

УДК 581.1

Е. Р. Тараховская¹, Ю. И. Маслов¹, А. И. Раилкин², А. Р. Бесядовский³**ВЛИЯНИЕ ГИДРОДИНАМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА РОСТ И МОРФОГЕНЕЗ ЭМБРИОНОВ *FUCUS VESICULOSUS* L. (РНАЕОРНУТА)**¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра физиологии и биохимии растений² Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра зоологии беспозвоночных³ Санкт-Петербургский государственный морской технический университет, кафедра гидроаэромеханики и морской акустики

Введение. Рост и развитие морских макрофитов регулируются многими факторами, такими, как интенсивность и спектральный состав света, доступность минеральных веществ, температура, межвидовая и внутривидовая конкуренция за территорию и ресурсы, воздействие фитофагов и, конечно, гидродинамические характеристики [2, 16, 18]. Известно, что интенсивное перемешивание воды необходимо для нормального развития гидрофитов, а продукция макрофитов в зонах, подверженных сильному волнению, превышает продукцию водорослей, растущих в местах, защищенных от ветрового воздействия [1, 10, 24]. В то же время детальным исследованиям влияния гидродинамических условий на поглощение и усвоение водорослями питательных элементов до сих пор уделялось мало внимания [7, 8].

Известно [16, 26], что в естественных условиях в водоемах встречаются все основные варианты гидродинамического режима: ламинарный поток (слои жидкости практически параллельны друг другу), турбулентный поток (жидкость интенсивно перемешивается, образуя завихрения) и промежуточный вариант (слои жидкости не параллельны друг другу, но и не образуют завихрений). В физике тот или иной режим течения жидкости характеризуется числом Рейнольдса (Re), которое показывает соотношение между инерционными силами и силами вязкости [9, 13]. При обтекании потоком каких-либо объектов определение гидродинамического режима осуществляется согласно следующему уравнению: $Re = cvl/\mu$, где c – плотность, v — скорость потока, l — характерный линейный размер обтекаемого объекта и μ — динамический коэффициент вязкости жидкости. Для водорослей с пластинчатым талломом, таких, как *Laminaria*, характерным линейным размером является длина пластины [16], а для эмбрионов *Fucus vesiculosus* (рис. 1, А), послуживших объектом для данного исследования, — максимальный диаметр (рис. 1, Б).

С точки зрения экологии и физиологии водорослей наибольший интерес представляет ситуация, характеризующаяся низкими значениями числа Рейнольдса ($Re \ll 1$). В этих условиях силы вязкости доминируют, и поток можно считать практически ламинарным. В случае ламинарного течения процессы переноса массы и энергии между слоями жидкости осуществляются достаточно медленно, в основном за счет диффузии, что создает значительные трудности для обмена водных организмов с окружающей средой.

Хорошими объектами для изучения влияния гидродинамических условий на рост и развитие литоральных макроводорослей являются прорастающие споры и зиготы, а также

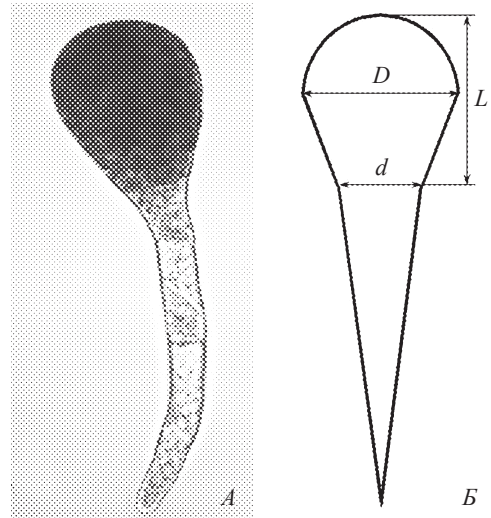
растения в стадии раннего эмбриогенеза. Именно на этих стадиях развития водоросли часто оказываются в особо невыгодных условиях, поскольку находятся в пограничном слое воды, прилегающем к обтекаемой поверхности, в котором скорость течения и интенсивность перемешивания значительно снижены, вплоть до полной ламинаризации потока [16]. Взрослые организмы, размеры которых больше толщины пограничного слоя, чаще оказываются в условиях промежуточного или турбулентного течения.

