

УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
МУРМАНСКИЙ МОРСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ  
КОЛЬСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА РАН

На правах рукописи

УДК 574(.587+ .522+.24+.017.3+.9)+  
+57(.022/.023+.042)+58(.02+.039)



004618934

МАКАРОВ  
МИХАИЛ ВЛАДИМИРОВИЧ

**АДАПТАЦИЯ ВОДОРΟΣЛЕЙ БАРЕНЦЕВА МОРЯ  
К УСЛОВИЯМ ОСВЕЩЕНИЯ**

Специальность 25.00.28 - "океанология"

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

23 ДЕК 2010

Мурманск - 2010

Работа выполнена в Учреждении Российской Академии наук  
Мурманский морской биологический институт Кольского научного  
центра РАН (ММБИ КНЦ РАН)

Научный консультант:  
д.б.н. Воскобойников Григорий Михайлович

Официальные оппоненты:  
чл. корр. РАН, д.б.н. Жиров Владимир Константинович  
д.б.н., профессор Громов Валентин Валентинович  
д.б.н., профессор Камнев Александр Николаевич

Ведущая организация:  
Мурманский государственный технический университет

Защита состоится 16 декабря 2010 г. в 10 ч 00 мин на заседании  
диссертационного совета Д 002.140.01 Мурманского морского  
биологического института по адресу:  
183010, г. Мурманск, ул. Владимирская, 17  
факс: (8152) 25-39-94

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Мурманского  
морского биологического института КНЦ РАН

Автореферат разослан "15" ноября 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
кандидат географических наук  Е.Э. Кириллова

### Актуальность исследования

Водоросли-макрофиты являются одним из основных источников органического вещества и кислорода в прибрежной зоне морей и в значительной степени определяют состояние морских экосистем. Выступая в качестве одного из средообразующих природных компонентов, они взаимодействуют со многими видами животных и растительных организмов. Являясь продуцентами большого количества биологически активных веществ, водоросли широко используются в пищевой промышленности, биотехнологии, медицине, сельском хозяйстве.

На всех стадиях онтогенеза, от споры до взрослого растения, водоросли-макрофиты подвергаются воздействию абиотических и биотических факторов среды обитания. Ведущим фактором внешней среды, оказывающим влияние на водоросли, как на представителей фотоавтотрофных организмов, является свет: его интенсивность, спектральный состав и фотопериод.

Большинство окраинных морей России находятся за пределом полярного круга. Обитающие здесь водоросли оказываются под воздействием не только низких температур, но и перепадов освещения от полярного дня до полярной ночи. Соответственно, в течение года значительно меняется воспринимаемая ими суммарная доза дневной солнечной радиации, интенсивность освещения и спектральный состав света вследствие различной высоты поднятия солнца над уровнем горизонта, наличия ледового покрова, количества планктонных организмов, растворенного органического и взвешенного вещества и т.д.

Из всех северных морей России Баренцево море, благодаря заходящим в него теплым водам Северо-Атлантического течения, структуре береговой линии и отсутствию мощных пресных водотоков, является наиболее продуктивным (Зенкевич, 1947; Экология и биологическая продуктивность..., 1990; Саускан, 1996). Видовое разнообразие и биомасса водорослей в нем максимальны, особенно вдоль Мурманского побережья. К настоящему времени в Баренцевом море описано 194 вида водорослей-макрофитов. Из них 39 видов представляют зеленые водоросли, 80 - бурые и 75 - красные.

Помимо воздействия на макроводоросли абиотических и биотических факторов среды, имеется и эндогенная регуляция физиологических процессов. И если одни ее проявления хорошо заметны (например, начало роста некоторых видов в середине полярной ночи), то другие сложно отделить от реакций организма на внешние коротко- (суточная смена освещения, приливоотливные

циклы) и долгопериодические (полярный день - полярная ночь) воздействия.

Несмотря на более чем двухвековой период исследования, многие аспекты физиологии водорослей арктических морей, позволяющие им существовать в условиях значительных изменений освещения и низкой температуры, остаются малоизученными. В связи с этим также остаются открытыми вопросы биоразнообразия и распространения водорослей в высокие широты. При наличии большого количества теорий, описывающих основы биоразнообразия и распределения наземных и морских организмов (см. обзор Willig *et al.*, 2003), лишь отдельные исследования рассматривают механизмы, обеспечившие возможность распространения водорослей и приведшие к образованию новых видов в процессе эволюционного развития (Перестенко, 1998; Howe, Brunner, 2005).

