сформировались спорофиллы (рис. 35). У всех появившихся в

лаборатории растений спороносная ткань образовывалась на рахисе, даже когда они сформировали спорофиллы. Их зооспоры развивались нормально, в двудомные гаметофиты.



Рисунок 35 – Спорофит *Alaria esculenta* f. *angustifolia*, выращенный в лабораторных условиях за 21 мес. культивирования. Растение имело все свойственные алариевым водорослям части слоевища: органы прикрепления, стволик, спорофиллы (стрелка) и пластину с жилкой. Верхушка пластины обрезана, поскольку верхушки всех растений разрушались, что также свойственно растениям в природной среде. Масштаб: 3 см.

Проведенные нами наблюдения и эксперименты показали, что пониженная температура и естественное освещение, характерные для холодной половины года, тормозят созревание гаметангиев у гаметофитов *A. esculenta* f. *angustifolia*, тогда как повышение температуры до 10°C и увеличение продолжительности дня на 2–3 ч оказывают стимулирующее действие на развитие и созревание половых продуктов (табл. 8). Представленные данные позволяют понять, почему в природной среде генерация спорофитов у растений, спороносивших поздней осенью, начинается только в апреле, в начале нового вегетационного сезона.

5.2. Развитие *Alaria esculenta* f. *latifolia*

Для получения гаметофитов *A. esculenta* f. *latifolia* в лабораторных условиях проводили стимулирование спороносной ткани как описано в главе 2.2, для чего использовали взрослые слоевища со зрелыми спорофиллами. Спороносную ткань

подвергали предварительному стимулированию для получения зооспор. Процесс их массового выхода наблюдался в течение 15–20 минут после погружения спорофиллов в стерильную морскую воду. Вышедшие подвижные зооспоры имели типичную для ламинариевых водорослей грушевидную форму, их линейные размеры были 7–9 мкм длины и 4,5 мкм ширины (рис. 36.1). Локомоторная активность зооспор прослеживалась в течение двух часов после их выхода из зооспорангиев. Средняя скорость их передвижения в культуральной среде составляла 110 мкм/с, после 2 часов она снижалась до 5 мкм/с. После этого они замедлялись, оседали на субстрат, втягивали жгутики, округлялись и формировали эмбриоспору (рис. 36.2).

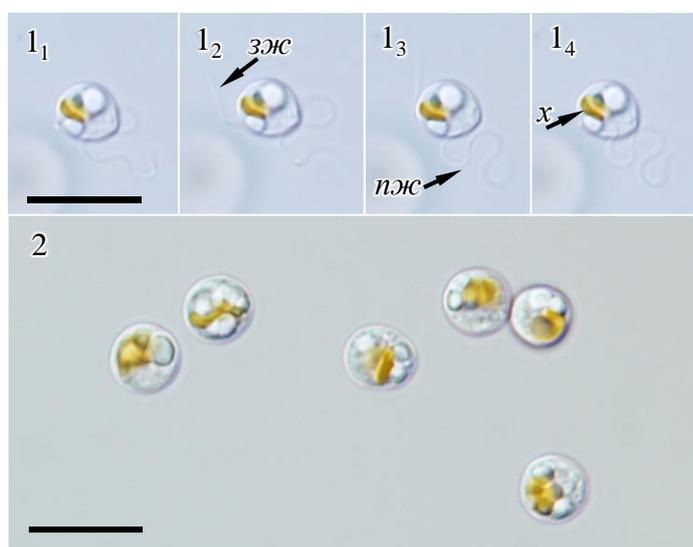


Рисунок 36 – Зооспоры и эмбриоспоры *Alaria esculenta* f. *latifolia*. 1₁–1₄ – движение зооспоры в течение 3 сек; 2 – осевшие эмбриоспоры. Масштаб: 10 мкм. Условные обозначения: зж – задний жгутик, пж – передний жгутик, х – хлоропласт.

Размерные характеристики и время появления в лабораторных условиях (при температуре 8,5°C и естественном освещении и фотопериоде) разных морфоструктур, образующихся на разных стадиях жизненного цикла *A. esculenta* f. *latifolia*, представлены в таблице 9. Условия содержания культур соответствуют таковым в природе в поздневесенний период.

На 4-ый день культивирования у большинства осевших эмбриоспор формировалась небольшая проростковая трубка, куда в дальнейшем перетекало цитоплазматическое содержимое их клеток. Затем между оболочкой эмбриоспоры и проростковой трубкой формировалась перегородка, отделяющая первую клетку гаметофита от пустой оболочки осевшей зооспоры.

Через две недели гаметофиты находились в стадии вегетативного роста и

Размерные показатели ранних стадий развития *Alaria esculenta* f. *latifolia* в лабораторных условиях

Размерные и временные характеристики	Стадия развития*							
	Зооспоры	Эмбриоспоры	Прорастание эмбриоспор	Рост проростковой трубки (2–3 клетки)	Гаметофиты (1–10 клеток)	Фертилизация гаметофитов	Ювенильные спорофиты	Формирование первых ризоидов
Время появления	1/3–1/2 ч	2 ч	4 дня	10 дней	17 дней	25–34 дней	37 дней	50 дней
Размеры, мкм	7–9×4, 5	8–10	12	30	106	—	45	150

* Примечание: здесь и далее время появления той или иной стадии отсчитывается от момента выхода зооспор из спорангиев. — — отсутствие данных.

состояли из 1–10 клеток с максимальными размерами 106 мкм (рис. 37.1). На 24-ый день культивирования мужские и женские гаметофиты отчетливо различались друг от друга. Женские гаметофиты были крупнее мужских в 2–2,5 раза и состояли из 2–4 клеток. Мужские гаметофиты, напротив, формировали многоклеточные, тонкие разветвленные нити с более разреженным цитоплазматическим содержимым.

В процессе дальнейшего роста и развития женские гаметофиты также формировали многоклеточные нити, но с редким ветвлением (рис. 37.2). Через 25–35 дней, прошедших с момента оседания зооспор, у мужских и женских гаметофитов происходило формирование органов полового размножения, т.е. антеридиев и оогониев (рис. 38.1). Они формировались из терминальных клеток нитей гаметофитов. Образование и развитие оогониев всегда происходило дольше, чем антеридиев. Антеридии на мужском гаметофите развивались группами от 3 до 10. Антерозоиды *A. esculenta* f. *latifolia* были крупные, чем у *A. esculenta* f. *angustifolia* и их форма менялась от грушевидной до веретеновидной (рис. 38.2).

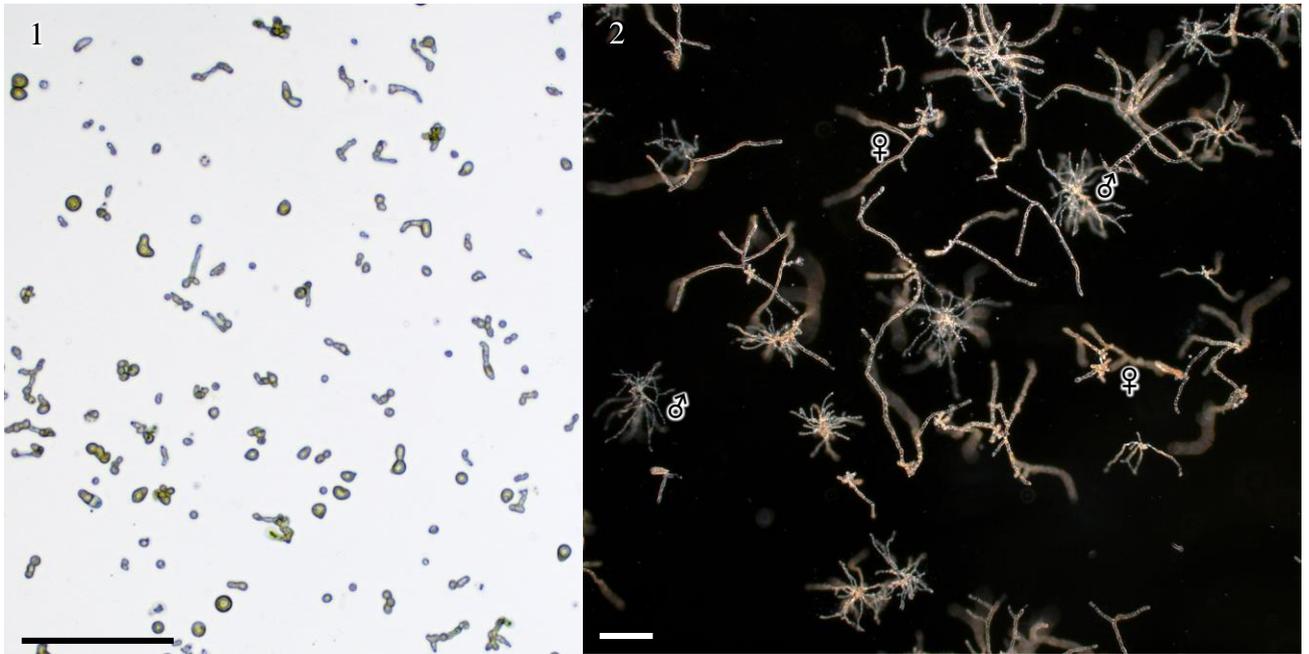


Рисунок 37 – Развитие гаметофитов *Alaria esculenta* f. *latifolia*. 1 – культура гаметофитов на 14 день; 2 – смешанная культура мужских и женских гаметофитов на 30 день. Масштаб: 1, 2 – 200 мкм.

Покидая оогоний, зрелая яйцеклетка всегда оставалась связанной с ним базальной частью (рис. 38.3) и не меняла своего местоположения и после оплодотворения (рис. 38.4). У яйцеклеток *A. esculenta* f. *latifolia* также были обнаружены жгутики. Появление первых спорофитов после оплодотворения яйцеклеток регистрировали на 37-ой день. Дальнейшие многочисленные деления их клеток приводили к увеличению размеров проростков (рис. 38.4).

Морфологическая дифференциация спорофитов начиналась на стадии однослойных проростков, когда их клетки имели еще достаточно крупные размеры и их общее количество не превышало 120 штук. Хорошо заметные ризоидальные выросты появлялись, как правило, к 50-ому дню культивирования (рис. 39.1). До их появления молодой спорофит оставался плотно прикрепленным к пустой оогониальной нити женского гаметофита, которая служила ему местом прикрепления.

Через 90 дней после оседания зооспор, ювенильные спорофиты были уже хорошо различимы невооруженным глазом и достигали 2–4 мм длины. Затем они становились двухслойными, у них начинал формироваться стволик (рис. 39.2).

Развитие микроскопических стадий в контролируемых условиях (температура

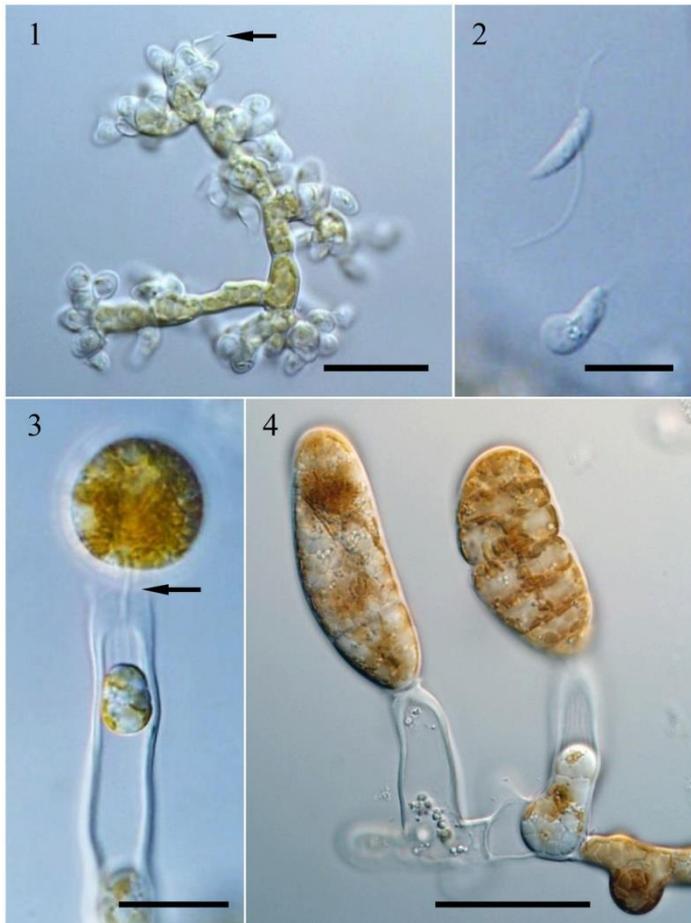


Рисунок 38 – Разные стадии развития гаметофитов *Alaria esculenta* f. *latifolia* и их половые продукты. 1 – мужской гаметофит со зрелыми антеридиями (стрелка указывает на раскрывшийся колпачок антеридия); 2 – антерозоиды; 3 – яйцеклетка (стрелка указывает на жгутики); 4 – зигота после первого деления (слева) и спорофит, состоящий 10 клеток (справа). Масштаб: 1, 3 – 20 мкм, 2 – 10 мкм, 4 – 40 мкм.

10°C, люминесцентное освещение $30 \mu\text{моль фотон} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и фотопериод 12 ч свет : 12 ч темнота) проходило иначе (табл. 10). Фертилизация гаметофитов начиналась через 12 дней после помещения их в указанные выше условия и на следующие сутки в культурах появлялись первые спорофиты. В целом развитие гаметофитов *A. esculenta* f. *latifolia*, как и *A. esculenta* f. *angustifolia*, протекало быстрее при II режиме культивирования (табл. 7, 10). Органы полового размножения независимо от условий культивирования гаметофитов развивались одинаково (рис. 38.1–38.3). Формирование центральной жилки у молодых спорофитов происходило через 3 месяца после оседания зооспор.

Учитывая, что условия культивирования были максимально близки к таковым в естественной среде, можно говорить, что при прорастании зооспор *A. esculenta* f. *latifolia* в апреле макроскопические ювенильные спорофиты могут появляться у нее в середине лета. При этом у части гаметофитов будет наблюдаться задержка развития, обусловленная не условиями произрастания (поскольку в культуре они были одинаковыми для всех растений), а особенностями популяционной стратегии

Развитие гаметофитов у *Alaria esculenta* f. *latifolia* в искусственных условиях

Режим культивирования	Лабораторные условия			Сроки появления*		
	t, °C	Освещение	Фотопериод	Фертильных гаметофитов, день		Ювенильных спорофитов, день
				♀	♂	
I	8,5	Естественное	Естественное	34	25–34	37
II	10	Искусственное, 30 $\mu\text{моль фотон}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$	12 ч свет : 12 ч темнота	12+	12+	13+

* Примечание: 12⁺, 13⁺ – исходным материалом послужили стерильные культуры.