В ходе эмбрионального развития водорослей происходят ключевые события морфогенеза, такие, как поляризация и формирование апикальных меристем [14, 23]. Изменение интенсивности и направленности роста и, как следствие, изменение морфологии являются одним из основных способов адаптации организмов к гидродинамическим условиям. При этом даже незначительные, на первый взгляд, морфологические изменения могут иметь адаптивную ценность для растения — дать ему определенные конкурентные преимущества, которые обеспечат процветание в сообществе, и даже приведут к появлению новых функций [17, 20].

Удобными модельными объектами для изучения влияния гидродинамических условий на рост и развитие растений могут служить литоральные бурые макроводоросли (родов *Fucus* и *Ascophyllum*) на ранних стадиях эмбрионального развития. В период размножения *F. vesiculosus* (с середины июля до начала сентября) возможно получение больших количеств гамет этой водоросли в лабораторных условиях. При этом яйцеклетки могут быть оплодотворены одновременно с получением синхронной культуры эмбрионов, которая в дальнейшем поддерживается в течение нескольких месяцев. После оплодотворения зиготы фукуса выделяют адгезивные вещества, при помощи которых они прочно прикрепляются к различным субстратам, в том числе и к искусственным, что позволяет экспериментировать с ними, а также выращивать в контролируемых аквариальных условиях.

Цель данной работы заключается в исследовании влияния гидродинамических условий (ламинарное, промежуточное и турбулентное течения) на рост и морфогенез эмбрионов *F. vesiculosus*.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования послужили эмбрионы литоральной бурой водоросли фукуса пузырчатого (*Fucus vesiculosus* L.). Материал был собран в районе Морской биологической станции Санкт-Петербургского государственного университета (Белое море)



$$V = \frac{\pi}{12} \times (LD^2 + LDd + Ld^2 + \frac{1}{2}D^3 - \frac{1}{2}D^2d - \frac{1}{2}Dd^2);$$

$$S = \frac{\pi}{4} \times [(D + d)\sqrt{4L^2 - 4LD + 2D^2 - 2Dd + d^2} + 2D^2]$$

Рис. 1. Определение размерных характеристик эмбрионов *F. vesiculosus*

А — 3-суточный эмбрион *F. vesiculosus*; Б — схема эмбриона, принятая для расчета размерных характеристик; L — длина талломической части эмбриона; D — максимальный диаметр; d — минимальный диаметр; V — объем талломической части эмбриона; S — площадь поверхности талломической части эмбриона.

в августе–сентябре 2005–2007 гг. Получение гамет, оплодотворение и выращивание синхронной культуры эмбрионов осуществляли в основном по стандартной методике [3, 23]. В качестве субстратов для выращивания эмбрионов использовали прямоугольные пластины из оргстекла размером 5×10 см. На каждой пластине отмечали 3 поля площадью по 2,25 см² и на каждое поле равномерно высаживали по 50 зигот. Через 3 суток после оплодотворения, когда зиготы прикрепилась к субстрату и проросли (см. рис. 1, А), пластины были помещены в условия искусственно созданных ламинаризованного или турбулированного течений. Измененный гидродинамический режим обтекания пластин достигался с использованием специально сконструированных и рассчитанных гидродинамических решеток [4], которые помещали непосредственно перед горизонтально расположенными пластинами. В качестве контроля использовали немодифицированный поток воды, примерно соответствующий промежуточному варианту гидродинамического режима (см. выше).