Вплоть до недавнего времени, основным фактором, ограничивающим распространение морской флоры в высокие широты, считалась низкая температура (Hoek, 1982a,b, 1984; Lüning, 1984; Перестенко, 1998; Cambridge, 1990; Novaczek, Breeman, 1988, 1990 Howe, Brunner, 2005; Verbruggen *et al.*, 2009). Однако проведенные автором многолетние натурные наблюдения и эксперименты позволяют утверждать, что приспособленность водорослей к смене освещения от полярного дня до полярной ночи также оказывала влияние на их распространение. Это подтверждает выдвинутую в последние годы гипотезу о комплексном барьере, контролирующем биогеографическое распространение водорослей (см. обзоры Campana *et al.*, 2009; Gomez *et al.*, 2009; Wulff *et al.*, 2009; Zacher *et al.*, 2009).

Для решения проблем рационального природопользования необходимо тщательное изучение биологических особенностей всех компонентов экосистемы. Исследование водорослей на разных уровнях их организации, от молекулярного до популяционного, позволяет раскрыть механизмы адаптации организмов к факторам среды, особенно в арктическом регионе. Еще один аспект данного направления - это развитие полярной аквакультуры и восстановление природных зарослей водорослей, требующее понимания закономерностей функционирования организмов. Таким образом, расширение исследований водорослей северных морей актуально для решения задач фундаментальной и прикладной биологической науки.

### **Цель и задачи исследования**

Цель работы: выявить адаптации водорослей-макрофитов Баренцева моря к условиям освещения, и показать их роль в распространении водорослей в высокие широты.

Для достижения данной цели решались следующие задачи:

1) Оценка влияния на морфо-физиологические параметры водорослей следующих составляющих освещения:

а - интенсивность;

б - фотопериод;

в - спектральный состав.

2) Выявление сезонных изменений фотосинтетического аппарата доминантных видов водорослей.

3) Выявление механизмов, позволяющих водорослям-макрофитам существовать в условиях полярной ночи и при отсутствии освещения.

4) Определение влияния глубины произрастания на морфо-физиологические параметры водорослей.

5) Оценка вклада фактора освещения в вертикальную зональность распределения водорослей на побережье Баренцева моря.

### **Научная новизна**

Многочисленные экспериментальные исследования, проведенные автором лично или совместно с коллегами, позволили выявить адаптации водорослей Баренцева моря к меняющимся в течение года условиям освещения.

Впервые экспериментально показано:

1) адаптация водорослей к изменениям освещения от полярного дня до полярной ночи, а также при увеличении глубины произрастания достигается преобразованиями фотосинтетического аппарата (ФСА). Пластичность ФСА зависит от высоты (глубины) произрастания и систематической принадлежности, увеличиваясь в ряду бурые < красные < зеленые водоросли;

2) на Мурманском побережье Баренцева моря в полярную ночь интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) в дневное время достаточно для прохождения процессов фотосинтеза у водорослей-макрофитов;

3) продолжительность существования водорослей-макрофитов при отсутствии освещения зависит от количества запасных веществ, структурной организации таллома и возможности перехода на гетеротрофный способ питания. Фотосинтетический аппарат при этом остается в интактном состоянии;

4) нижняя граница произрастания сублиторальных макрофитов зависит от толерантности различных стадий жизненного цикла к освещению, температуре и гидростатическому давлению. В мутных водах вертикальное распространение водорослей ограничивается недостатком освещения, в прозрачных - уровнем гидростатического давления.

Выдвинута гипотеза, что формирование и совершенствование механизмов адаптации к условиям освещения способствовало распространению водорослей в полярные районы.

Полученные экспериментальные данные также подтверждают гипотезу, что в естественных условиях морфологические изменения и функциональное состояние многолетних водорослей определяются генетически (эндогенные ритмы различной периодичности), и синхронизированы с годовыми циклами освещения в природе (Lüning, 1990). В ходе онтогенетического развития макрофитов генеральная жизненная функция определяет скорость и направленность физиологических и биохимических процессов.

#### **Теоретическое значение работы**

Данное исследование вносит существенный вклад в понимание механизмов адаптации, регуляции роста и размножения водорослей-макрофитов Баренцева моря. Результаты экспериментальных исследований позволяют по-новому взглянуть на существующие теории функционального состояния в период полярной ночи водорослей в частности и прибрежной морской экосистемы в целом, а также на механизмы, определяющие географическое распространение и вертикальную зональность произрастания водорослей.

#### **Практическое значение работы**

Полученные данные о физиологическом состоянии водорослей в различные сезоны года позволяют прогнозировать последствия и оценивать возможность восстановления прибрежных фитоценозов при антропогенном воздействии и климатических изменениях окружающей среды. Результаты исследований могут служить основой для проведения инженерно-экологических изысканий, разработок ОВОС, развития аквакультуры водорослей. Отдельные положения диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе при подготовке бакалавров, специалистов, магистров по специальностям "биология", "океанология", "экология".