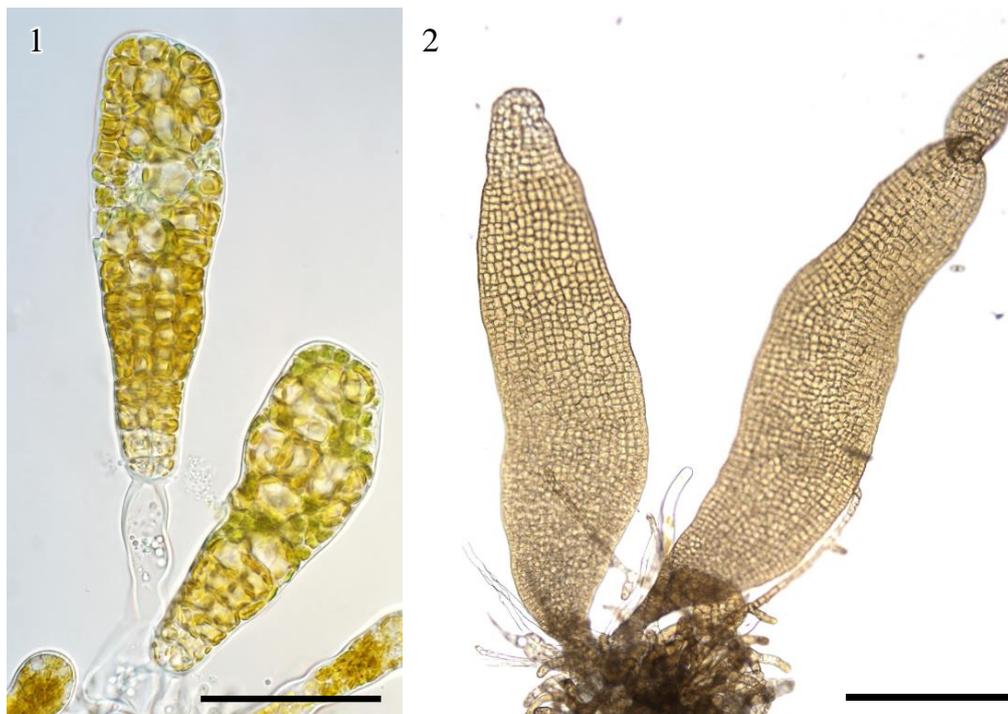


Рисунок 39 – Ювенильные спорофиты *Alaria esculenta* f. *latifolia*. 1 – стадия однослойного проростка; 2 – спорофиты после трех месяцев культивирования. Масштаб: 1 – 50 мкм, 2 – 100 мкм.

вида. Мы полагаем, что разница во времени появления проростков обеспечивает этому виду успех воспроизводства при прохождении гаметофитной стадии развития, поскольку в случае гибели активно растущих спорофитов популяция имеет резерв для формирования их новых представителей.

Представленные в разделах 5.1 и 5.2 результаты по изучению жизненных циклов камчатских форм вида *A. esculenta* позволили разработать следующий способ выращивания ее рассады для санитарной марикультуры. В качестве субстрата для оседания зооспор использовали стерильный полипропиленовый шпагат ($d=1,6$ мм). Его плотно и равномерно наматывали на поливинилхлоридную (ПВХ) трубу, формируя, таким образом, катушки для оседания зооспор (рис. 40.1). Затем готовые катушки кипятили, после чего промывали в стерильной дистиллированной воде и выдерживали их в ней не более 48 ч. Время подготовки субстрата составляло 2,5 суток.

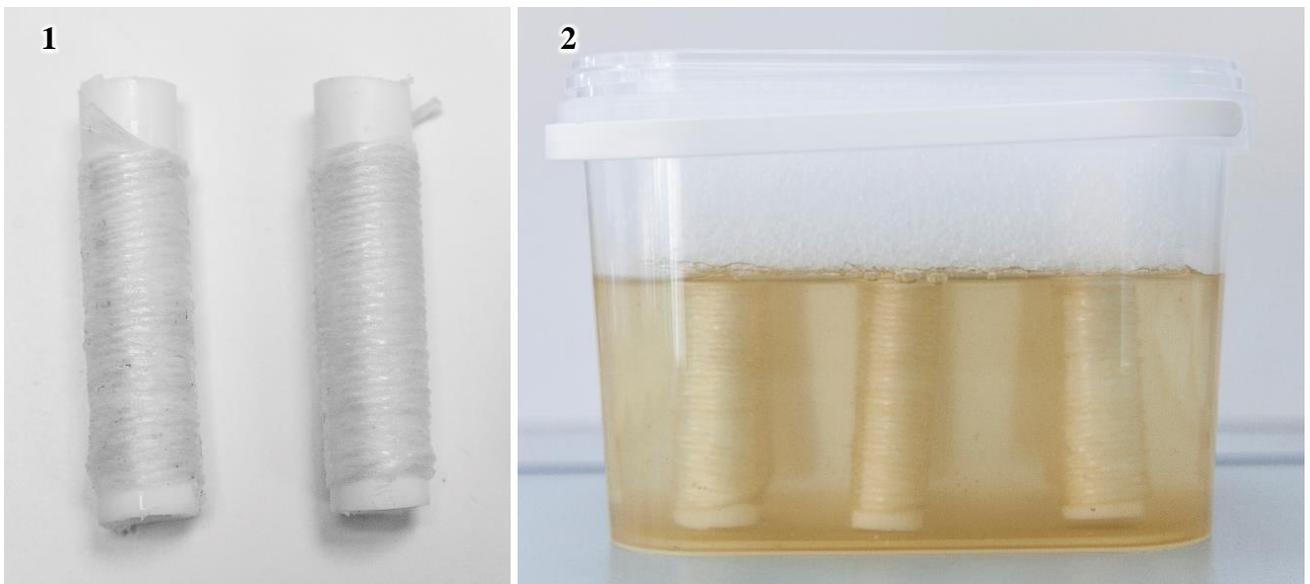


Рисунок 40 – Катушки для оседания зооспор (1) и оспоривание субстратов (2).

Отметим, что для исключения этапа прореживания рассады необходимо строго контролировать концентрацию зооспор при оспоривании. Ее оптимальное значение для последующего выращивания проростков на искусственных субстратах должно находиться в диапазоне 9000–12500 спор/мл. В ходе наших экспериментов была получена суспензия зооспор с концентрацией 50000–1470000 спор/мл., из которой готовили рабочий раствор с необходимой оптимальной концентрацией путем разбавления суспензии стерильной морской средой. Концентрацию зооспор в среде определяли с помощью гемоцитометра (счетная камера Ньюбауэра).

Оспоривание проводили в стерильных пластиковых контейнерах, заполненных морской средой (3,5 л) с оптимальной концентрацией зооспор (рис. 40.2). Подготовленные заранее катушки с намотанным полипропиленовым канатом свободно распределяли по объему контейнера для равномерного оседания зооспор на их поверхности. Далее контейнеры с катушками помещали в условия темноты при постоянной температуре 10°C на 1 сутки. Затем катушки с осевшими зооспорами переносили в новый контейнер со стерильной морской средой.

Культуры *A. esculenta* содержали при постоянной температуре 10°C, люминесцентном освещении 30 мкмоль фотон·м⁻²·с⁻¹ (холодный белый свет) и фотопериоде 12 ч свет: 12 ч темнота. Контроль за ростом гаметофитов проводили 3 раза в неделю. Культуральную среду меняли 1 раз в неделю.

После оседания зооспор в лабораторных культурах *A. esculenta* появлялись эмбриоспоры. На 2–3 сутки они формировали проростковые трубки и первые клетки гаметофитов. К 15-му дню культивирования у микроскопических гаметофитов уже прослеживалась половая дифференциация и можно было достаточно легко определить более крупные женские растения, состоящие из 2–10 клеток и мелкоклеточные разветвленные нити мужских гаметофитов, состоящие из 8 и более клеток. Стадия вегетативного роста гаметофитов продолжалась 30–40 суток с момента оседания зооспор. После этого они формировали женские и мужские гаметангии – оогонии и антеридии. Через 40 суток с момента оседания зооспор на субстрат из зрелых оогониев выходили яйцеклетки, и после их оплодотворения формировались зиготы. Затем в течение последующих суток в зиготах происходило первое клеточное деление, дающее начало спорофиту, состоящему из двух и более клеток.

После появления в культурах *A. esculenta* первых спорофитов к контейнерам с катушками подключали аэрацию и увеличивали освещение до 100 мкмоль фотон·м⁻²·с⁻¹, при этом фотопериод (12 ч освещения и 12 ч темноты) не меняли. К 45 суткам культивирования в контейнерах с катушками появились ювенильные однослойные спорофиты, состоящие из 10–30 клеток (рис. 41). В ходе их дальнейшего роста и развития формировались растения, несущие многослойную

пластину и развитые ризоидальные выросты. После 60 суток культивирования на пропиленовом шпагате появлялись проростки 0,2–0,8 мм длины. К этому времени катушки из-за развитых ювенильных спорофитов приобретали насыщенно-коричневый цвет, и проростки имели здоровый вид, хорошо различимые функциональные части – пластину, стволик и ризоиды. Полученные катушки с проростками 0,2 и более мм длины могут быть использованы как рассада для пересаживания в естественную морскую среду. Она может использоваться

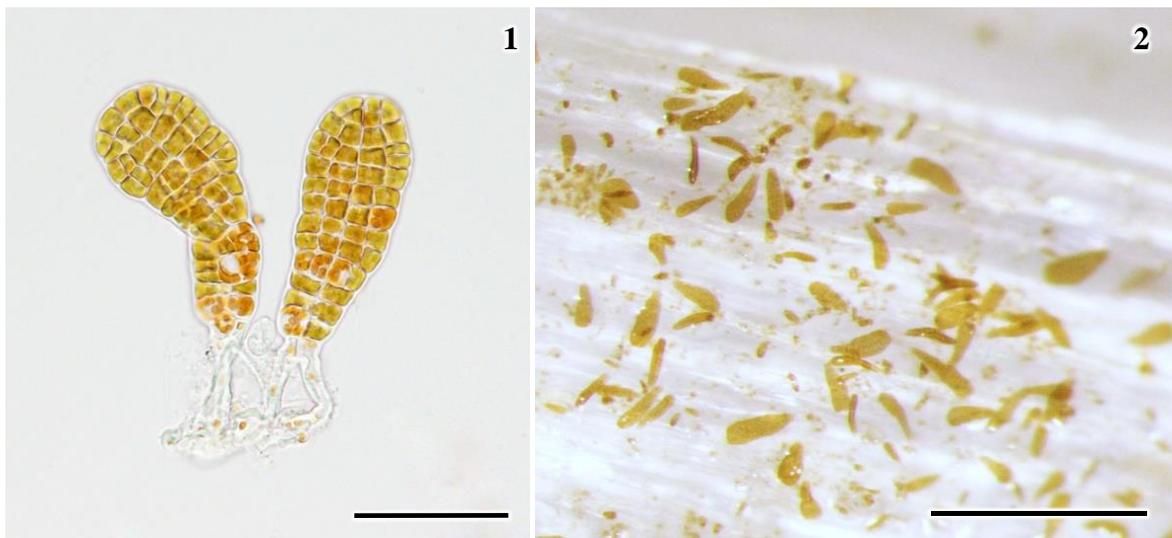


Рисунок 41 – Проростки *A. esculenta*, выращенные на искусственном субстрате в лабораторных условиях: 1 – ювенильные однослойные спорофиты (после 45 суток культивирования), 2 – обрастание спорофитами пропиленового шпагата. Масштаб: 1 – 50 мкм, 2 – 500 мкм.

не только для санитарной, но и для товарной марикультуры. Разработанный способ получения проростков гаметофитов, кроме того, перспективен для решения вопросов поддержания продуктивности и восстановления естественных популяций камчатских ламинариевых водорослей.

5.3. Цитохимические различия камчатских форм вида *Alaria esculenta*

Как уже говорилось в предыдущих разделах нашей работы, в ходе длительного исторического развития *Alaria esculenta* у побережья Камчатки она сформировала здесь две экологические формы вида, при этом они различаются между собой морфологией спорофитов, скоростью гаметогенеза, формой и подвижностью мужских гамет. Мы предположили, что существует механизм, при помощи которого при оплодотворении происходит опознавание гамет, принадлежащих к одноименной форме вида, т.е. на поверхности половых клеток могут присутствовать видоспецифичные углеводные рецепторы.

Видоспецифичное узнавание гамет является наиболее важным этапом в оплодотворении у всех групп организмов. После того, как сперматозоид приближается к яйцеклетке и касается ее плазматической мембраны, наступает стадия узнавания, в которой задействованы молекулы мембранных гликопротеинов, специфичные для каждого вида живых организмов. Известно, что в процесс сцепления клеток разных организмов или клеток с внеклеточным материалом вовлечены несколько групп молекул, среди которых наиболее изученными являются лектины – белки-рецепторы, участвующие в клеточной адгезии между клетками или между организмами посредством их сцепления с определенными углеводами (Goldstein et al., 1980; Kalthoff, 2001). Они были найдены у большого числа разных организмов, от бактерий до животных (Sharon, Lis, 1989).

У водорослей лектины распространены столь же широко, как у других групп живых организмов (Hori et al., 1990; Rogers, Hori, 1993; Alvarez-Hernandez et al., 1999; Oliveira et al., 2002; Ambrosio et al., 2003; Melo et al., 2004; Han et al., 2011, 2012; Shim et al., 2012), при этом об их физиологической роли известно мало. Так, у багряннок *Aglaothamnion callophyllidicola* и *Aglaothamnion oosumiense* лектины вовлечены в процесс распознавания мужских и женских половых клеток (спермациев и трихогинов, соответственно) при оплодотворении (Han et al., 2012; Shim et al., 2012). У зеленой водоросли *Bryopsis plumosa* определенные лектины

вовлечены в процесс агглютинации протоплазмы при формировании протопластов из протоплазмы *in vitro* (Kim et al., 2006; Han et al., 2011).

Для изучения специфических различий поверхности репродуктивных клеток и гаметофитов, изученных аларий было выполнено их окрашивание флуоресцеин изотиоционат (ФИТЦ)-меченными лектинами (табл. 4) на разных стадиях развития (табл. 11). Смысл реакции этих препаратов заключается в том, что, если на клеточной поверхности локализуются определенные углеводные рецепторы, они связываются с комплементарными им ФИТЦ-меченными лектинами, в результате чего под флуоресцентным микроскопом на поверхности клеток просматривается характерное желто-зеленое свечение. Используя данный метод можно также выявить дифференциальные различия в полисахаридном составе клеточной стенки у разных организмов или на ее разных участках у одного организма.