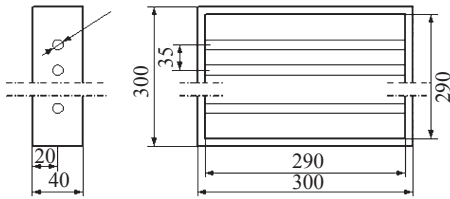


Рис. 2. Конструкция турбулизирующей решетки

Решетки, усиливающие гидродинамические пульсации (рис. 2), были выполнены в виде прямоугольных рам, размещенных на общем основании и снабженных рядом параллельно расположенных в одной плоскости цилиндрических стержней. Диаметр стержней и расстояния между ними определяли характеристики турбулентных пульсаций в соответствии с числом Струхала, рассчитываемым по формуле:

$$Sh = \frac{fd}{V}, \text{ где } f \text{ — частота пульсаций (Гц); } d \text{ — диаметр стержня (м); } V \text{ — скорость набегающего}$$

потока (м/с). Для создания требуемого турбулизирующего эффекта решеток диаметр стержней был выбран равным 4 мм, а расстояние между ними — 3 см. Пластины с эмбрионами *F. vesiculosus* размещали горизонтально посередине между стержнями решетки.

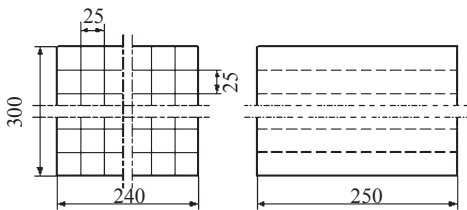


Рис. 3. Устройство ламинаризирующего аппарата

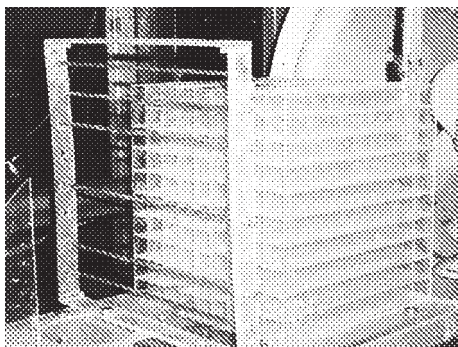


Рис. 4. Экспериментальная установка, смонтированная в рабочей части аэродинамической трубы

Сглаживание турбулентных пульсаций достигалось благодаря использованию специальных спрямляющих (ламинаризирующих) решеток. Они представляли собой конструкцию, составленную из вытянутых вдоль течения параллелепипедов, сложенных вместе (рис. 3). В соответствии с теоретическими расчетами соотношение между размером входящего квадратного окна решетки, точнее его стороной, и длиной канала было выбрано максимальным и составляло 1:10, что соответствовало оптимизации эффекта решетки.

В условиях аэродинамической трубы, имитирующей естественные водные потоки в море, были проведены исследования взаимодействия турбулизирующей решетки с набегающим потоком и работы ламинаризирующей установки (рис. 4). Полученные результаты, подтвердили эффективность как одного, так и другого устройства. С одной стороны, была показана возможность обеспечения искусственной турбулизации потока, с другой — наличие сглаживающего эффекта. Иллюстрацией служат осциллограммы турбулентных пульсаций в зоне расположения опытных образцов, полученные с помощью термоанемометра фирмы DISA (рис. 5).

Было проведено две серии опытов — в море, в условиях, приближенных к естественным, и в аквариумах, в лабораторных условиях. В первой серии опытов пластины с прикрепившимися эмбрионами экспонировались на глубине 1 м в бухте Круглая в районе ББС ЗИН РАН (мыс Картеш). Снятие опыта было произведено