### **Основные защищаемые положения**

1. На Мурманском побережье адаптация водорослей к низкой интенсивности освещения в период полярной ночи осуществляется за счет снижения метаболической активности и оптимизации функционирования фотосинтетического аппарата. В более высоких широтах при отсутствии освещения некоторые виды макрофитов (фукоиды) способны к частичному или полному переходу на гетеротрофный способ питания.

2. В условиях полярной ночи интенсивности фотосинтетически активной радиации (ФАР) достаточно для прохождения процессов фотосинтеза у водорослей - макрофитов Мурманского побережья Баренцева моря.

3. Присутствующая в естественном освещении ультрафиолетовая радиация оказывает влияние на все этапы жизненного цикла водорослей: стимулирует выход спор в весенний период, ингибирует развитие спор и ранних стадий развития, снижает скорость роста большинства видов водорослей.

4. Нижнюю границу произрастания *Laminaria saccharina* на Мурманском побережье Баренцева определяет гидростатическое давление, поскольку условия освещенности не лимитируют распространение водорослей на большую глубину.

5. Морфологические изменения, вегетативная и репродуктивная активность многолетних водорослей определяются эндогенными ритмами. Фотопериод и спектральный состав освещения являются регуляторами, синхронизирующими эндогенные ритмы с годовыми циклами изменений факторов среды.

### **Апробация работы**

Основные положения диссертации были апробированы на заседаниях Ученого совета Мурманского морского биологического института КНЦ РАН (1995-2010). Материалы диссертационной работы докладывались на международных конгрессах и симпозиумах: "Effect of climate change on terrestrial and freshwater ecosystems" (Рованиemi, Финляндия, 1997), YI International Congress on History of Oceanography (Циндао, Китай, 1999), были представлены на международных конференциях (Мурманск, 1995, 1997 - 1999, 2001, 2002, 2004, 2005, 2009, 2010; С-Петербург, 1996; Ростов-на-Дону, 2008; Владивосток, 2008), региональных конференциях и семинарах.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано более семидесяти работ, наиболее значимые из которых приведены в автореферате, в том числе 13 статей в зарубежных и рекомендованных ВАК периодических изданиях.

## **Структура и объем работы**

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка литературы. Рукопись содержит 359 страниц текста, 16 таблиц и 113 рисунков. Список литературы включает 661 название, в том числе 471 на иностранных языках.

Автор благодарит за помощь и ценные советы в период подготовки диссертации академика РАН Г.Г. Матишова, а также коллег из Мурманского морского биологического института КНЦ РАН, Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН, Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Мурманского государственного технического университета. Особую благодарность хочу выразить зав. лабораторией альгологии ММБИ д.б.н. Г.М. Воскобойникову и всем сотрудникам лаборатории.

Глубочайшую признательность выражаю своему отцу и учителю, В.Н. Макарову. Его трудолюбие, энтузиазм и ответственное отношение к работе всегда являлись для меня примером.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Глава 1. Характеристика районов и объектов исследования.**

Дана характеристика географических, климатических, гидрологических и гидрохимических условий районов Восточного Мурмана и более высоких широт (архипелаги Земля Франца-Иосифа, Шпицберген). Представлено краткое описание исследованных видов.

### **Глава 2. Обзор литературы.**

Представлен обзор исследований функционального состояния водорослей-макрофитов высокоширотных районов. Проведен анализ работ, посвященных влиянию на водоросли интенсивности и спектрального состава освещения, ультрафиолетовой радиации, фотопериода, гидростатического давления.



### **Глава 3. Материалы и методы**

Выводы и защищаемые положения работы основаны на результатах наблюдений, натуральных и лабораторных экспериментов, проведенных на Мурманском побережье Баренцева моря и арх. Шпицберген, Земля Франца-Иосифа (1993-2009 гг.). В ходе исследований было проведено более 200 экспериментов. Основными объектами являлись представители массовых видов бурых, красных и зеленых водорослей.

Была произведена оценка следующих показателей состояния водорослей: 1) интенсивность фотосинтеза и дыхания, содержание фотосинтетических пигментов; 2) скорость роста и метаболическая активность; 3) структура таллома и ультраструктура клеток. В работе использовались стандартные методы, некоторые были модифицированы для объектов исследования.

Оборудование. Интенсивность ФАР на воздухе определяли по показаниям спектрорадиометра-пиранометра "LI-Cor LI-185A", в воде - погружным квантометром "Квант-А". Интенсивность ультрафиолета-А и Б - по показаниям пиранометров RM 11.

Определение экстинкции и спектра поглощения фотосинтетических пигментов, уровня окраски тканей формазаном (метаболическая активность) производили на спектрофотометре SPECORD UV-VIS (Carl Zeiss, Jena).