Таблица 11

Окрашивание гаметофитов, спорофитов и репродуктивных клеток камчатских форм *Alaria esculenta* флуоресцеин изотиоционат (ФИТЦ)-меченными лектинами

Образец		Лектин*						
		DBA	PNA	RCA	SBA	UEA	WGA	ConA
<i>Alaria esculenta</i> f. <i>angustifolia</i>								
Женский гаметофит	Апикальная зона растущих боковых ветвей	+	+	-	+	-	-	+
	Вышедшая из оогония яйцеклетка (до оплодотворения)	-	-	-	-	-	+	-
	Базальная часть яйцеклетки (до оплодотворения)	-	-	-	-	-	-	+
	Пустой оогоний	-	-	+	-	-	-	-
Мужской гаметофит	Антеридии	-	-	-	-	-	-	-
	Антерозоиды	-	-	-	-	-	-	-
Спорофит	Зона прикрепления к гаметофиту	-	-	-	-	-	+	-

Таблица 11 – продолжение.

<i>Alaria esculenta</i> f. <i>latifolia</i>								
Женский гаметофит	Апикальная зона растущих боковых ветвей	–	–	–	–	+	+	–
	Вышедшая из оогония яйцеклетка (до оплодотворения)	–	–	+	–	–	–	–
	Базальная часть яйцеклетки	–	–	–	–	–	–	–
	Пустой оогоний	–	–	+	–	–	–	–
Мужской гаметофит	Антеридии	–	–	+	–	–	–	–
	Антерозоиды	–	–	–	–	–	–	–
Спорофит	Зона прикрепления к гаметофиту	–	+	–	–	–	+	–

* Примечание: положительная реакция отмечена заливкой строки.

В случае с камчатскими формами *A. esculenta* характерную флуоресценцию регистрировали только на определенных участках поверхности гаметофитов и молодых спорофитов, что указывает на разный полисахаридный состав их клеточной стенки (рис. 42, 43). Так, лектины WGA и PNA окрасили только место прикрепления молодых спорофитов к пустой нити оогония (рис. 42.2, 42.6, 43.3–43.4), но не всю его поверхность, а лектин RCA окрасил оболочку пустого оогония после выхода яйцеклетки у растений обеих камчатских форм *A. esculenta* (рис. 42.5, 43.1). Лектины PNA, SBA, DBA и ConA окрасили апикальную зону ветвей женского гаметофита (зону активного роста), при этом его остальная поверхность не окрасилась (рис. 42, 43).

Мембрана яйцеклеток окрасилась разными лектинами. Так, у *A. esculenta* f. *angustifolia* практически вся поверхность неоплодотворенной яйцеклетки, за исключением небольшого участка в ее базальной части, окрасилась лектином WGA (рис. 42.3), и только ConA окрасил небольшой участок поверхности в базальной части неоплодотворенной яйцеклетки (рис. 42.9). У *A. esculenta* f. *latifolia* вся поверхность неоплодотворенной яйцеклетки окрасилась лектином

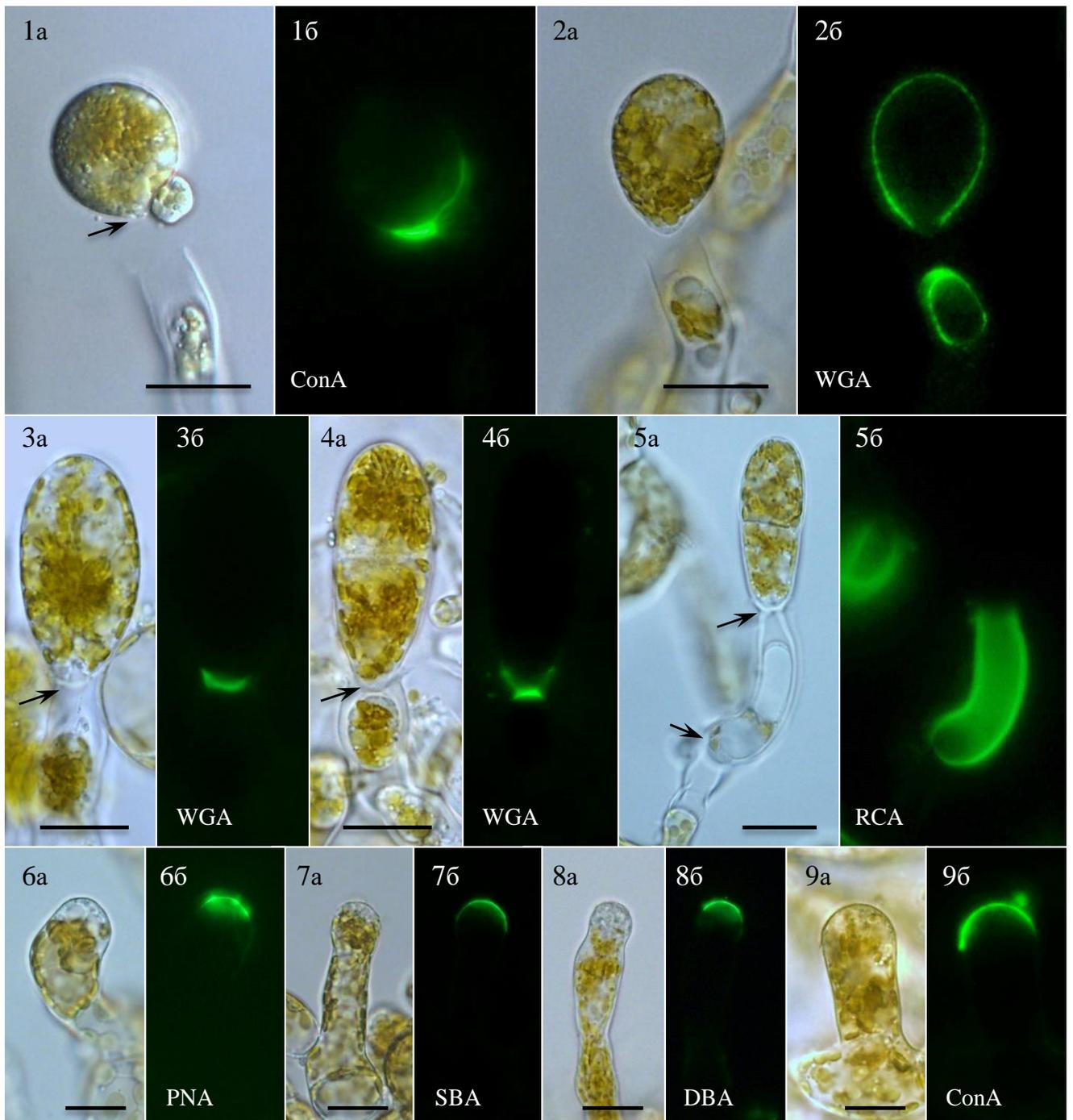


Рисунок 42 – Окрашивание гаметофитов, спорофитов и репродуктивных клеток *Alaria esculenta* f. *angustifolia* флуоресцеин изотиоционат (ФИТЦ)-мечеными лектинами. Масштаб: 20 мкм. Стрелки указывают на место реакции.

RCA (рис. 43.1). Таким образом, можно предполагать наличие разных углеводных рецепторов на поверхности яйцеклеток у растений камчатских форм *A. esculenta*. Это не исключает возможность существования репродуктивной изоляции между ними, хотя делать окончательные выводы без проведения лабораторных экспериментов по их скрещиванию преждевременно. Наши данные показали, что

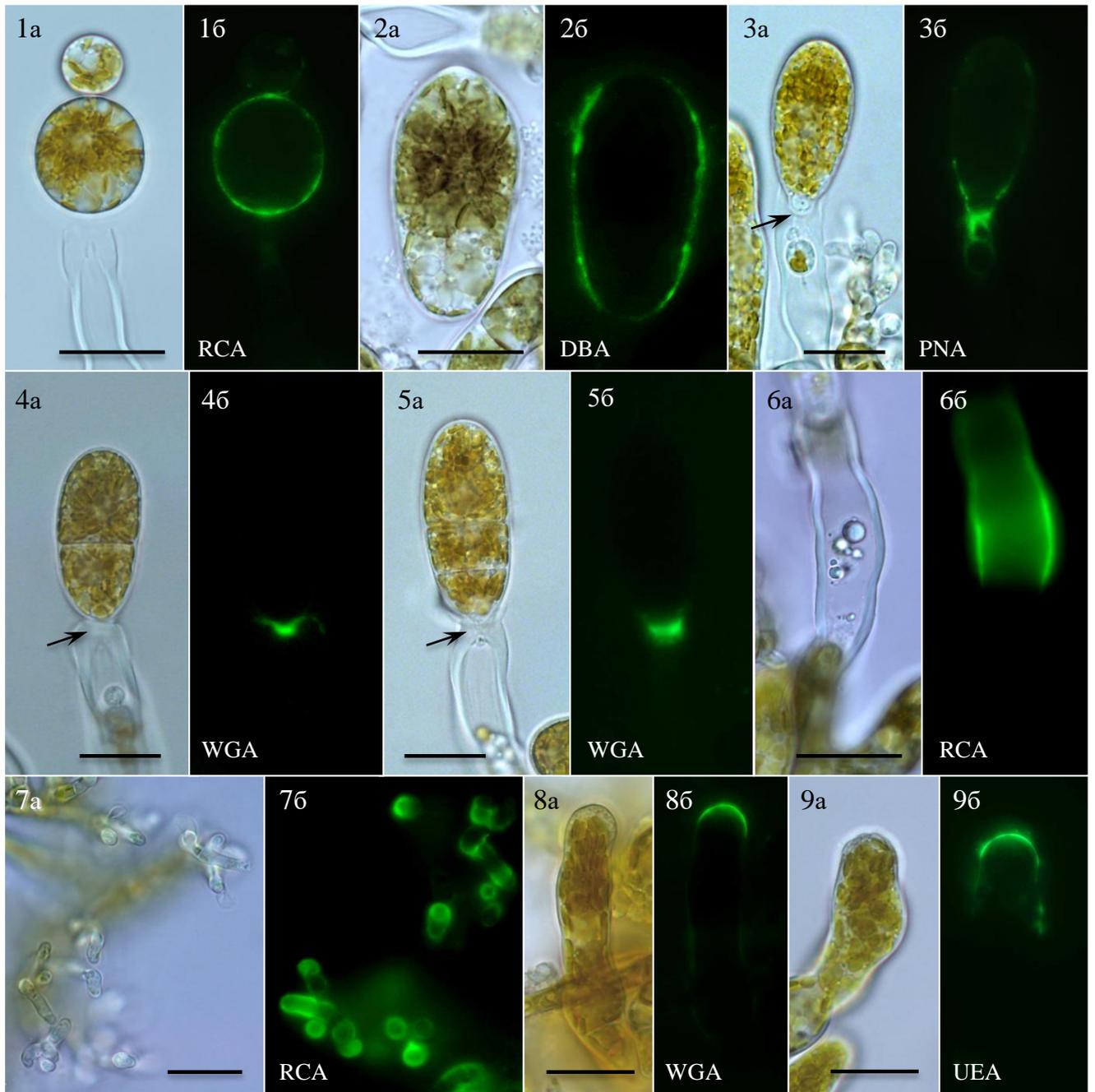


Рисунок 43 – Окрашивание гаметофитов, спорофитов и репродуктивных клеток *Alaria esculenta* f. *latifolia* флуоресцеин изотиоцианат (ФИТЦ)-меченными лектинами. Масштаб: 20 мкм. Стрелки указывают на место реакции.

цитохимическая разница между этими формами существует даже на стадии половых продуктов.

Окрашивание (ФИТЦ)-меченными лектинами мужских антерозоидов дало отрицательную реакцию у обеих форм вида. Только один лектин – RCA, окрасил колпачки зрелых антеридиев у *A. esculenta* f. *latifolia* (рис. 43.7).

5.4. Хромосомные числа камчатских алариевых водорослей

Проведенное нами кариологическое исследование камчатских алариевых водорослей показало, что размеры ядер у гаметофитов *A. esculenta* f. *angustifolia* достигают 2,6–5 мкм в поперечнике. У мужских гаметофитов они, как правило, не превышают 4 мкм. Хромосомы мелкие, их средние размеры не превышают 1 мкм в длину. Хромосомное число у изученных гаметофитов *A. esculenta* f. *angustifolia* равно $n=14$ (10–14) (рис. 44).

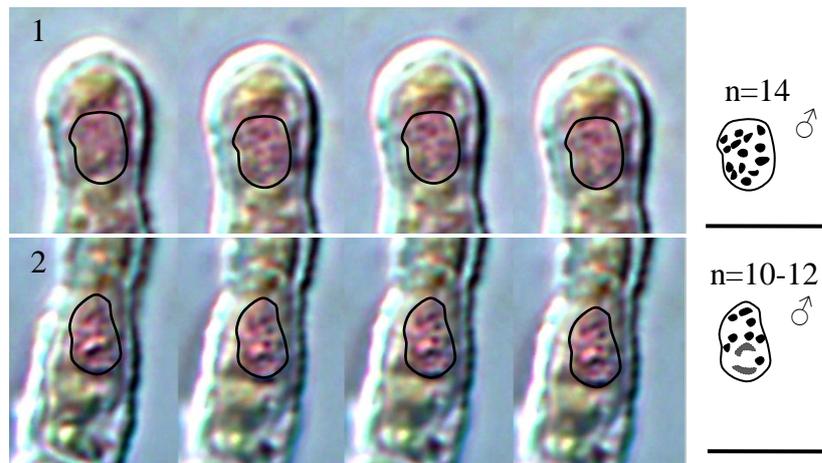


Рисунок 44 – Клетки мужских гаметофитов *Alaria esculenta* f. *angustifolia*, снятые под разной глубиной фокусирования с хромосомами, окрашенными ацетокармином и соответствующие им хромосомные карты. Масштаб – 5 мкм.

Гаплоидное число хромосом *A. esculenta* f. *latifolia* также, как и у предыдущей формы равно $n=14$ (10–14) (рис. 45). У гаметофитов *A. esculenta* f. *latifolia* размеры ядер достигают 2,5–5 мкм в поперечнике в прометафазе митоза; у развивающихся ювенильных спорофитов ядра достигают 3,3–5,5 мкм в поперечнике. У изученных нами гаметофитов аларий клетки содержат по одному ядру и, как правило, в вегетативных клетках гаметофитов оно занимает центральное положение. После митотических делений ядро могло располагаться пристеночно. В формирующихся оогониях ядра находятся в апикальной зоне и располагаются пристеночно.

Наши исследования показали, что формы вида *A. esculenta* из Авачинского залива имеют одинаковое хромосомное число ($n=14$). Сравнительный анализ

известных хромосомных чисел других представителей рода *Alaria* и их распространения (табл. 12) показал следующее:

– Все известные морфотипы *A. marginata* (*nana*, *taeniata* и *marginata*), встречающиеся у берегов восточной Пацифики, имеют гаплоидное число хромосом $n=14$ (Robinson, 1967).