через 30 суток. Во второй серии пластины содержали в аквариумах с проточной водой в Морском аквариальном комплексе БИНИИ СПбГУ. В этом случае наблюдения велись в течение 7 месяцев. Периодически пластины вынимали и производили морфометрические определения. При этом измеряли следующие параметры: длину талломической (фотосинтезирующей) части эмбриона (без учета ризоидов и апикальных волосков) и ее максимальный и минимальный диаметры (см. рис. 1, Б). Измерения производили с помощью окуляр-микрометра и микроскопа МБС-9. Исходя из полученных данных и принимая, что талломическая часть эмбриона имеет форму усеченного конуса с закругленным основанием, рассчитывали объем и площадь поверхности эмбрионов, а также отношение длины эмбриона к его диаметру. Формулы для расчетов приведены на рис. 1.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 5.5 (StatSoft Inc., США). Поскольку сравнение результатов разных серий опытов за первый месяц эксперимента не выявило достоверных различий между ними, соответствующие данные обеих серий были объединены. На рисунках представлены средние арифметические значения величин и доверительные интервалы ($\alpha = 0,05$).

Результаты исследований и их обсуждение. В предыдущих работах [6, 7] нами было показано, что рост эмбрионов *F. vesiculosus* в течение первого месяца развития описывается в целом экспоненциальной кривой, и основной вклад в увеличение объема эмбрионов вносит рост фотосинтезирующей талломической части. Как можно видеть на рис. 6, начиная со второго месяца развития эмбрионов, динамика роста изменяется. В течение последующих 7 месяцев объем талломической части эмбриона увеличивается практически линейно ($R^2 = 0,96$). Эти результаты свидетельствуют о несколько замедленном развитии эмбрионов по сравнению с литературными данными из работ [21, 22]. Вероятно, это объясняется тем, что в качестве среды для выращивания водорослей мы применяли морскую воду без минеральных и витаминных добавок, используемых для интенсификации роста водорослей в условиях лабораторной культуры [11, 21]. В течение всего исследованного периода талломическая часть эмбрионов увеличивалась в основном в длину, все больше отклоняясь от шарообразной формы. Толщина эмбрионов в раннем эмбриогенезе увеличивается очень медленно.

Искусственная турбулизация течения оказывает сильный стимулирующий эффект на рост эмбрионов (рис. 7, А–Б), который проявлялся уже через месяц после начала эксперимента. Вероятно, это связано с тем, что турбулизация жидкости существенно усиливает транспортные процессы и перемешивание. В таких условиях уменьшается толщина неперемешиваемого пограничного слоя воды у поверхности растений, что обеспечивает максимальный газообмен водорослей и, следовательно, стимулирует фотосинтез и дыхание. По литературным данным, полученным с использованием представителей родов *Laminaria*,

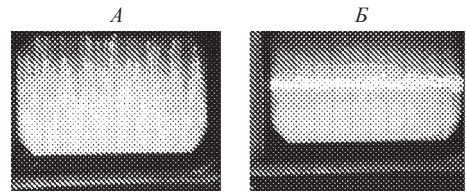


Рис. 5. Осциллограммы турбулентных пульсаций в потоке
А — за стержнем турбулизатора; Б — за ламинаризирующей решеткой.