Содержание кислорода в воде определяли титрометрическим методом (метод Винклера), а также с помощью анализаторов кислорода: термооксиметра AQUA-OXY, оксиметра HI 9143 и кислородного датчика Model 97-08.

Площадь объектов измеряли с помощью компьютерных систем анализа видеозображения "Image analysis system" и "ВидеоТест Мастер-Морфология". В случае микроскопических объектов приемник изображения (фото- или видеокамеру) соединяли со световым микроскопом. При этом контролем линейных размеров являлась шкала делений объект-микрометра.

Специальное оборудование, созданное для проведения отдельных экспериментов, описывается в соответствующих разделах.

Лабораторные условия. Эксперименты проводили в термостатируемых помещениях при температуре  $10 \pm 1^\circ\text{C}$ . Система освещения: галогеновые лампы (ДРЛ-250 или Phillips-300), лампы дневного света (ЛБ-40) и УФ-лампы (UV-A 340, Phillips). Интенсивность освещения регулировали расстоянием от объекта до источника освещения. Фотопериод устанавливали с использованием

реле времени. Для экспериментов использовали свежую фильтрованную морскую воду. Смену воды при длительных экспериментах производили 1 раз в 2 суток. Движение воды в емкостях в зависимости от условий эксперимента осуществляли несколькими способами: аэрация воздушным компрессором, погружным насосом, микробиологической качалкой, магнитной мешалкой.

Методы определения. Относительную скорость роста определяли по формуле:  $V = (\ln A_2 - \ln A_1) / T \cdot 100\%$ , где  $A_2$  и  $A_1$  - площадь (или масса) в конечный и начальный период эксперимента.  $T$  - время эксперимента (Фотосинтез и биопродуктивность..., 1989).

Интенсивность фотосинтеза определяли титрометрически (метод Винклера) или с помощью термооксиметров по изменению содержания кислорода в воде за период инкубации талломов водорослей. Интенсивность дыхания определяли по изменению содержания кислорода или бикарбоната в воде до и после инкубации талломов методом потенциометрического титрования инкубационной среды. Формы углекислоты рассчитывали по стандартной методике (Carbon Dioxide, 1989). Скорость изменения содержания кислорода и углекислоты рассчитывали в мкг/г сыр. массы · час.

Качественный и количественный состав пигментов исследовали по модифицированным методикам (Пигменты ..., 1964; Ли, 1978; Маслова и др., 1986). Количество индивидуальных каротиноидов - методом бумажной хроматографии, хлорофиллов *a*, *b* и *c* в смеси пигментов - спектрофотометрическим методом, их содержание рассчитывали по принятым формулам (Jeffrey, Humphrey, 1975). Концентрацию пигментов определяли из расчета на 1 г сырой или сухой массы, или на 1 см<sup>2</sup> таллома.

Содержание сухого вещества определяли путем высушивания пробы в сушильном шкафу при температуре 105 °С с последующим взвешиванием на весах с точностью до 0,001 г.

Метаболическую активность определяли тетразолиевым методом на основе колориметрического МТТ-теста (Vistica *et al.*, 1991), модифицированного для водорослей (Рыжик, 2008).

Морфологию тканей и клеток анализировали по стандартным и модифицированным методикам (Воскобойников, Камнев, 1991). Для тонкого морфологического анализа фрагменты талломов фиксировали, обезживали и заливали в эпоксидные смолы. Срезы окрашивали толуидиновым синим и бальзамировали. Для электронной микроскопии высечки фиксировали 2,5% глютаровым альдегидом на 0,1 М какодилатном буфере pH=7.2,

отмывали и постфиксировали 12 часов 1% OsO<sub>4</sub>. Фиксаторы делали изотоничными морской воде с помощью сахарозы. Дегидратацию проводили спиртом и ацетоном, заливали в смесь аралдита с эпоном. Ультратонкие срезы контрастировали уранил-ацетатом и свинцом.

Все экспериментальные исследования проводили, как минимум, в двух повторностях. Для анализа содержания веществ (фотосинтетические пигменты, сухое вещество) брали среднюю биологическую пробу: смешивали небольшие участки тканей различных талломов. Для исследования содержания фотосинтетических пигментов брали 2 пробы, для сухого вещества - 10 проб. Оценку метаболической активности и относительной скорости роста производили по 10 пробам, интенсивности фотосинтеза и дыхания - по 3 (метод Винклера) или 5 (оксиметрия) пробам. Подсчет количества спор производили по полям зрения микроскопа. Учитывалось 10 случайно выбранных полей. Для оцениваемых показателей рассчитывали среднюю арифметическую и стандартное отклонение, используя приложение Microsoft Excel.