– Хромосомные числа японских популяций видов *A. praelonga* и *A. crassifolia* близки с таковыми у *A. esculenta* из европейской части Атлантики (гаплоидное число хромосом равно $n=22-28$ и $n=28$, соответственно) (Yabu, 1964; Evans, 1965; Nakahara, 1984).

– Растения *A. esculenta* из Атлантики вероятнее всего являются полиплоидными. Камчатские формы этого вида имеют вдвое меньшее число хромосом.

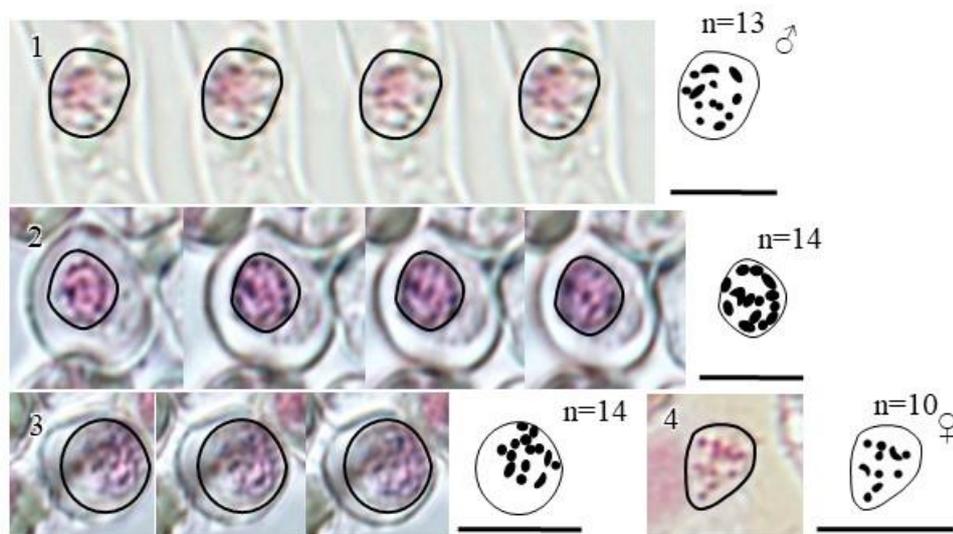


Рисунок 45 – Клетки гаметофитов *Alaria esculenta* f. *latifolia*, снятые под разной глубиной фокусирования с хромосомами, окрашенными ацетокармином и соответствующие им хромосомные карты. Масштаб: 1 – 3 мкм, 2–4 – 5 мкм.

Ранее было выдвинуто предположение, что экспансия ламинариевыми водорослями арктических регионов и северной Атлантики стала возможным благодаря открытию Берингова пролива и затоплению Берингии около 3,5–5,5 миллионов лет назад (Stam et al., 1988; Lüning, tom Dieck 1990; Lüning, 1990). К. Люнинг считал, что движущей силой видообразования в порядке Laminariales

являлось оледенение северных широт в Третичном периоде (Lüning, 1990), а сопутствующие ему климатические изменения позволили полиплоидным организмам, в частности таковым среди бурых водорослей, реализовать свои генетические преимущества и быстрее адаптироваться к изменяющимся условиям среды (Grant, 1981; Lewis, 1996).

Таблица 12

Хромосомные числа видов рода *Alaria*

Виды	Хромосомное число		Район	Источник
	n	2n		
<i>Alaria marginata</i> (= <i>A. marginata</i>)	14	28	Восточная Пацифика	Robinson, 1967
<i>Alaria marginata</i> (= <i>A. nana</i>)	14	28	Восточная Пацифика	Robinson, 1967
<i>Alaria marginata</i> (= <i>A. taeniata</i>)	14	28	Восточная Пацифика	Robinson, 1967
<i>Alaria esculenta</i> f. <i>angustifolia</i> *	10–14	–	Западная Пацифика	Klimova et al., 2017
<i>Alaria esculenta</i> f. <i>latifolia</i>	10–14	–	Западная Пацифика	Klimova et al., 2017
<i>Alaria praelonga</i>	22	–	Западная Пацифика	Yabu, 1964
<i>Alaria crassifolia</i>	22–28	44–48	Западная Пацифика	Nakahara, 1984
<i>Alaria esculenta</i>	28	56	Атлантика	Evans, 1965

* Примечание: исследованные нами формы вида *A. esculenta* отмечены заливкой строки.

В своей работе С. Краан и М. Гири, основываясь на указанных выше публикациях, а также проведенном ими филогенетическом анализе атлантических и пацифических видов рода *Alaria* и экспериментах по их скрещиванию, предложили один из возможных сценариев расселения алариевых водорослей в Мировом океане (Kraan, Guiry, 2000). Так, ими была выдвинута гипотеза, что алариевые водоросли с хромосомным числом $n=22-28$ являются полиплоидными

гибридами видов, имеющих хромосомное число $n=14$. Предположительно, таким исходным видом могли быть гибриды разных морфотипов *A. marginata* ($n=14$), поскольку из трех ее морфотипов только два – *marginata* и *taeniata*, скрещивались как между собой, так и с видами *A. praelonga*, *A. crassifolia* и *A. esculenta*, имеющих вдвое большее хромосомное число (Kraan, Guiry, 2000). В дальнейшем из последних видов, вероятно, только *A. esculenta* удалось расселиться через Арктику в воды Атлантического океана.

Полученные нами данные позволяют скорректировать предложенный С. Крааном и М. Гири сценарий расселения видов рода *Alaria* в Мировом океане. Наиболее вероятными кандидатами для скрещивания и получения полиплоидных разновидностей с хромосомным числом $n=22-28$ являются камчатские формы *A. esculenta*: *angustifolia* и *latifolia*. Они имеют генетическое сходство с атлантической популяцией *A. esculenta* и вдвое меньшее хромосомное число (табл. 12). Для подтверждения, выдвинутого нами предположения о расселении алариевых водорослей в Мировом океане и роли их камчатских представителей в этом процессе необходимо изучение кариологии и филогении видов, описанных в приграничной зоне Берингова пролива и Северного Ледовитого океана. Это касается, в первую очередь, видов *A. crispa*, *A. elliptica* и *A. oblonga*.

5.5. Развитие аларий под воздействием неблагоприятных факторов среды

На основе результатов наблюдения за процессами размножения *A. esculenta* в природе установлено, что для нее характерен растянутый во времени период спороношения. Исключение в этом отношении составляют растения первого года жизни, которые только начинают формировать специальные спороносные листочки – спорофиллы. У остальных возрастных групп, спорофиллы со зрелой спороносной тканью можно встретить в течение всего периода вегетации. Закладка спороносной ткани у исследуемого нами вида происходит одновременно с обеих сторон спорофилла. Очертания сорусов всегда совпадают. Столь активное

бесполое размножение вида обеспечивает присутствие в его популяциях разновозрастных растений и способствует поддержанию их высокой численности.

В Авачинском заливе в ходе выполнения диссертационных исследований были обнаружены образцы *A. esculenta* f. *angustifolia* с аномальным развитием спороносной ткани. Это были взрослые растения старше двух лет, не превышающие 180 см длины и 5 см ширины, имеющие хорошо развитый пучок зрелых спорофиллов (рис 46.1). Вместе с этим в нижней части вегетативной пластины с обеих сторон вдоль жилки по краю пластин у них развивались дополнительные сорусы спорангиев (рис 46.2). Спороносная ткань при этом располагалась с обеих сторон пластины, и ее очертания полностью совпадали. У других обнаруженных нами взрослых растений аларий спорофиллы отсутствовали, и спороносная ткань развивалась вегетативной пластины также с двух сторон и имела совпадающие контуры.



Рисунок 46 – Аномальное развитие спороносной ткани у *Alaria esculenta* f. *angustifolia* в Авачинском заливе. 1 – внешний вид аларии с развитым пучком спорофиллов и основанием пластины; 2 – фрагмент вегетативной пластины со спороносной тканью. Масштаб: 2 см. Стрелки указывают на место развития спороносной ткани.

Сравнительный анализ анатомического строения спороносной ткани, локализованной на спорофиллах и вегетативной пластине, не выявил каких-либо заметных различий между ними. Спорангии и парафизы в обоих случаях имели типичные для вида морфологию и размерные характеристики, соответствующие таковым у других растений восточно-камчатской популяции (рис. 47.1, 47.2). В осенне-зимний период спороношения для *Alaria esculenta* f. *angustifolia* характерно наличие в спороносной ткани многоклеточных парафиз (Рис. 47.2,

47.3). Как правило, они собраны в небольшие группы и распределены по сорусу хаотично.

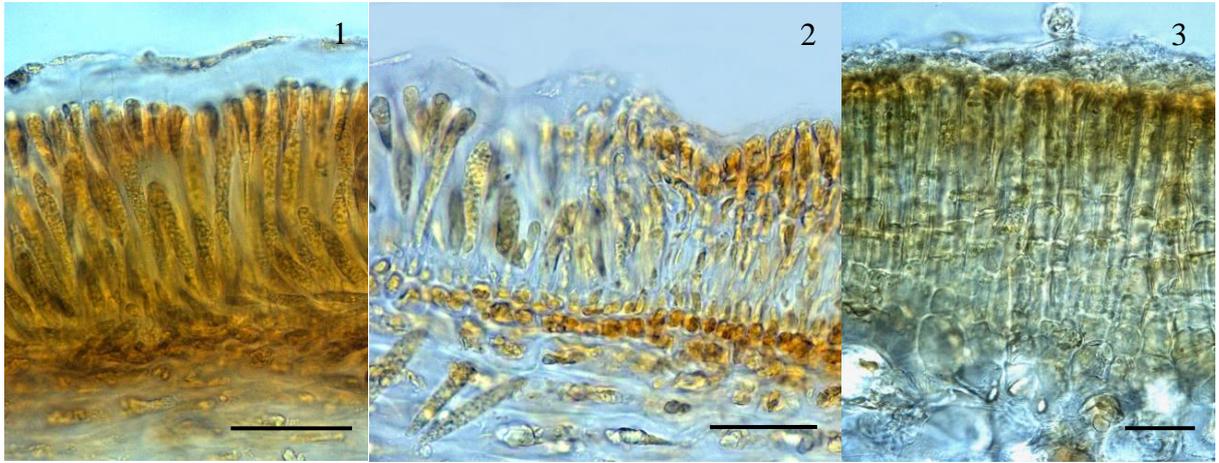


Рисунок 47 – Поперечные срезы спороносной ткани *Alaria esculenta* f. *angustifolia* из Авачинского залива: 1, 2 – зрелая спороносная ткань; 3 – многоклеточные парафизы. Масштаб: 50 мкм.

Описанные аномалии развития являются на наш взгляд ответной реакцией на неблагоприятные условия среды (в большей степени на высокую прибойность), когда недостаток развития спорофиллов у растений компенсируется закладкой спороносной ткани на их пластинках. Из научной литературы известно, что при достижении слоевищами аларий максимальных размеров рост их спорофиллов прекращается. В определенных случаях, когда в результате воздействия на растения неблагоприятных факторов имеет место ампутация спороносных листочков спороносная ткань может развиваться в основании вегетативной пластины (Петров, 1973; Pfister, 1991). Развитие таких аномальных растений было изучено К. Пфайстер (1991) у вида *A. marginata* (= *A. nana*) с острова Татуш (Tatoosh Island, Северо-Восточная Пацифика). Для этого в начале лета она искусственно удаляла спорофиллы у меченых образцов алярии. К концу вегетационного сезона большая часть таких растений образовывала спороносную ткань на пластинках. Зооспоры, полученные в таких условиях, не отличались от обычных зооспор, появившихся из спорофиллов. Они были такими же жизнеспособными и развивались в нормальные гаметофиты. К. Пфайстер заметила, что сорусы спорангиев на основной пластине появлялись у самых

крупных растений. Подводя итог своему исследованию, она пришла к выводу, что такие случаи – ответная реакция растения на отсутствие у него специализированных морфоструктур бесполого размножения, обеспечивающая воспроизводство и стабильную численность популяции.

Выводы указанных выше исследователей справедливы и для изучаемого нами вида. Гибкость стратегии его воспроизводства лишний раз свидетельствует о его экологической пластичности и способности обеспечивать выживание вида в условиях повышенной гидродинамической активности прибрежных вод. В прибойных условиях даже при достаточном содержании в воде биогенных элементов из-за высокой скорости ламинарного потока, скользящего вдоль пластин, они становятся менее доступными для усвоения. Можно предполагать, что скручивание спорофиллов у формы вида *A. esculenta* f. *angustifolia* является ответной реакцией на высокую прибойность, поскольку водный поток, омывающий спирально скученные спорофиллы, дробится и теряет скорость. При его забурунивании снижается скорость движения воды, и биогенные элементы становятся более доступными для усвоения их спорофиллами.

Иначе в неблагоприятных условиях среды развивается спороносная ткань у *A. esculenta* f. *latifolia*. Во внутренней части Авачинской губы, где прибойность значительно ослабевает, у нее заметно увеличиваются размеры спорофиллы. В условиях сильного антропогенного загрязнения, ингибирующего развитие растений, их размеры обычно превышают таковые у материнской пластины. Путем аномального разрастания спорофиллов представители *A. esculenta* f. *latifolia* увеличивается площадь их фотосинтетической поверхности и, следовательно, способность к синтезу пластических веществ, необходимых для развития репродуктивных органов. Этим также обеспечивается эффективный транспорт продуктов ассимиляции к образующимся сорусам зооспорангиев. У растений, развивающихся в антропогенной среде, фертильная ткань формируется в основании спороносных листочков и занимает не более 20% от их общей площади поверхности (рис. 48). Снижение репродуктивного потенциала у таких

растений компенсируется постоянной закладкой и развитием новых спорофиллов, их фертилизацией, созреванием зооспор и регулярным спороношением.



Рисунок 48 – Аномальное развитие спорофиллов у *Alaria esculenta* f. *latifolia* из Авачинской губы. Масштаб: 10 см.