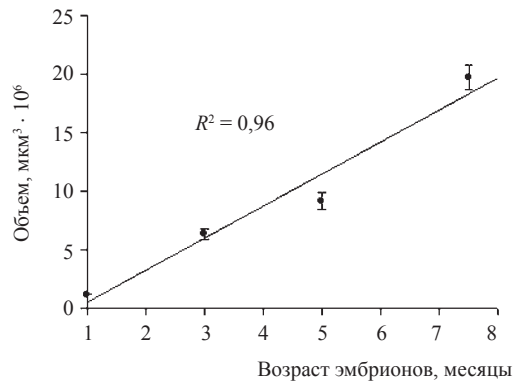


Рис. 6. Динамика объема талломической части эмбрионов *F. vesiculosus*

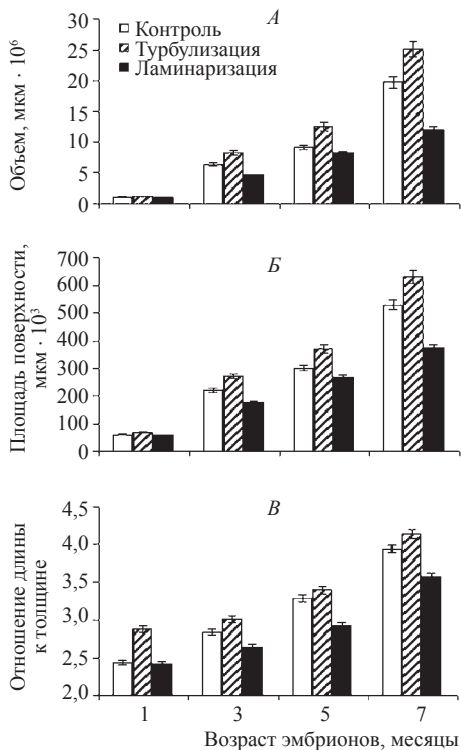


Рис. 7. Влияние гидродинамического режима на рост эмбрионов *F. vesiculosus*

A — объем талломической части эмбрионов; B — площадь поверхности талломической части эмбрионов; B — отношение длины к толщине.

поверхности и отношение длины к диаметру оказываются соответственно на 40, 30 и 10 % ниже, чем в контрольном варианте. В целом эти результаты подтверждают литературные данные, свидетельствующие о том, что перемешиваемые слои воды в окружении гидрофитов являются одним из важнейших факторов, лимитирующих ростовые процессы, интенсивность фотосинтеза и поглощение минеральных веществ [19, 24]. Особенно сильно в условиях ламинарных потоков нарушается газообмен и поглощение неорганического углерода. Относительное содержание форм неорганического углерода в воде зависит от pH. Как правило, морская вода имеет слабощелочную реакцию (pH 8–8,5), в таких условиях большая часть неорганического углерода находится в форме HCO_3^- . Но при слабом течении или искусственной ламинаризации в слое воды, прилегающем к водорослям, накапливаются продукты фотосинтеза, в том числе ионы OH^- , что вызывает подщелачивание. При значениях pH 9–10 доминирующей формой неорганического углерода в воде становятся ионы CO_3^{2-} , которые практически не усваиваются водорослями [16, 19, 24].

При слабом течении (<10 см/с) возможности потребления гидрофитами внешних ресурсов во многом определяет их морфология. В условиях преобладания ламинарных потоков приток к поверхности водорослей растворенных в воде веществ, таких, как кислород, углекислота, азот, фосфор и т. д., и отток ассимилятов существенно замедлены, так как осуществляются только за счет диффузии [16]. Адаптивным ответом гидрофитов на подобное

Fucus, Caulerpa [5, 12, 16, 18, 25], при увеличении скорости течения (до выхода на насыщающее значение) и турбулизации потока усиливается как рост водорослей, так и интенсивность фотосинтеза и поглощения минеральных элементов. Еще одним положительным следствием роста в условиях турбулентного течения как для эмбрионов, так и для взрослых макрофитов является меньшая доступность для эпифитных микроводорослей и фитофагов, которые смываются с поверхности водорослей [18]. В данной работе была также отмечена минимальная заселенность субстратов эпифитными организмами в варианте с турбулированным течением как в море, так и в аквариумах (данные не приводятся). В то же время использованные нами варианты гидродинамического режима не оказали значимого влияния на удержание эмбрионов на субстратах. Как при полевых экспериментах, так и при выращивании в аквариумах за период экспозиции около 30 % эмбрионов было смыто с субстратов.