## **Глава 4. Результаты и обсуждение.**

### **4.1. Влияние интенсивности освещения**

Диапазон интенсивности освещения, необходимый для эффективной работы фотосинтетического аппарата, ограничивается нижним лимитирующим пределом и верхним, при котором процессы фотосинтеза ингибируются. Ранние стадии развития обычно приспособлены к более низкому уровню освещения. Таким образом, диапазон, в котором может существовать вид, сужается и ограничивается верхним пределом интенсивности освещения для ранних стадий и нижним пределом для взрослых растений.

В некоторых случаях, например у ламинариевых, приспособительным механизмом для расширения условий существования является развитие проростков под пологом взрослых растений. У зеленых водорослей наличие фототаксиса у зооспор способствует их движению по направлению к зоне с оптимальными условиями освещения. У ламинариевых фототаксис отсутствует, однако имеется хемотаксис (Макаров, 1987), определяющий движение зооспор по направлению к взрослым растениям, при этом затенение способствует выживанию ранних онтогенетических стадий. И для них хемотаксис гомологичен фототаксису.

Таким образом, для понимания процессов, происходящих в изменяющихся в течение года условиях внешней среды, необходимо исследовать ответные реакции и физиологическое состояние организма на всех стадиях онтогенеза.

#### 4.1.2. Влияние интенсивности освещения на ранние стадии онтогенеза *Laminaria saccharina*.

Было проведено исследование влияния интенсивности освещения на скорость оседания, прорастание и дальнейшие стадии развития спор ламинарии сахаристой Баренцева моря. Интенсивность освещения составляла от 0.5 до 100 Вт/м<sup>2</sup>, продолжительность - 24 ч. Данный диапазон соответствует освещению в природных условиях в период выхода спор.

Результаты экспериментов показали, что даже 24-часовое освещение интенсивностью 100 Вт/м<sup>2</sup> не оказывает влияния на скорость оседания зооспор ламинарии и на их дальнейшее прорастание. После переноса в оптимальные условия (освещенность 20 Вт/м<sup>2</sup>, фотопериод 16/8 свет/темнота) все они развивались одинаково. Некоторое снижение количества проросших спор было отмечено в опыте с интенсивностью освещения 100 Вт/м<sup>2</sup>, из них проросло 90-95%.

При длительном воздействии (3 суток) высокая интенсивность освещения (свыше 50 Вт/м<sup>2</sup>) вызывала гибель спор. В первые дни споры начинали прорастать в трубку, но через 2-3 суток их развитие прекращалось. Такой же уровень освещения вызывал гибель уже проросших спор. Ранние спорофиты (10 - 40 клеток) показали большую устойчивость: при освещении интенсивностью 75 Вт/м<sup>2</sup> через 5 суток в их клетках еще содержались структурные элементы, но после 10 суток внутреннее содержимое клеток разрушалось.

Данное исследование показало, что движущиеся зооспоры устойчивы к воздействию высокой интенсивности освещения, которая вызывает элиминацию последующих стадий. Это может быть связано с тем, что фотосинтетический аппарат спор находится в неактивном состоянии и слабо подвержен воздействию стрессовых факторов. Окончательно он формируется у прорастающей споры, и для этой стадии высокие уровни освещения наиболее губительны, что подтверждается полученными ранее данными (Kain, 1969, 1996; Макаров, 1987).

У ламинарии сахаристой, произрастающей в различных регионах, имеются существенные отличия в сроках созревания спороносной ткани, обусловленные различиями условий обитания, что объясняет расхождение данных о минимальной освещенности, требующейся для развития ламинарии (Parke, 1948; Kain, 1969; Lüning, 1980; Charman, 1984). Гаметофиты многих видов ламинариевых водорослей способны длительное время (более

18 месяцев) находиться в условиях отсутствия освещения, причем при низких температурах их способность к выживанию увеличивается (tom Dieck, 1993).

#### 4.1.3. Сезонные изменения фотосинтетического аппарата.

Существование водорослей в высокоширотных районах с меняющимися условиями освещения от полярного дня до полярной ночи зависит от адаптационных возможностей их фотосинтетического аппарата (ФСА). Адаптация ФСА проявляется в изменении площади фотосинтетических мембран, содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, размера светособирающих комплексов (ССК), содержания экранирующих и поглощающих веществ.

##### 4.1.3.1. Удельная поверхность фотосинтетических мембран.

Исследование ультраструктуры хлоропластов водорослей показало, что в зимний период, по сравнению с летом, значительно увеличивается парциальный объем мембран тилакоидов на единицу площади стромы хлоропласта. Например, у *Fucus vesiculosus* соотношение площади среза хлоропласта и длины фотосинтетических мембран в летний период в 6 раз больше, чем в зимний (рис. 1). Весной содержание фотосинтетических мембран также довольно высокое, что может быть связано с интенсивным ростом водорослей в это время.