Описанные выше случаи аномального развития спороносной ткани у разных форм изучаемого нами вида иллюстрируют способность их представителей адаптироваться к неблагоприятным условиям обитания, путем изменения анатомо-морфологического строения слоевищ, и при любых условиях обеспечивать воспроизводство вида. У формы вида *A. esculenta* f. *angustifolia* в неблагоприятных условиях, ингибирующих развитие спорофиллов, функцию воспроизводства растений берет на себя материнская пластина путем развития на ней сорусов спорангиев. У формы вида *A. esculenta* f. *latifolia* адаптивная стратегия иная. У нее за счет ингибиции роста основной пластины разрастаются спорофиллы и тем обеспечивается выполнение репродуктивной функции растения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе выполнения работы, показывают, что ареал широко распространенного полиморфного северо-атлантического вида *Alaria esculenta* охватывает не только восточное и западное побережье Атлантики, европейское и американское побережья Арктики, как это было известно ранее, но и север Тихого океана. Это лишний раз свидетельствует о высокой экологической пластичности изученного вида и показывает, что вопреки утвердившемуся в альгологии представлению об узкоареальности родов и видов ламинариевых этот порядок включает в свой состав и единичные широкоареальные виды. Нахождение *A. esculenta* в бореальных водах Тихого океана ставит под сомнение валидность некоторых видов аларий, указывавшихся для альгофлоры Аляски, Командорских и Алеутских островов. Скорее всего, их морфологические характеристики отражают возрастную, экологическую и сезонную изменчивость той же *A. esculenta*. В связи с этим можно говорить, что полученные в ходе выполнения диссертационного исследования результаты меняют представления об объеме рода *Alaria* в северо-западной Пацифике, и в целом в Северном полушарии и определяют необходимость пересмотра таксономической принадлежности некоторых тихоокеанских видов аларий.

У азиатского побережья Пацифики представители *A. esculenta* имеют вдвое меньший, чем в Атлантике набор хромосом. Следуя сложившимся в современной кариологии представлениям, можно говорить о том, что местом происхождения обсуждаемого вида, скорее всего, является западная Пацифика. Это не противоречит высказывавшимся ранее представлениям о флорогенетическом развитии порядка Laminariales в Мировом океане (Stam et al., 1988; Lüning, tom Dieck 1990; Lüning, 1990; Bolton, 2010; Kawai, 2014) и в корне меняет концепцию происхождения и расселения *A. esculenta*, выдвинутую европейскими учеными (Kraan, Guiry, 2000). Предварительно можно говорить о том, что, сформировавшись в северо-западной Пацифике, этот вид проник в северную Атлантику и там увеличил свою плоидность.

Наши исследования показали, что в прикамчатских водах *A. esculenta* представлена двумя экологическими формами. В представленных в работе номенклатурных комбинациях им возвращено их приоритетное историческое название, данное А. Постельсом и Ф.И. Рупрехтом при выделении так называемых «разностей» этого вида – *angustifolia* и *latifolia*, в тихоокеанской части ареала. Обоснованность выделения данных форм видов подтверждается не только устойчивыми морфологическими различиями их спорофитных генераций, но также некоторыми цитохимическими и физиологическими различиями между их гаметофитными генерациями. Стоит отметить, что обнаруженные цитохимические различия, в частности разные углеводные компоненты на поверхности яйцеклеток, дают основание предполагать, что между формами *angustifolia* и *latifolia* существует репродуктивная изоляция.

Проведенные нами полевые наблюдения показали, что для камчатской популяции *A. esculenta* свойствен очень растянутый период спороношения. Этим обеспечивается практически непрерывное присутствие в природных зарослях вида проростков и ювенильных спорофитов. Эксперименты по выращиванию его гаметофитов при разных сочетаниях температуры и длины дня позволяют считать, что развитие *A. esculenta* в природной среде регулируется не столько температурой, сколько фотопериодом. Световой день ниже 8 ч вызывает у этого вида ингибицию гаметогенеза. При этом гаметофиты в течение длительного времени способны сохранять свою жизнеспособность в условиях низкой температуры воды. Увеличение длины дня стимулирует развитие у них репродуктивных органов, оплодотворение яйцеклеток и прорастание зигот.

A. esculenta демонстрирует высокую устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Она в виде ингибированных, часто уродливых растений сохраняется там, где другие бурые водоросли и в том числе ламинариевые исчезают из-за высокого антропогенного загрязнения. В большинстве районов Авачинской губы оно комплексное, вызванное биогенным, фенольным, нефтяным, металлическим и другими видами загрязнений. В ходе проведения экспериментального изучения особенностей протекания жизненного цикла

A. esculenta удалось разработать способ получения рассады ее спорофитов в лабораторных условиях. Это открывает возможность разработки биотехники искусственного культивирования этого вида в загрязненных водоемах с целью улучшения их санитарного и экологического состояния.

Результаты, полученные автором в ходе решения поставленных в диссертации задач исследования, позволяют сформулировать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Анализ состояния изученности представителей рода *Alaria* показал, что в силу чрезвычайной экологической, географической, возрастной, сезонной, индивидуальной и морфологической изменчивости с момента первоописания рода разными исследователями для него было описано 108 видов и внутривидовых таксонов. Последние таксономические ревизии рода в альгофлорах северо-восточной Пацифики привели к дополнительной неопределенности в понимании его объема в дальневосточных морях РФ и подтвердили необходимость повторного изучения аларий в прикамчатских водах.

2. Изучение всех форм фенотипической изменчивости камчатских аларий позволяет говорить о том, что здесь в разных экологических условиях они представлены растениями разных морфотипов. Основным фактором, определяющим формообразование, является гидродинамическая активность. Растения разных морфологических групп различаются шириной пластины и спорофиллов, локализацией на последних сорусов спорангиев. В работе представлена их развернутая морфологическая и эколого-ценотическая характеристика. Описание рода *Alaria* дополнено таксономически значимыми морфологическими признаками курильского вида *A. paradisea*.

3. Изучение типовых гербарных образцов видов и внутривидовых таксонов аларий из отечественных (LE и др.) и зарубежных (SAP, UPS и S) гербарных фондов позволило определить валидность таксонов и использовать полученные сведения для ревизии рода *Alaria* в прикамчатских водах. В соответствии с МКБН для камчатских форм вида *A. esculenta* f. *angustifolia* и f. *latifolia* выделены лектотипы. Они выбраны нами из числа автентичных образцов, собранных в XIX в К.Г. Мертенсом, Г. Кастальским и Ф.Р. Челльманом и хранящихся в гербарных коллекциях БИНа (LE) и Уппсальского университета (UPS).

4. Молекулярно-филогенетический анализ камчатских растений разных морфотипов, относившихся ранее к *A. angusta* и *A. marginata* показал их идентичность и принадлежность к атлантическому виду *A. esculenta*. Их сходство по COI – 96,5–96,9%,

pДНК – 94,5–98,8%, Rubisco – 98,7–99,3%. Молекулярно-генетические данные подтвердили правомерность перевода Курильского вида-эндема *A. paradisea* из рода *Pleuropterum* в род *Alaria*.

5. Изучение жизненного цикла камчатских аларий в лабораторных культурах показало, что развитие их гаметофитов при температуре 10°C, люминесцентном освещении 30 $\mu\text{моль фотон}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и фотопериоде 12:12 ч протекает, как и у других видов ламинариевых. Созревание гамет и их оплодотворение у *A. esculenta* f. *angustifolia* наблюдается на 9 сутки культивирования, еще через сутки у зигот появляется первое деление. У *A. esculenta* f. *latifolia* для созревания гамет требуется 12 дней, а деление зигот начинается на 13 сутки. Период развития камчатских аларий от зооспоры до зооспоры при указанных выше условиях культивирования составил 21 месяц.

6. Культивирование гаметофитов *A. esculenta* при температуре 6–7°C и естественном освещении, соответствующему холодной половине года, подавляет развитие генеративных органов. Длина дня 8 ч и более стимулирует закладку и созревание гамет. Данные особенности протекания жизненного цикла способствуют активному весеннему и летнему воспроизводству макроскопической генерации вида. Благодаря чрезвычайной экологической пластичности и устойчивости к антропогенному загрязнению, *A. esculenta* может быть использована в санитарной марикультуре. В работе представлено развернутое описание получения рассады этого вида от стадии гаплоидных гаметофитов до диплоидных ювенильных спорофитов.

7. Проведенное кариологическое исследование показывает, что камчатская популяция *A. esculenta* в отличие от атлантической имеет вдвое меньший набор хромосом. Это свидетельствует о географической изоляции этих популяций и дает основание рассматривать северо-западную Пацифику как ядро ареала *A. esculenta*. В ходе длительного исторического развития этого вида у побережья Камчатки она сформировала здесь две экологические формы вида. Они различаются между собой морфологией спорофитов, скоростью гаметогенеза, формой и подвижностью мужских гамет, цитохимическим строением, в частности наличием на поверхности яйцеклеток специфичных углеводных рецепторов, способствующих опознаванию мужских гамет, принадлежащих к одноименной форме вида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинова Е.И., Гусарова И.С. Водоросли сублиторали юго-восточного побережья Камчатки // Известия ТИНРО. 1971. Т. 76. С. 139–155.
2. Виноградова К.Л., Ключкова Н.Г., Перестенко Л.П. Список водорослей литорали восточной Камчатки и западной части Берингова моря // Литораль Берингова моря и юго-восточной Камчатки. М: Наука. 1978. С. 150–155.
3. Возжинская В.Б. Морские водоросли западного побережья Камчатки // Новости систематики низших растений. 1965. С. 73–77.
4. Воронихин Н.Н. Морские водоросли Камчатки // Труды Камчатской экспедиции. Ф.П. Рябушинского. Ботаническое отделение. 1914. Вып. 2. С. 475–524.
5. Горбунова Н.П. Альгология. М.: Высшая школа. 1991. 256 с.
6. Гришин С.Ю., Баркалов В.Ю., Верхлат В.П., Рашидов В.А., Шляхов С.А., Яковлева А.Н. Растительный и почвенный покров острова Атласова (Курильские острова) // Комаровские чтения. 2009. Вып. LVI. С. 64–11.
7. Зинова А.Д. Определитель бурых водорослей северных морей СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 1953. 224 с.
8. Зинова Е.С. Морские водоросли юго-восточной Камчатки // Труды Ботанического института АН СССР. Сер. II. 1954. Вып. 9. С. 365–400.
9. Климова А.В. Развитие *Alaria marginata* в условиях антропогенного загрязнения прибрежных вод юго-восточной Камчатки // Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование: материалы IV всероссийской научно-практической конференции. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. 2013а. С. 173–176.
10. Климова А.В. Спорогенез и спороношение у камчатских представителей родов *Alaria* и *Saccharina* // Актуальные вопросы рационального использования водных биологических ресурсов: материалы научной школы молодых ученых и специалистов по рыбному хозяйству и экологии, посвященной 100-летию со дня рождения проф. П.А. Моисеева. М.: ВНИРО.

2013б. С. 369.

11. Климова А.В. Аномальное развитие спороносной ткани у *Alaria angusta* Kjellm. в Авачинском заливе // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: материалы XIII международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. В.Я. Леванидова. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2013в. С. 266–270.
12. Климова А.В. Случаи необычного воспроизводства аляриевых водорослей в Авачинском заливе (юго-восточная Камчатка) // Современные научные достижения – 2014: материалы международной научно-практической конференции. Прага: Education and Science. 2014. С. 30–32.
13. Климова А.В., Ермакова С.В. Распределение запасов ламинариевых водорослей у юго-восточной Камчатки // Вестник КамчатГТУ. 2013. Вып. 23. С. 58–64.
14. Климова А.В., Клочкова Н.Г. Ламинариевые водоросли восточной Камчатки и западной части Берингова моря. История и направления проведенных исследований, новые задачи // Вестник КамчатГТУ. 2014а. Вып. 28. С. 55–67.
15. Климова А.В., Клочкова Т.А. Особенности развития гаметофитной стадии ламинариевой водоросли *Alaria marginata* из Авачинской губы (юго-восточная Камчатка) в искусственных условиях // Исследования водных биологических ресурсов Камчатки и северо-западной части Тихого океана. 2014б. Вып. 35. С.6–12.
16. Климова А.В., Клочкова Т.А. Особенности развития морской бурой водоросли *Alaria angusta* в искусственных условиях (Alariaceae, Ochrophyta) // Биология моря. 2017. Том. 43 (1). С. 32–38.
17. Климова А.В., Доброва М.М., Клочкова Т.А. Хромосомные числа некоторых ламинариевых водорослей восточной Камчатки // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: материалы XVIII международной научной конференции, посвященной 70-летию со дня рождения доктора биологических наук П.А. Хоментовского. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2017. С. 279–283.

18. Климова А.В., Ключкова Т.А., Ключкова Н.Г. О типовых образцах видов рода *Alaria* Greville камчатской альгофлоры // Вестник КамчатГТУ. 2016. Вып. 38. С. 51–62.
19. Климова А.В., Ключкова Т.А., Ключкова Н.Г. Эндемичная ламинариевая водоросль курильских островов *Alaria paradisea* (Laminariales, Phaeophyceae) // Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей: материалы XVIII международной научной конференции, посвященной 70-летию со дня рождения доктора биологических наук П.А. Хоментовского. Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс. 2017. С. 437–441.
20. Ключкова Н.Г., Березовская В.А. Водоросли камчатского шельфа. Распространение, биология, химический состав. Владивосток, Петропавловск: Дальнаука. 1997. 155 с.
21. Ключкова Н.Г., Березовская В.А. Макрофитобентос Авачинской губы и его антропогенная деструкция. Владивосток: Дальнаука. 2001. 208 с.
22. Ключкова Н.Г., Королева Т.А., Кусиди А.Э. Атлас водорослей-макрофитов прикамчатских вод: в 2-х тт. Петропавловск-Камчатский: КамчатНИРО. 2009. Т. 1. 216 с.
23. Литке Ф.П. Путешествие вокруг света, совершенное по повелению императора Николая I на военном шлюпе Сенявине в 1826, 1827, 1828 и 1829 годах, флота капитаном Федором Литке: отделение мореходное с атласом. Санкт-Петербург: Печ. в тип. Х. Гинце. 1835. 356 с.
24. Лопатина Н.А., Климова А.В., Ключкова Н.Г. Современный видовой состав массовых представителей макрофитобентоса Авачинской губы и его сезонные изменения // Природные ресурсы, их современное состояние, охрана, промысловое и техническое использование: материалы VII всероссийской научно-практической конференции. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. 2017. С. 142–147.
25. Лухтанов В.А., Кузнецова В.Г. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики // Журнал общей биологии. 2009. Т. 70 (5). С. 415–437.