Выращивание в условиях ламинаризованного потока, напротив, приводит к замедлению роста (рис. 7, A–B) эмбрионов. В этом случае видимый эффект проявляется только после 3 месяцев эксперимента, и до 5 месяцев отличие от контроля остается незначительным. Однако затем происходит резкое торможение роста и через 7 месяцев экспозиции объем эмбрионов, площадь

воздействие, как правило, являются морфологические изменения, направленные на увеличение площади поверхности — удлинение и истончение талломов водорослей [1, 2, 12, 16]. Следовательно, уменьшение соотношения длины к диаметру эмбриона *F. vesiculosus* в условиях ламинарного течения (см. рис. 7, В) является нетипичной реакцией. Однако подавляющее большинство данных по влиянию слабого перемешивания воды на морфологию гидрофитов получено на относительно крупных организмах — взрослых талломах литоральных макрофитных водорослей. Можно предположить, что реакция эмбрионов, характерный линейный размер (диаметр таллома) которых не превышает 100–120 мкм, будет отличаться от реакции более крупного организма. В условиях плохого перемешивания воды у мелких организмов изначально есть преимущество — относительно большая площадь поверхности. Известно, что некоторые микроводоросли, например *Scenedesmus quadricauda*, достигают максимальной скорости роста при низкой скорости течения или даже в стоячей воде, и это связано с маленькими размерами данных организмов [15]. Верхний же размерный предел для неподвижных планктонных организмов составляет 100 мкм [25]. Таким образом, можно предположить, что в течение большей части нашего эксперимента (приблизительно первые 5 месяцев развития) эмбрионы *F. vesiculosus* еще не испытывали существенного ингибирующего влияния ламинарного течения, и поэтому у них не возникла типичная для таких условий морфологическая структура. И лишь когда эмбрионы достигли критических размеров (диаметр таллома ≥ 100 мкм) началось резкое снижение интенсивности роста (рис. 7, А).

Таким образом, полученные данные позволяют сделать заключение, что гидродинамический режим оказывает существенное влияние на рост и морфогенез эмбрионов *F. vesiculosus*. Наименее благоприятные условия для роста создаются при ламинарном течении, при этом критическим периодом по отношению к этому фактору является не ранний эмбриогенез, а более поздние стадии развития, начиная с 5-го месяца после оплодотворения.

Summary

Tarakhovskaya E. R., Maslov Yu. I., Railkin A. I., Besyadovskij A. R. Influence of hydrodynamic conditions on growth and morphogenesis of *Fucus vesiculosus* L. embryos (Phaeophyta).

Hydrodynamic regime is one of the key factors controlling growth and development of marine algae. The purpose of this work was to study the influence of different types of water motion, namely laminar, transitional and turbulent on the growth and morphogenesis of *Fucus vesiculosus* L. embryos. Artificial turbulence stimulated growth of embryos – after 7 months of experiment their volume was 30% higher than one in a control variant. Apparently it's connected with the increased gas exchange resulting in increased photosynthesis and respiration rates. Exposure to laminar flow led to the substantial delay of the growth (40% below control) and abnormal morphogenesis of the embryos, especially after 5 months of exposition. We assume that exposure to laminar flow in the benthic boundary layer may be one of the important factors limiting brown algae sporelings development.

Key words: *Fucus vesiculosus*, embryos, hydrodynamic regime, growth, morphogenesis.

Литература

1. Воскобойников Г. М., Макаров М. В., Облущинская Е. Д., Пантелеева Н. Н. Запасы, современное состояние и перспективы использования водорослей-макрофитов Баренцева моря. Мурманск, 2007.
2. Макаров М. В., Рыжик И. В., Воскобойников Г. М., Матишов Г. Г. Влияние интенсивности движения воды на морфологические и физиологические показатели *F. vesiculosus* L. Баренцева моря // Докл. РАН. 2007. Т. 415, № 4. С. 569–570.
3. Полевой В. В., Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Полевой А. В. Роль ауксина в индукции полярности у зигот *Fucus vesiculosus* L. // Онтогенез. 2003. Т. 34, № 6. С. 432–437.