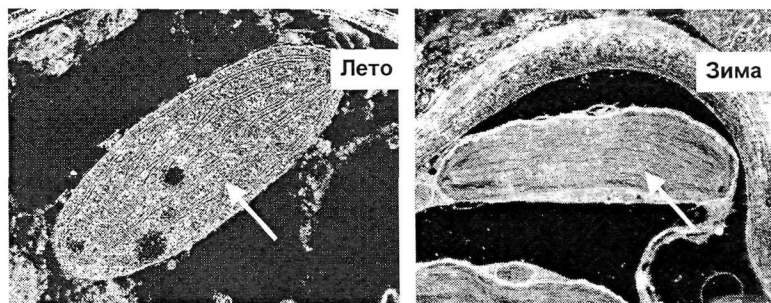


Рис. 1. Хлоропласты *Fucus vesiculosus* в летний и зимний периоды. Стрелками показаны фотосинтетические мембраны.

#### 4.1.3.2. Содержание фотосинтетических пигментов.

У всех видов водорослей максимальное содержание фотосинтетических пигментов наблюдается в апреле и ноябре-декабре, минимальное - в июле-августе (рис. 2).

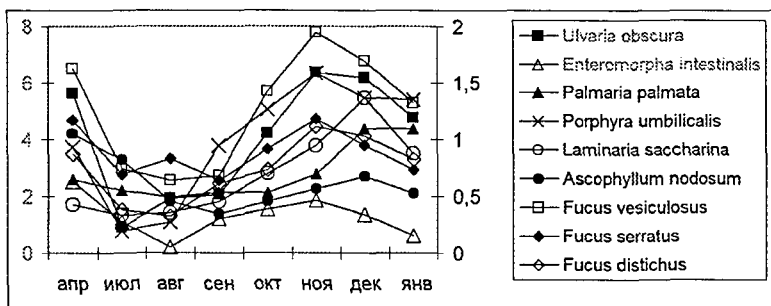


Рис. 2. Содержание фотосинтетических пигментов водорослей (сумма хлорофиллов и каротиноидов) в течение года, мкг/г сырой массы.

Увеличение содержания фотосинтетических пигментов, наблюдаемое с января по апрель, может быть вызвано как накоплением пигментов, так и интенсивным ростом таллома, сопровождающимся снижением содержания сухого вещества и увеличением удельной поверхности. Вследствие этого на единицу массы таллома приходится большая площадь и, соответственно, большее количество пигментов. Хотя при пересчете на клетку их содержание может не изменяться или даже снижаться (Макаров и др., 2007). Однако интенсивные процессы роста требуют значительных энергетических затрат, а также запасов углерода для синтеза структурных элементов, что может вызывать дополнительное развитие фотосинтетического аппарата. В пользу этого предположения свидетельствует также и увеличение размеров ССК в весенний период.

Начиная с мая интенсивность роста водорослей замедляется, и наблюдается снижение содержания фотосинтетических пигментов. Имеется межвидовая изменчивость в скорости протекания данных процессов, что приводит к смещению минимальных показателей на более ранние (июль для *Ulvaria obscura*, *Porphyra umbilicalis*, *Laminaria saccharina*) или поздние (август для *Ascophyllum nodosum*, *Fucus serratus*) сроки.

#### 4.1.3.3. Размер светособирающего комплекса (ССК).

Соотношение хлорофиллов, находящихся в ССК и фотосистемах (ФС I и II) является одной из характеристик эффективности работы фотосинтетического аппарата. Увеличение доли хлорофиллов в ССК и, соответственно, увеличение его размеров, способствует улавливанию большего количества квантов света и свидетельствует о наличии у растения пигментного аппарата "теневого" типа (Maslova, Popova, 1993).

У зеленых водорослей максимальный размер ССК наблюдается в апреле и ноябре-декабре (рис. 3). В весенний период увеличение ССК связано с необходимостью обеспечения интенсивного роста энергетическими и углеродными эквивалентами. В зимний период максимальный размер ССК позволяет растениям использовать низкую интенсивность освещения и функционировать достаточно эффективно. С наступлением лета, при увеличении продолжительности и интенсивности освещения и снижении скорости роста, размер ССК уменьшается, что предотвращает поглощение избыточного количества ФАР.

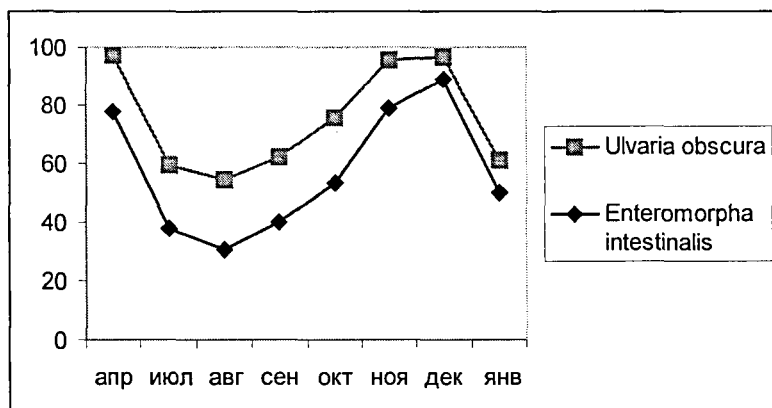


Рис. 3. Содержание хлорофилла *a* в ССК зеленых водорослей в течение года (% от общего).