26. Макаров В.Н. Поведение зооспор и ранние стадии развития *Laminaria saccharina* Белого и Баренцева морей // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ленинград. 1987. 20 с.
27. Огородников В.С. Водоросли-макрофиты Северных Курильских островов // Дисс. ... канд. биол. наук. Южно-Сахалинск. 2007. 174 с.
28. Очеретяна С.О. Видовой состав и структура альгосообществ «зеленых приливов» в Авачинской губе и устойчивость зеленых водорослей-макрофитов к неблагоприятному воздействию // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский. 2017. 24 с.
29. Ошурков В.В., Бажин А.Г., Буяновский А.И., Иванюшина Е.А., Стрелков В.И., Ржавский А.В. Видовой состав и распределение сообществ бентоса в Авачинской губе // Гидробиологические исследования в Авачинской губе. Владивосток: ДВО АН СССР. 1989. С. 4–14.
30. Петров Ю.Е. Род *Alaria* Grev. в морях СССР // Новости систематики низших растений. 1973. Т. 10. С. 49–59.
31. Петров Ю.Е. Обзорный ключ порядков Laminariales и Fucales морей СССР // Новости систематики низших растений. 1974. Т. 11. С. 153–169.
32. Петров Ю.Е. Ламинариевые и фукусовые водоросли морей СССР (морфология, экология, филогения, систематика) // Автореф. дис. ... док. биол. наук. Л. 1975. 53 с.
33. Савич В.П. Альгологический обезд Авачинской губы в мае 1909 г. // Труды Камчатской экспедиции. Ф.П. Рябушинского. Ботаническое отделение. 1914. Вып. 2. С. 451–472.
34. Саушкина Л.Н. Особенности морфологии бурой водоросли *Laminaria bongardiana* P. et R., связанные с ростом, размножением и условиями обитания // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ. 2006. 25 с.
35. Седова Т.В. Кариология водорослей. СПб, Наука. 1996. 386 с.
36. Суховеева М.В., Подкорытова А.В. Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распространение, запасы, технология

- переработки. Владивосток. 2006. 243 с.
37. Ширина Д.А. Академия наук и экспедиция М.Н. Станюковича - Ф.П. Литке // История, филология и философия. Новосибирск: Наука. 1991. Вып. 2. С. 22–28.
 38. Щапова Т.Ф. Географическое распространение представителей порядка Laminariales в северной части Тихого океана // Труды института океанологии. АН СССР. 1948. Т. 2. С. 89–138.
 39. Abe K. Mitosen im Sporangium von *Laminaria japonica* Arecsh // Science Reports of the Tohoku Imperial University. 1939. Vol. 14. P. 327–329.
 40. Adl S.M., Simpson A.G., Lane C.E., Lukeš J., Bass D., Bowser S.S., Brown M.W., Burki F., Dunthorn M., Hampl V., Heiss A., Hoppenrath M., Lara E., Le Gall L., Lynn D.H., McManus H., Mitchell E.A., Mozley-Stanridge S.E., Parfrey L.W., Pawlowski J., Rueckert S., Shadwick L., Schoch C.L., Smirnov A., Spiegel F.W. The revised classification of eukaryotes // The Journal of Eukaryotic Microbiology. 2012. Vol. 59 (5). P. 429–514.
 41. Agardh J.G. Species genera et ordines algarum, seu descriptiones succinctae specierum, generum et ordinum, quibus algarum regnum constituitur. Volumen Primum. Algas fucoideas complectens. Lundae [Lund]: C.W.K. Gleerup. 1848. pp. [i–vi], [i]–viii, [1]–363.
 42. Agardh J.G. De Laminarieis symbolas offert // Lunds Universitets Årsskrift. 1868. Vol. 4(10). P. 1–36.
 43. Agardh J.G. Bidrag till Kännedomen af Grönlands Laminarieer och Fucaceer // Kongl Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. 1872. Vol. 10 (8). P. 1–31.
 44. Alvarez-Hernandez S., De Lara-Isassi G., Arreguin-Espinoza R., Arreguin B., Hernandez-Santoyo A., Rodriguez-Romero A. Isolation and partial characterization of geraffine, a lectin from the Mexican endemic alga *Codium giraffa* Silva // Botanica Marina. 1999. Vol. 42. P. 573–580.
 45. Ambrosio A.L., Sanz L., Sanchez E., Wolfenstein-Todel C., Calvete J.J. Isolation of two novel mannan- and l-fucose-binding lectins from the green alga *Enteromorpha*

- prolifera*: biochemical characterization of EPL-2 // Archives of Biochemistry and Biophysics. 2003. Vol. 415. P. 245–250.
46. Amsler C.D., Neushul M. Diel periodicity of spore release from the kelp *Nereocystis luetkeana* (Mertens) Postels et Ruprecht // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 1989. Vol. 134. P. 117–127.
 47. Arwidsson T. The higher marine algae hitherto known from Kamtchatka // Revue Algologique. 1932. Vol. 6. P. 147–158.
 48. Bai F.W., Qin S. Study on parthenogenesis of filamentous gametophytes of *Laminaria japonica* (Phaeophyta) // Marine Sciences (Qingdao). 1998. Vol. 6. P. 32–35.
 49. Bachelot de la Pylaie A.J.M. Flora de l'Ile Terre-Neuve et des Iles Saint Pierre et Miclon // Livraison. Paris: Typographie de A. Firmin Didot, rue Jacob. 1830. Vol. 24. P. 1–128.
 50. Bartsch I., Wiencke C., Bischof K., Buchholz C.M., Buck B.H., Eggert A., Feuerpfeil P., Hanelt D., Jacobsen S., Karez R., Karsten U., Molis M., Roleda M.Y., Schubert H., Schumann R., Valentin K., Weinberger F., Wiese J. The genus *Laminaria* sensu lato: recent insights and developments // European Journal of Phycology. 2008. Vol. 43. P. 1–86.
 51. Bell P.R. The alternation of generations // Advances in Botanical Research. 1989. Vol. 16. P. 55–93.
 52. Blinn D.W., Markham J.M. Development of gametophytes of *Alaria marginata* P. & R. and *Hedophyllum sessile* (C. Ag.) Setch. in saline pond water from British Columbia // Phycologia. 1969. Vol. 8 (1). P. 51–55.
 53. Boo G.H., Lindstrom S.C., Klochkova N.G., Yotsukura N., Yang E.C., Kim H.G., Waaland J.R., Cho G.Y., Miller K.A., Boo S.M. Taxonomy and biogeography of *Agarum* and *Thalassiophyllum* (Laminariales, Phaeophyceae) based on sequences of nuclear, mitochondrial, and plastid markers // Taxon. 2011. Vol. 60. P. 831–840.
 54. Bolton J.J. The biogeography of kelps (Laminariales, Phaeophyceae): A global analysis with new insights from recent advances in molecular phylogenetics // Helgoland Marine Research. 2010. Vol. 64 (4). P. 263–279.

55. Bory de Saint-Vincent J.B.G.M. Laminaire, *Laminaria* // In: Dictionnaire Classique d'Histoire Naturelle. (Audouin I. et al. Eds). 1826. Vol. 9. P. 187–194.
56. Bory de Saint-Vincent J.B.G.M. Cryptogamie. In: Voyage autour du monde, exécuté par ordre du Roi, sur la corvette du Sa Majesté, "La Coquille". pendant les années 1822, 1823, 1824 et 1825. Paris: Bertrand. 1827. P. 1–96.
57. Cho G.Y., Klochkova N.G., Krupnova T.N., Boo S.M. The reclassification of *Lessonia laminarioides* (Laminariales, Phaeophyceae): *Pseudolessonia* gen. nov. // Journal of Phycology. 2006. Vol. 42. P. 1289–1299.
58. Cole K. Further chromosome numbers in the Phaeophyceae // Canadian Journal of Genetics and Cytology. 1968. Vol. 10. P. 670–672.
59. De Clerck O., Guiry M.D., Leliaert F., Samyn F., Verbruggen H. Algal taxonomy: A road to nowhere? // Journal of Phycology. 2013. Vol. 49. P. 215–225.
60. De Toni G.B. Sylloge algarum omnium hucusque cognitarum. Vol. III. Fucoideae. Patavii [Padua]: Sumptibus auctoris. 1895. Vol. 3 pp. [i]–xvi, [1]–638.
61. Druehl L.D. Taxonomy and distribution of northeast Pacific species of *Laminaria* // Canadian Journal of Botany. 1968. Vol. 46. P. 539–547.
62. Druehl L.D. The pattern of Laminariales distribution in the northeast Pacific // Phycologia. 1970. Vol. 9. P. 237–247.
63. Druehl L.D. Note: On the taxonomy of California *Laminaria* (Phaeophyta) // Journal of Phycology. 1979. Vol. 15. P. 337–338.
64. Druehl L.D., Boal R. Manipulation of the laminarialean life-cycle and its consequences for kombu mariculture // Proceedings of the International Seaweed Symposium. 1981. Vol. 10. P. 575–580.
65. Dumortier B.-C. Commentationes botanicae. Observations botaniques, dédiées à la Société d'Horticulture de Tournay. Tournay: Imprimerie de Ch. Casterman-Dieu, Rue de pont. 1822. No. 10. pp. [i], [1]–116, [1, tabl., err.].
66. Evans L.V. A large chromosome in the Laminarian nucleus // Nature. 1963. Vol. 198. P. 215.
67. Evans L.V. Cytological studies in the Laminariales // Annals of Botany. 1965. Vol. 29. P. 541–562.

68. Evans L.V. The Phaeophyceae. Part I. // In: The Chromosomes of the Algae (Ed. by M.B.E. Godward). Arnold, London. 1966. P. 122–148.
69. Fang Z.X., Dai J.X. The use of haploid phases in the genetic study of *Laminaria japonica* // Acta Gene Sinica. 1980. Vol. 7. P. 19–25.
70. Fang T.C., Tal J.H., Ou Y.L., Tui C.C., Chen T.C. Some genetic observations on the monoploid breeding of *Laminaria japonica* // Scientia Sinica. 1978. Vol. 21. P. 401–408.
71. Fredriksen S., Sjøtun K., Lein T.E., Rueness J. Spore dispersal in *Laminaria hyperborea* (Laminariales, Phaeophyceae) // Sarsia. 1995. Vol. 80. P. 47–54.
72. Fukuhara Y., Mizuta H., Yasui H. Swimming activities of zoospores in *Laminaria japonica* (Phaeophyceae) // Fisheries Science. 2002. Vol. 68. P. 1173–1181.
73. Gmelin S.G. Historia fucorum. Petropoli [St. Petersburg]: Ex typographia Academiae scientiarum. 1768. 239 p.
74. Goldstein I.J., Hughes R., Monsigny M., Osawa T., Sharon N. What should be called a lectin? // Nature. 1980. Vol. 285. P. 66.
75. Graham L.E., Graham J.M., Wilcox L.W. Algae: 2nd ed. Benjamin Cummings. 2009. 616 p.
76. Grant V. Plant Speciation. 2nd ed. Columbia University Press, New York. 1981. 522 p.
77. Greville R.K. Algae britannicae, or descriptions of the marine and other inarticulated plants of the British islands, belonging to the order Algae; with plates illustrative of the genera. Edinburgh & London: McLachlan & Stewart; Baldwin & Cradock. 1830. pp. [i*–iii*], [i]–lxxxviii, [1]–218, pl. 1–19.
78. Han J.W., Yoon K.S., Klochkova T.A., Hwang M.-S., Kim G.H. Purification and characterization of a lectin, BPL-3, from the marine green alga *Bryopsis plumosa* // Journal of Applied Phycology. 2011. Vol. 23. P. 745–753.
79. Han J.W., Klochkova T.A., Shim J.B., Yoon K., Kim G.H. Isolation and characterization of a sex-specific lectin in a marine red alga *Aglaothamnion oosumiense* Itono // Applied and Environmental Microbiology. 2012. Vol. 78. P. 7283–7289.

80. Hind K.R., Gabrielson P.W., Lindstrom S.C., Martone P.T. Misleading morphologies and the importance of sequencing type specimens for resolving coralline taxonomy (Corallinales, Rhodophyta): *Pachyarthron cretaceum* is *Corallina officinalis* // Journal of Phycology. 2014. Vol. 50. P. 760–764.
81. Hollenberg G.J. 1939. Culture studies of marine algae. I. *Eisenia arborea* // American Journal of Botany. 1939. Vol. 26. P. 34–41.
82. Hori K., Miyazawa K., Ito K. Some common properties of lectins from marine algae // Hydrobiologia. 1990. Vol. 204/205. P. 561–566.
83. Huelsenbeck J.P., Ronquist FMRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // Bioinformatics. 2001. Vol. 17. P. 754–755.
84. Inoh S., Nishibayashi T. On the mitosis in the sporangium of *Undaria pinnatifida* (Harv.) Sur. (Addendum) // La Kromosomo. 1960. Vol. 44/45. P. 1498–1499.
85. Izquierdo J.L., Pérez–Ruzafa, I., Gallardo T. Effect of temperature and photon fluence rate on gametophytes and young sporophytes of *Laminaria ochroleuca* Pylaie // Helgoland Marine Research. 2002. Vol. 55. P. 285–292.
86. Jackson C., Salomaki E.D., Lane C.E., Saunders G.W. Kelp transcriptomes provide robust support for interfamilial relationships and revision of the little known Arthrothamnaceae (Laminariales) // Journal of Phycology. 2017. Vol. 53. P. 1–6.
87. Kai, T., Nimura, K., Yasui, H. & Mizuta, H. Regulation of sorus formation by auxin in Laminariales sporophytes // Journal of Applied Phycology. 2006. Vol. 18. P. 95–101.
88. Kain J.M. A view of the genus *Laminaria* // Oceanography and Marine Biology: An Annual Review. 1979. Vol. 17. P. 101–161.
89. Kalthoff K. Analysis of biological development // International Edition. 2001. 790 p.
90. Kanda T. Of the gametophyte of some Japanese species of Laminariales. I // Scientific papers of the Institute of Algological. Research, Faculty of Science, Hokkaido Imperial University. 1936. Vol. 1 (2). P. 221–260.
91. Kanda T. On the gametophyte of some Japanese species of Laminariales. V // Scientific papers of the Institute of Algological. Research, Faculty of Science,

- Hokkaido Imperial University. 1944. Vol. 3 (1). P. 121–154.
92. Kapraun D.F., Boone P.W. Karyological studies of three species of Scytosiphonaceae (Phaeophyta) from coastal North Carolina, USA // *Journal of Phycology*. 1987. Vol. 23. P. 318–322.
 93. Kawai H. Recent advances in the phylogeny and taxonomy of Laminariales, with special reference to the newly discovered basal member *Aureophycus* // *Perspectives in Phycology*. 2014. Vol. 1 (1). P. 27–40.
 94. Kawai H., Hanyuda T., Ridgeway L.M., Holser K. Ancestral reproductive structure in basal kelp *Aureophycus aleuticus* // *Scientific Reports*. 2013. Vol. 3 (2491). P. 1–7.
 95. Kawai H., Kurogi M. On the life history of *Pseudochorda nagaii* (Pseudochordaceae fam. nov.) and its transfer from the Chordariales to the Laminariales (Phaeophyta) // *Phycologia*. 1985. Vol. 24. P. 289–296.
 96. Kawai H., Sasaki H. Molecular phylogeny of the brown algal genera *Akkesiphycus* and *Halosiphon* (Laminariales), resulting in the circumscription of the new families Akkesiphycaceae and Halosiphonaceae // *Phycologia*. 2000. Vol. 39. P. 416–428.
 97. Kawai H., Hanyuda T., Lindeberg M., Lindstrom S.C. Morphology and molecular phylogeny of *Aureophycus aleuticus* gen. et sp. nov. (Laminariales, Phaeophyceae) from the Aleutian Islands // *Journal of Phycology*. 2008. Vol. 44. P. 1013–1021.
 98. Kawashima S. Laminariacean algae of Japan. Muroran. 1993. 230 p.
 99. Kemp L., Cole K. Chromosomal alternation of generations in *Nereocystis luetkeana* (Mertens) Postels and Ruprecht // *Canadian Journal of Botany*. 1961. Vol. 39. P. 1711–1724.
 100. Kim G.H., Han H. K., Lim K.J. Taxonomic re-appraisal of *Anthithamnion sparsum* Tokida (Ceramiaceae, Rhodophyta) // *Journal of Environmental Biology*. 2008. Vol. 29 (4). P. 547–553.
 101. Kim G.H., Klochkova T.A., Yoon K.-S., Lee K.P. Purification and characterization of a lectin, bryohealin, involved in the protoplast formation of a marine green alga *Bryopsis plumosa* (Chlorophyta) // *Journal of Phycology*. 2006. Vol. 42. P. 86–95.