4. Раилкин А. И. Патент № 68236 на полезную модель «Устройство для биологических испытаний обрастания материалов и покрытий» // Заявка № 2007125014. Приоритет полезной модели 02.07.2007. Зарег. 27.11.2007.
5. Рыжик И. В. Морфо-функциональные особенности промысловых водорослей из разных биотопов Баренцева моря: Автореф. канд. дис. Мурманск, 2005. 24 с.
6. Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И. Динамика содержания фотосинтетических пигментов в ходе онтогенеза *Fucus vesiculosus* L. // Вестн. С-Петербург. ун-та. Сер. 3. 2007. Вып. 4. С. 111–118.
7. Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Раилкин А. И. Рост эмбрионов *Fucus vesiculosus* L. в разных гидродинамических условиях // IV научная сессия МБС СПбГУ: Тез. докл. СПб., 2005. С. 72–73.
8. Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Раилкин А. И. Рост и морфогенез эмбрионов *Fucus vesiculosus* L. (Phaeophyta) в условиях МАК при разном гидродинамическом режиме // IX научная сессия МБС СПбГУ: Тезисы докладов. СПб., 2008. С. 70–71.
9. Шлихтинг Г. Теория пограничного слоя. М., 1974.
10. Blanchette C. A. Size and survival of intertidal plants in response to wave action: a case study with *Fucus gardneri* // Ecology. 1997. Vol. 78. P. 1563–1578.
11. Chen L. C.-M., Edelstein T., McLachlan J. *Bonnemaisonia hamifera* Hariot in nature and in culture // J. Phycol. 1969. Vol. 5. P. 211–220.
12. Collado-Vides L., Robledo D. Morphology and photosynthesis of *Caulerpa* (Chlorophyta) in relation to growth form // J. Phycol. 1999. Vol. 35. Iss. 2. P. 325–330.
13. Drazin P. G. Introduction to hydrodynamic stability. Cambridge, 2002.
14. Homblü F., Lüonetti M. Emergence of symmetry breaking in fucoid zygotes // Trends in Plant Science. 2007. Vol. 12, № 6. P. 253–259.
15. Hondzo M., Lyn D. Quantified small-scale turbulence inhibits the growth of a green alga // Freshwater Biol. 1999. Vol. 41. P. 51–61.
16. Hurd C. L. Water motion, marine macroalgal physiology and production // J. Phycol. 2000. Vol. 36. P. 453–472.
17. Koehl M. A. R. When does morphology matter? // Annu. Rev. Ecol. Syst. 1996. Vol. 27. P. 501–542.
18. Leigh E. G., Paine R. T., Quinn J. F., Suchanek T. H. Wave energy and intertidal productivity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1987. Vol. 84. P. 1314–1318.
19. MacFarlane J. J., Raven J. A. Quantitative determination of the unstirred layer permeability and kinetic parameters of RUBISCO in *Lemanea mamillosa* // J. Exp. Bot. 1989. Vol. 40. P. 321–327.
20. Mathieson A. C., Norton T. A., Neushul M. The taxonomic implications of genetic and environmentally induced variations in seaweed morphology // Botanical Rev. 1981. Vol. 47. P. 313–347.
21. McLachlan J. Growth media — marine // Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements / Ed. J. R. Stein. Cambridge, 1973. P. 25–52.
22. McLachlan J., Chen L. C.-M., Edelstein T. The culture of four species of *Fucus* under laboratory conditions // Can. J. Bot. 1971. Vol. 49. P. 1463–1469.
23. Quatrano R. S. Developmental biology: development in marine organisms // Experimental marine biology / Ed. by R. N. Mariscal. New York; London, 1974. P. 303–346.
24. Smith F. A., Walker N. A. Photosynthesis by aquatic plants: effects of unstirred layers in relation to assimilation of CO₂ and HCO₃⁻ and to carbon isotopic discrimination // New Phytol. 1980. Vol. 86. P. 245–259.
25. Warnaars T. A., Hondzo M. Small-scale fluid motion mediates growth and nutrient uptake of *Selemastrum capricornutum* // Freshwater Biol. 2006. Vol. 51. P. 999–1015.
26. Wheeler W. N. Algal productivity and hydrodynamics — a synthesis // Progr. Phycol. Res. 1988. Vol. 6. P. 23–58.