У бурых водорослей светособирающий комплекс назван FCPA (Fucoxanthin-Chlorophyll-Protein Assembly) или "ксантосомой" (по аналогии с фикобилисомами и хлоросомами). Комплекс состоит из 7 идентичных белковых субъединиц по 54 кДа, каждая из которых содержит 13 молекул Хл *a*, 3 - Хл *c*, 10 - фукоксантина и 1 - виолаксантина, может присутствовать  $\beta$ -каротин. Соотношение пигментов может варьировать в зависимости от видовой принадлежности

(Barrett, Anderson, 1980; Katoh *et al.*, 1989; 1993; Mimuro *et al.*, 1990; Passacuet *et al.*, 1991; Douady *et al.*, 1993). Миграция поглощенной энергии в ксантосомах происходит по 2 независимым путям: от фукоксантина на Хл *a* и от Хл *c* на Хл *a* (Alberte *et al.*, 1981; Katoh *et al.*, 1989; Mimuro *et al.*, 1990). У красных водорослей присутствует только хлорофилл *a*. Светособирающим комплексом у них является фикобилисома - пигмент-белковый комплекс, содержащий фикобилины (фикоэритрин, фикоцианин и аллофикоцианин), и передающий энергию в основном на ФС II (Бритон, 1986; Стадничук, 1989).

У высших растений и зеленых водорослей содержание хлорофилла в ССК рассчитывают по соотношению Хл *a* /Хл *b*, поскольку известно, что в ССК данное соотношение составляет 1.2, а остальной хлорофилл приходится на ФС (Lichtenthaler, 1987). У красных и бурых водорослей соотношение хлорофиллов в ССК неизвестно. Поэтому для бурых водорослей распределение хлорофиллов по пулам ССК или ФС мы рассчитывали по соотношению Хл *a*/Хл *c*+фукоксантин, а для красных - по соотношению Хл *a*/фикоэритрин. По аналогии с зелеными водорослями у бурых и красных наименьшее значение данного показателя указывает на максимальный размер ССК.

Как и у зеленых водорослей, у бурых и красных максимальный размер ССК (минимальные значения кривых на рисунке) приходится на апрель и ноябрь - декабрь (рис. 4), что свидетельствует об аналогии адаптационных перестроек фотосинтетического аппарата у различных групп водорослей.

При анализе размеров ССК в течение года (таб. 1) обнаружилось, что наибольшим изменениям подвержен фотосинтетический аппарат красных водорослей за счет разрушения фикобилиновых пигментов в летний период. У бурых водорослей он наиболее стабилен. Порядок видов в данной таблице (по отделам) отражает высоту их произрастания по горизонтам литорали в естественных условиях. Возможно, что вертикальная зональность водорослей определяется не только их толерантностью к осушению и температуре, но и лабильностью фотосинтетического аппарата.



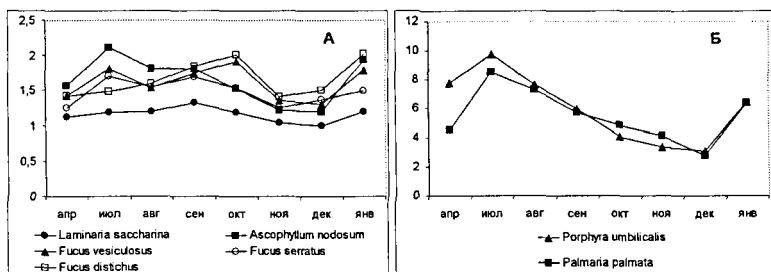


Рис. 4. Изменение относительных размеров ССК у бурых (А) и красных (Б) водорослей в течение года.

Таблица 1. Изменение относительных размеров ССК у различных видов водорослей в течение года.

| Отдел/Вид                   |                                  |                             | Изменение (%) |
|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------|
| Красные водоросли           | Зеленые водоросли                | Бурые водоросли             |               |
| <i>Porphyra umbilicalis</i> |                                  |                             | 68,2          |
| <i>Palmaria palmata</i>     |                                  |                             | 67,4          |
|                             | <i>Enteromorpha intestinalis</i> |                             | 66,0          |
|                             | <i>Ulvaria obscura</i>           |                             | 43,2          |
|                             |                                  | <i>Ascophyllum nodosum</i>  | 38,6          |
|                             |                                  | <i>Fucus vesiculosus</i>    | 32,2          |
|                             |                                  | <i>Fucus distichus</i>      | 30,8          |
|                             |                                  | <i>Fucus serratus</i>       | 27,0          |
|                             |                                  | <i>Laminaria saccharina</i> | 24,4          |

\* Рассчитывали по формуле:  $(\text{Max}-\text{Min})/\text{Max} * 100\%$ .