102. Kjellman F.R. Om Beringhafvets algflora [About the Bering Sea algae] // Kongl. Svenska Vetenskaps-Akademiens Handlingar. 1889. Vol. 23 (8). P. 1–58, pls I–VII.
103. Klimova A.V., Klochkova T.A., Klochkova N.G., Kim G.H. Morphological and molecular identification of *Alaria paradisea* (Phaeophyceae, Laminariales) from the Kurile Islands // *Algae*. 2018. Vol. 33 (1). P. 37–48.
104. Klochkova N.G. An annotated bibliography of marine macroalgae of the northwest coast of the Bering Sea and Southeast Kamchatka. First Revision of Flora // *Algae*. 1998. Vol. 13 (4). P. 375–418.
105. Klochkova T.A., Cho G.-Y., Boo S.M., Chung K.W., Kim S., Kim G.H. Interactions between marine facultative epiphyte *Chlamydomonas* sp. (Chlamydomonadales, Chlorophyta) and ceramiacean algae (Rhodophyta) // *Journal of Environmental Biology*, special issue «Marine Environmental Biology». 2008. Vol. 29. P. 427–435.
106. Klochkova T.A., Kang S.-H., Cho G.Y. et al. Biology of a terrestrial green alga *Chlorococcum* sp. (Chlorococcales, Chlorophyta) collected from the Miruksazi stupa in Korea // *Phycologia*. 2006. Vol. 45. P. 115–124.
107. Klochkova T.A., Kim G.H., Belij M.N., Klochkova N.G. Morphology and phytogeography of *Laminaria appressirhiza* and *L. inclinatorhiza* (Phaeophyceae) from the Sea of Okhotsk // *Algae*. 2012. Vol. 27. P. 139–153.
108. Klochkova T.A., Kim G.H., Lee K.M., Choi H.-G., Belij M.N., Klochkova N.G. Brown algae (Phaeophyceae) from Russian Far Eastern seas: re-evaluation of *Laminaria multiplicata* Petrov et Suchovejeva // *Algae*. 2010. Vol. 25. P. 77–87.
109. Klochkova T.A., Klochkova N.G., Yotsukura N., Kim G.H. Morphological, molecular, and chromosomal identification of dwarf haploid parthenosporophytes of *Tauya basicrassa* (Phaeophyceae, Laminariales) from the Sea of Okhotsk // *Algae*. 2017. Vol. 32. P. 15–28.
110. Kraan S., Guiry M.D. Sexual hybridization experiments and phylogenetic relationships as inferred from rubisco spacer sequences in the genus *Alaria* (Phaeophyceae) // *Journal of Phycology*. 2000. Vol. 36. P. 190–198.

111. Kraan S., Guiry M.D. Phase II: Strain hybridization field experiments and genetic fingerprinting of the edible brown seaweed *Alaria esculenta* // Marine Resource Series. 2001. Vol. 18. P. 1–33.
112. Kraan S., Rueness J., Guiry M.D. Are North Atlantic *Alaria esculenta* and *A. grandifolia* (Alariaceae, Phaeophyceae) conspecific? // European Journal of Phycology. 2001. Vol. 39. P. 35–42.
113. Kützing F.T. Species algarum. Lipsiae [Leipzig]: F.A. Brockhaus. 1849. pp. [i] – vi, [1] –922.
114. Kylin H. Ueber den Generationswechsel bei *Laminaria digitata* // Svensk Bot. Tidsk. 1916. Vol. 10. P. 551–561.
115. Kylin H. Studien uber die Entwicklungsgeschichte der Phaeophyceen // Svensk bot. Tidsk. 1918. Vol. 12. P. 1–64.
116. Lamouroux J.V.F. Essai sur les genres de la famille des thalassiophytes non articulées // Annales du Muséum d'Histoire Naturelle, Paris. 1813. Vol. 20. P. 21–47, 115–139, 267–293, pls 7–13.
117. Lane C.E., Lindstrom S.C., Saunders G.W. A molecular assessment of northeast Pacific *Alaria* species (Laminariales, Phaeophyceae) with reference to the utility of DNA barcoding // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2007. Vol. 44. P. 634–648.
118. Lane C.E., Mayes C., Druehl L.D., Saunders G.W. A multi-gene molecular investigation of the kelp (Laminariales, Phaeophyta) supports substantial taxonomic re-organization // Journal of Phycology. 2006. Vol. 42. P. 493–512.
119. Lane C.E., Saunders G.W. Molecular investigation reveals epi/endophytic extrageneric kelp (Laminariales, Phaeophyceae) gametophytes colonizing *Lessoniopsis littoralis* thalli // Botanica Marina. 2005. Vol. 48. P. 426–436.
120. Lee R.E. Phycology. 4th ed. Cambridge University press, New York. 2008. 547 p.
121. Lewis R.J. Chromosomes of the brown algae // Phycologia. 1996. Vol. 35. P. 19–40.
122. Lewis R.J., Jiang B.Y., Neushul M., Fei X.G. Haploid parthenogenetic sporophytes of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae) // Journal of Phycology. 1993. Vol. 29. P.

- 363–369.
123. Lewis R.J., Neushul M. Northern and Southern Hemisphere hybrids of *Macrocystis* (Phaeophyceae) // *Journal of Phycology*. 1994. Vol. 30. P. 346–353.
 124. Linnaeus C. *Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas*. Holmiae [Stockholm]: Impensis Laurentii Salvii. 1753. Vol. 2 pp. [i], 561–1200, [1–30, index], [i, err.].
 125. Liu Y., Bi Y., Gu J., Li L., Zhou Z. Localization of a female-specific marker on the chromosomes of the brown seaweed *Saccharina japonica* using Fluorescence In Situ Hybridization // *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(11): e48784. doi:10.1371/journal.pone.0048784.
 126. Liu Y., Li L., Wu W., Zhou Z. A SCAR molecular marker specifically related to the female gametophytes of *Saccharina (Laminaria) japonica* (Phaeophyta) // *Journal of Phycology*. 2009. Vol. 45. P. 894–897.
 127. Lüning K. Critical levels of light and temperature regulating the gametogenesis of three *Laminaria* species // *Journal of Phycology*. 1980. Vol. 16. P. 1–15.
 128. Lüning K. Photoperiodic control of sorus formation in the brown alga *Laminaria saccharina* // *Marine Ecology Progress Series*. 1988. Vol. 45. P. 137–144.
 129. Lüning K. *Seaweeds: their environment, biogeography and ecophysiology*. John Wiley, New York. 1990. 527 p.
 130. Lüning K., Tom Dieck I. The distribution and evolution of the Laminariales: North Pacific-Atlantic relationships // In: Garbary D.J., South G.R. (eds) *Evolutionary biogeography of the marine Algae of the North Atlantic*. NATO ASI Series, Springer, Berlin. 1990. P. 187–204.
 131. Lüning K., Dring M. Reproduction, growth and photosynthesis of gametophytes of *Laminaria saccharina* grown in blue and red light // *Marine Biology*. 1975. Vol. 29. P. 195–200.
 132. Maier I. Culture studies of *Chorda tomentosa* (Phaeophyta, Laminariales) // *British Phycological Journal*. 1984. Vol. 19. P. 95–106.
 133. Markham J.W. An ecological study of *Laminaria sinclairii* and *L. longipes* // *Ph.*

- D. dissertation. University of British Columbia: Vancouver. 1969. 153 p.
134. Markham J.W. Observations on the ecology of *Laminaria sinclairii* on three northern Oregon beaches // *Journal of Phycology*. 1973. Vol. 9. P. 336–341.
135. McKay H.H. The life-history of *Pterygophora californica* Ruprecht // *University California Publications in Botany*. 1933. Vol. 17. P. 111–148.
136. Melo F.R., Benevides N.M.B., Pereira M.G., Holanda M.L., Mendes F.N.P., Oliveira S.R.M., Feritas A.L.P., Silvia L.M.C.M. Purification and partial characterization of a lectin from the red marine alga *Vidalia obtusiloba* C. Agardh // *Revista Brasileira de Botanica*. 2004. Vol. 27. P. 263–269.
137. Migula W. Kryptogamen-Flora von Deutschland, Deutsch-Österreich und der Schweiz im Anschluß an Thome's Flora von Deutschland. Band II. Algen. 2. Teil. Rhodophyceae, Phaeophyceae, Characeae. Gera, R.: Verlag Friedrich von Zezschwitz. 1909. pp. i–iv, 1–383, 122 (41 col.) pls.
138. Miyabe K. On the Laminariaceae of Hokkaido // *Hokkaido Aquatic Products Investigation Reports Hokkaido Government Colonization Resources Development*. 1902. Department 3. P. 1–60, 41 pls.
139. Miyabe K., Nagai M. *Pleuropterum paradiseum*, a new genus and species of Alarieae from the northern Kuriles // *Proceedings of the Imperial Academy of Japan*. 1932. Vol. 8. P. 127–130.
140. Miyabe K., Nagai M. Laminariaceae of the Kurile Islands // *Transactions of the Sapporo Natural History Society*. 1933. Vol. 13. P. 85–102.
141. Motomura T. Immunofluorescence microscopy of fertilization and parthenogenesis in *Laminaria angustata* (Phaeophyta) // *Journal of Phycology*. 1991. Vol. 27. P. 248–257.
142. Motomura T. Ultrastructure and immunofluorescence studies of zoosporogenesis in *Laminaria angusta* // *Scientific papers of the Institute of Algological Research*. 1993. Vol. 9. P. 1–32.
143. Motomura T., Sakai Y. Effect of chelated iron in culture media on oogenesis in *Laminaria angustata* // *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish*. 1981. Vol. 47. P. 1535–1540.

144. Motomura T., Sakai Y. Ultrastructural studies of gametogenesis in *Laminaria angustata* (Laminariales, Phaeophyta) regulated by iron concentration in the medium // *Phycologia*. 1984. Vol. 23. P. 331–343.
145. Motomura T., Sakai Y. The occurrence of flagellated eggs in *Laminaria angustata* (Phaeophyta, Laminariales) // *Journal of Phycology*. 1988. Vol. 24. P. 282–285.
146. Müller D.G., Gassman, G., Lüening K. Isolation of a spermatozoid–releasing and attracting substance from female gametophytes of *Laminaria digitata* // *Nature*. 1979. Vol. 279. P. 430–431.
147. Müller D.G., Boland W., Becker U., Wahl T. Caudoxirene, the spermatozoid–releasing and attracting factor in the marine brown alga *Perithalia caudate* (Phaeophyceae, Sporochnales) // *The Journal of Biological Chemistry*. 1988. Vol. 369. P. 655–659.
148. Müller D.G., Peters A.F., Gassman G., Boland W., Marner F.–J., Jaenicke L. Identification of a sexual hormone and related substances in the marine brown alga *Desmarestia* // *Naturwissenschaften*. 1982. Vol. 69. P. 290.
149. Myers M. The life-history of brown alga, *Egregia menziesii* // *University California Publications in Botany*. 1928. Vol. 14. P. 225–246.
150. Nagai M. On a new species of *Cymathaere* from the Kurile Islands // *Proceedings of the Imperial Academy*. 1933. Vol. 9(9). P. 531–534.
151. Nagai M. Marine algae of the Kurile Islands, I. // *Journal of the Faculty of Agriculture, Hokkaido Imperial University*. 1940. Vol. 46. P. 1–137.
152. Nakahara H. Alternation of generations of some brown algae in unialgal and axenic cultures // *Scientific Papers of the Institute of Algological Research, Faculty of Science, Hokkaido University*. 1984. Vol. 7. P. 77–292.
153. Nimura K., Mizuta H. Inducible effects of abscisic acid on sporophyte discs from *Laminaria japonica* Areschoug (Laminariales, Phaeophyceae) // *Journal of Applied Phycology*. 2002. Vol. 14. P. 159–63.
154. Nimura K., Mizuta H., Yamamoto H. Critical contents of nitrogen and phosphorus for sorus formation in four *Laminaria* species // *Botanica Marina*. 2002. Vol. 45. P. 184–188.

155. Nishibayashi T., Inoh S. Morphogenetical studies in Laminariales I. The development of zoosporangia and the formation of zoospores in *Laminaria angustata* Kjellm // Biological Journal of Okayama University. 1956. Vol. 2. P. 147–158.
156. Nishibayashi T. Inoh S. The formation of zoospores in *Undaria undarioides* (Yendo) Okamura // Botanical Magazine. 1960. Vol. 73. P. 494–496
157. Norton T.A. Dispersal by macroalgae // Br. Phycol. J. 1992. Vol. 27. P. 293–301.
158. Ohmori T. Morphogenetical studies on Laminariales // Biological Journal of Okayama University. 1967. Vol. 13. P. 23–84.
159. Okamura K. Algae from Kamtschatka // Records of Oceanographic Works in Japan. 1928. Vol. 1. P. 52–55.
160. Oliveira S.R.M., Nascimento A.E., Lima M.E.P., Leite Y.F.M.M., Benevides N.M.B. Purification and characterization of a lectin from the red marine alga *Pteocladia capillacea* (S.G. Gmel.) Santel. et Hommers // Brazilian Journal of Botany. 2002. Vol. 25. P. 397–403.
161. Oppliger L.V., Correa J.A., Faugeron S., Tellier F., Beltrán J., et al. Sex ratio variation in the *Lessonia nigrescens* complex (Laminariales, Phaeophyceae): effects of latitude, temperature and marginality // Journal of Phycology. 2011. Vol. 47. P. 5–12.
162. Pfister C.A. Reproductive plasticity in the kelp *Alaria nana* // Journal of Phycology. 1991. Vol. 27. P. 763–766.
163. Postels A., Ruprecht F. Illustrationes algarum in itinere circum orbem jussu imperatoris Nicolai I. Atque auspiciis navarchi Friderici Lütke annis 1826, 1827, 1828 et 1829 celoce Seniavin exsecuto in Oceano pacifico, inprimis septemtrionale ad littora rossica asiatico-americana collectarum. Petropoli [St. Petersburg]: Typis Eduardi Pratz, 1840. pp. [i–vi], [i]– iv, 1–28 [1–2, index], [Latin:] [–iv], [1]–22, [1–2, index], 40 pls.
164. Reed D.C., Amsler C.D., Ebeling A.W. Dispersal in kelps: Factors affecting spore swimming and competency // Ecology. 1992. Vol. 73 (5). P. 1577–1585.
165. Reed D.C., Laur D.R., Ebeling A.W. Variation in algal dispersal and recruitment:

- the role of episodic events // *Ecological Monograph*. 1988. Vol. 58. P. 321–335.
166. Reisewitz S.E., Estes J.A., Simenstad C.A. 2006. Indirect food web interactions: sea otters and kelp forest fishes in the Aleutian archipelago // *Oecologia*. Vol. 146. P. 623–631.
167. Roberts M. The Phaeophyceae. Part II // In: *The Chromosomes of the Algae* (Ed. by M.B.E. Godward). 1966. P. 149–167.
168. Robinson G.G.C. Cytological investigations of the genus *Alaria* Greville, as it occurs on the west coast of North America // Ph.D. Dissertation. Vancouver: University of British Columbia. 1967. 136 p.
169. Robinson G.G.C., Cole K. Cytological investigations of some North American species of the genus *Alaria* Greville. I. Meiosis // *Botanica Marina*. 1971a. Vol. 14. P. 53–58.
170. Robinson G.G.C., Cole K. Cytological investigations of some North American species of the genus *Alaria* Greville. II. Fertilization and the chromosomal alternation of generations // *Botanica Marina*. 1971b. Vol. 14. P. 59–62.
171. Rogers D.J., Hori K. Marine algal lectins: new developments // *Hydrobiologia*. 1993. Vol. 260/261. P. 589–593.
172. Ruprecht F.J. *Algae ochotenses*. Die ersten sicheren Nachrichten über die Tange des Ochotskischen Meeres. St. Petersburg: Buchdruckerei der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. 1850. P. 1–243, 10 pls.
173. Sasaki H., Kawai H. Taxonomic revision of the genus *Chorda* (Chordaceae, Laminariales) on the basis of sporophyte anatomy and molecular phylogeny // *Phycologia*. 2007. Vol. 46. P. 10–21.
174. Saunders G.W., Druehl L.D. Revision of the kelp family Alariaceae and the taxonomic affinities of *Lessoniopsis* Reinke (Laminariales, Phaeophyta) // *Proceedings of the International Seaweed Symposium*. 1993. Vol. 14. P. 689–697.
175. Sauvageau C. Sur le developement et la biologie d'une Laminaire (*Sacchoriza bulbosa*) // *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. 1915. Vol. 161. P. 740.
176. Setchell W.A., Gardner N.L. *Algae of northwestern America* // *University of California Publications in Botany*. 1903. Vol. 1. P. 165–418.

177. Setchell W.A. On the classification and geographical distribution of the Laminariaceae // Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences. 1893. Vol. 9. P. 333–375.
178. Setchell W.A., Gardner N.L. The marine algae of the Pacific coast of North America. Part III. Melanophyceae // University of California Publications in Botany. 1925. Vol. 8. P. 383–898.
179. Silberfeld T., Rousseau F., de Riviers B. An Updated Classification of Brown Algae (Ochrophyta, Phaeophyceae) // Cryptogamie, Algologie. 2014. Vol. 35 (2). P. 117–156.
180. Silva P.C. The benthic algal flora of central San Francisco Bay // In: San Francisco Bay: the Urbanized Estuary. (Conomos, T.J. Eds), San Francisco: Pacific Division, American Association for the Advancement of Science. 1979. P. 287–345.
181. Sharon N., Lis H. Lectins as cell recognition molecules // Science. 1989. Vol. 177. P. 949–959.
182. Shim E., Shim J.B., Klochkova T.A., Han J.W., Kim G.H. Purification of a sex-specific lectin involved in gamete binding of *Aglaothamnion callophyllidicola* (Rhodophyta) // Journal of Phycology. 2012. Vol. 48. P. 916–924.
183. Stackhouse J. *Nereis britannica*; continens species omnes fucorum in insulis britannicis crescentium: descriptione latine et anglico, necnon iconibus ad vivum depictis. Bathoniae [Bath] & Londini [London]: S. Hazard; J. White. 1797. Fasc. 2. pp. ix–xxiv, 31–70, pls IX–XIII.
184. Stackhouse J. Tentamen marino-cryptogamicum, ordinem novum; in genera et species distributum, in Classe XXIV ta Linnaei sistens // Mémoires de la Société Imperiale des Naturalistes de Moscou. 1809. Vol. 2. P. 50–97.
185. Stackhouse J. *Nereis britannica* Editio altera. Nova addita classificatione cryptogamiarum [sic] respectu generis Fuci. Oxonii [Oxford]: excudebat S. Collingwood. 1816. pp. [i]–xii, [i]–68, 20 pls.
186. Stam W.T., Bot P.V.M., Boele-Bos S.A., van Rooij J.M., van den Hoek C. Single-copy DNA-DNA hybridizations among Wve species of *Laminaria* (Phaeophyceae): phylogenetic and biogeographic implications // Helgoländer

- Meeresunters. 1988. Vol. 42. P. 251–267.
187. Stamatakis A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30. P.1312–1313.
188. Steneck R.S., Graham M.H., Bourque B.J., Corbett D., Erlandson J.M., Estes J.A., Tegner M.J. 2002. Kelp forest ecosystems: biodiversity, stability, resilience and future // *Environmental Conservation*. Vol. 29. P. 436–459.
189. Sutherland J.E., Lindstrom S.C., Nelson W.A., Brodie J., Lynch M., Hwang M.S., Choi H.G., Miyata M., Kikuchi N., Oliveira M., Farr T., Neefus C., Mols-Mortensen A., Milstein D., Müller K. A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta) // *Journal of Phycology*. 2011. Vol. 47. P. 1131–1151.
190. Thuret G. Recherché sur les zoospores des Algus et les antherides des Cryptogams // *Annales des sciences naturelles. Botanique*. 1850. Ser. 3. P. 14.
191. tom Dieck I. Circannual growth rhythm and photoperiodic sorus induction in the kelp *Laminaria setchellii* (Phaeophyta) // *Journal of Phycology*. 1991. Vol. 27. P. 341–350.
192. tom Dieck I. North Pacific and North Atlantic digitate *Laminaria* species (Phaeophyta): Hybridization experiments and temperature responses // *Phycologia*. 1992. Vol. 31. P. 147–163.
193. tom Dieck I. Temperature tolerance and survival in darkness of kelp gametophytes (Laminariales, Phaeophyta): ecological and biogeographical implications // *Marine Ecology Progress Series*. 1993. Vol. 100. P. 253–264.
194. tom Dieck I., de Oliveira E.C. The section Digitatae of the genus *Laminaria* (Phaeophyta) in the northern and southern Atlantic: Crossing experiments and temperature responses // *Marine Biology*. 1993. Vol. 115. P. 151–160.
195. Walker F.T. The chromosome number of *Laminaria digitate* // *Annals of Botany*. 1954. Vol. 18. P. 112–118.
196. Widdowson T.B. A taxonomic revision of the genus *Alaria* Greville // *Syesis*. 1971. Vol. 4. P. 11–49.
197. Williams J.L. Germination of the zoospores in Laminariaceae // *Nature*. 1900.

- Vol. 62 (1616). P. 613.
198. Williams J.L. The zoospores of the Laminariaceae and their germination // Report of the British Association for the Advancement of Science. 82d meeting. 1912. P. 685–686.
 199. Wynne M.J. Marine algae and early explorations in the upper North Pacific and Bering Sea // *Algae*. 2009. Vol. 24. P. 1–29.
 200. Wynne M.J. Phaeophyceae // In: *Synopsis and classification of living organisms* (S.P. Parker, ed.), McGraw-Hill, NY. 1982. P. 115–125.
 201. Yabu H. Nuclear division in the sporangium of *Alaria crassifolia* Kjellm // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1957. Vol. 8. P. 185–189.
 202. Yabu H. On nuclear division in the zoosporangium of *Laminaria diabolica* Miyabe // *Bulletin of the Japanese Society of Phycology*. 1958. Vol. 6. P. 57–60.
 203. Yabu H. Mitosis in the sporangium of *Agarum cribrosum* Bory and *Alaria praelonga* Kjellman // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1964. Vol. 15. P. 1–4.
 204. Yabu H. Nuclear division in the zoosporangium of *Laminaria angustata* var. *longissima* Miyabe and *Kjellmaniella gyrata* (Kjellm.) Miyabe // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1965. Vol. 15. P. 205–206.
 205. Yabu H. Alternation of chromosomes in the life history of *Laminaria japonica* // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1973. Vol. 23. P. 171–176.
 206. Yabu H., Notoya M. Nuclear divisions in the young sporophytes of *Ecklonia stolonifera* // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1985. Vol. 36. P. 83–86.
 207. Yabu H., Sanbonsuga Y. Mitosis in the gametophytes and young sporophytes of *Macrocystis angustifolia* // *Japanese Journal of Phycology*. 1985. Vol. 33. P. 1–4.
 208. Yabu H., Sanbonsuga Y. Chromosome count in *Macrocystis integrifolia* Bory // *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 1987. Vol. 38. P. 339–342.

209. Yabu H., Sanbonsuga Y. Mitosis in the female gametophytes and young sporophytes of *Laminaria diabolica* f. *longipes* Miyabe et Tokida // Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University. 1990. Vol. 41. P. 8–12.
210. Yabu H., Taniguchi K. Mitosis in the young sporophytes of *Ecklonia kurome* Okamura // Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University. 1990. Vol. 41. P. 57–60.
211. Yabu H., Tokida J. On nuclear division in the sporangium of *Arthrothamnus bifidus* (Gmel.) J. Ag. // Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University. 1963. Vol. 14. P. 37–39.
212. Yamada Y. Marine algae from Urup, the middle Kuriles, especially from the vicinity of Iema Bay // Scientific Papers of the Institute of Algological Research. 2015. Vol. 1. P. 1–26.
213. Yarish C., Penniman C.A., Egan B. Growth and reproductive responses of *Laminaria longicruris* (Laminariales, Phaeophyta) to nutrient enrichment // Hydrobiologia. 1990. Vol. 204/205. P. 505–511.
214. Yendo K. A monograph of the genus *Alaria* // Journal of the College of Science, Tokyo Imperial University. 1919. Vol. 43. P. 1–145.
215. Yoon H.S., Boo S.M. Phylogeny of Alariaceae (Phaeophyta) with special reference to *Undaria* based on sequences of the RuBisCo spacer region // Hydrobiologia. 1999. Vol. 398/399. P. 47–55.
216. Yoon H.S., Lee J.Y., Boo S.M. et al. Phylogeny of Alariaceae, Laminariaceae, and Lessoniaceae (Phaeophyceae) based on plastid-encoded Rubisco spacer and nuclear-encoded ITS sequence comparisons // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2001. Vol. 21. P. 231–243.
217. Yoshida T., Suzuki M., Yoshinaga K. Checklist of marine algae of Japan (Revised in 2015) // Japanese Journal of Phycology. 2015. Vol. 63. P. 129–189.
218. Yotsukura N., Denboh T., Motomura T., Horiguchi T., Coleman A.W., Ichimura T. Little divergence in ribosomal DNA internal transcribed spacer -1 and -2 sequences among non-digitate species of *Laminaria* (Phaeophyceae) from Hokkaido // Phycological Research. 1999. Vol. 47. P. 71–80.

219. Yotsukura N., Druehl L.D. A new name for *Laminaria sachalinensis* (Laminariales, Phaeophyceae) // Journal of Japanese Botany. 2009. Vol. 84. P.113.
220. Yotsukura N., Kawai T., Kawashima S. et al. Nucleotide sequence diversity of the 5S rDNA spacer in the simple blade kelp genera *Laminaria*, *Cymathaere* and *Kjellmaniella* (Laminariales, Phaeophyceae) from northern Japan // Physiological Research. 2006. Vol. 54. P. 269–279.
221. Yotsukura N., Kawashima S., Kawai T. et al. A systematic re-examination of four *Laminaria* species: *L. japonica*, *L. religiosa*, *L. ochotensis* and *L. diabolica* // Journal of Japanese Botany. 2018. Vol. 83. P. 165–176.
222. Yotsukura N., Nagai N., Kawai T. A taxonomic re-examination of *Saccharina longipedalis* (Laminariales, Phaeophyceae), an endemic kelp species around Lake Akkeshi in eastern Hokkaido, Japan // Botanica Marina. 2016. Vol. 59. P. 205–210.
223. Указ Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642: «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации». Министерство образования и науки Российской Федерации. URL: <https://xn--80abucjiibhv9a.xn--p1ai/%D0%B4%D0%BE%D0%BA%D1%83%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D1%8B/10528/%D1%84%D0%B0%D0%B9%D0%B9/9482/%D0%A3%D0%BA%D0%B0%D0%B7%20642%20%D0%BE%D1%82%2001.12.2016.pdf> (дата обращения: 20.02.2018).
224. FAO. 2016. Fisheries & Aquaculture – fisheries and aquaculture fact sheets. URL <http://www.fao.org/fishery/factsheets/en> (дата обращения: 20.02.2018).
225. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. URL: <http://www.algaebase.org> (дата обращения: 31.01.2018).
226. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code). URL: <http://www.iapt-taxon.org/nomen/main.php> (дата обращения: 28.01.2018).
227. Macroalgal Herbarium Portal. URL: <http://macroalgae.org/portal/index.php> (дата обращения: 27.02.2018).

228. MyOcean. URL: <http://marine.copernicus.eu> (дата обращения: 25.02.2018)
229. National Center for Biotechnology Information (NCBI). GenBank. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 27.02.2018).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- А – Атлантика
- БИН РАН – Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Российская академия наук
- ВНИРО – Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
- ВП – восточная Пацифика
- ДВР – Дальний Восток России
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЗП – западная Пацифика
- МКБН (ICBN) – международный кодекс ботанической номенклатуры
- мкм – микрон
- ТИНРО – Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр
- ФИТЦ-меченные лектины – флуоресцеин изотиоционат-меченные лектины
- 2n – диплоидный набор хромосом
- COI – cytochrome c oxidase subunit 1
- n – гаплоидный набор хромосом
- NCBI – National Center for Biotechnology Information
- rDNA – ribosomal DNA (pДНК)
- Rubisco – Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase
(рибулозобисфосфаткарбоксилаза)