#### 4.1.3.4. Соотношение фотосинтетических пигментов.

Каротиноиды в составе фотосинтетического аппарата выполняют различные функции. Они могут выступать в роли дополнительных светособирающих пигментов и защищать хлорофиллы и белки ФС и реакционных центров (РЦ) от фотодеструкции. Также имеются изоформы каротиноидов не принимающие участие в процессах передачи энергии квантов света для фотосинтетических реакций, которые могут выполнять стабилизирующую функцию, входя в состав фотосинтетических мембран или являться предшественниками других соединений. Поэтому интерпретация данных о составе и соотношении каротиноидов в свете функциональной направленности их содержания достаточно затруднена.

Общее содержание каротиноидов в течение года сходно с содержанием хлорофиллов: максимум наблюдается весной и поздней осенью, минимум - в летний период. В течение года у разных систематических групп водорослей соотношение каротиноидов и хлорофиллов, а также соотношение количества отдельных каротиноидов и их суммы может значительно изменяться.

Содержание фотосинтетических пигментов является относительной величиной и может зависеть не только от интенсивности освещения, но и от генеральной жизненной функции растения на конкретном этапе: накопление или потребление запасных веществ, интенсивный рост, репродукция и т.д., что может изменять соотношение площади и массы, т.е. ту основу, на которую рассчитывается содержание пигментов. Данные процессы могут маскировать либо имитировать перестройки фотосинтетического аппарата. Поэтому одним из широко используемых характеристик ФСА является показатель соотношения хлорофиллов и каротиноидов (Хл/Кар).

По изменению соотношения Хл/Кар исследованные водоросли четко разделяются по систематическим группам. У зеленых водорослей данный показатель достаточно стабилен в течение года, наблюдается увеличение в летний период и январе (рис. 5А). У красных - в течение лета он постоянен и минимален и значительно повышается в зимне-весенний период (рис. 5Б). У бурых водорослей в течение года соотношение хлорофиллов и каротиноидов достаточно стабильное, с тенденцией понижения от лета к зиме (рис. 5В).

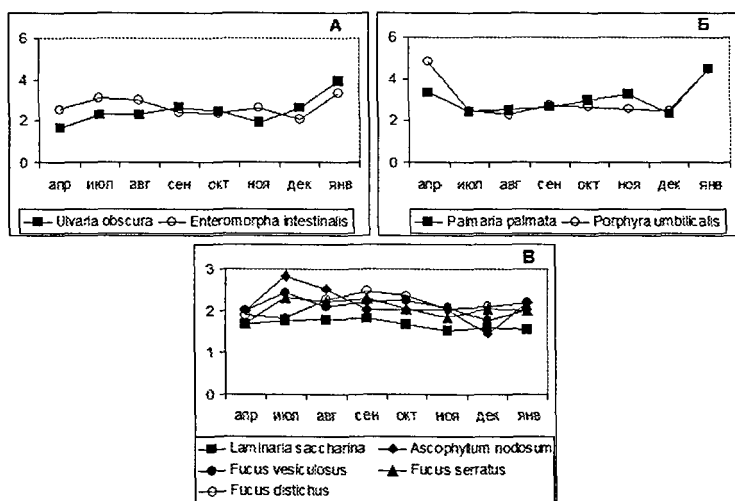


Рис. 5. Изменение соотношения Хл/Кар у зеленых (А), красных (Б) и бурых (В) водорослей в течение года.

Анализ соотношения Хл/Кар показал достаточно большое содержание каротиноидов у всех исследованных видов водорослей. Увеличение относительного содержания каротиноидов у зеленых и красных водорослей в период с января по апрель, вероятно, связано

с их фотозащитной функцией (поскольку в этот период у водорослей данных систематических групп наблюдается максимальное развитие ССК). У бурых водорослей в это же время происходит накопление экранирующих пигментов (фенольные соединения), защищающих пигментный аппарат от фотодеструкции, что объясняет относительную стабильность соотношения Хл/Кар в течение года. Понижение соотношения указывает на реакцию ФСА к изменению фотопериода, о чем подробнее будет сказано в соответствующей главе.

Изменение содержания отдельных каротиноидных пигментов и их соотношения с хлорофиллом *a* также может служить индикатором перестроек фотосинтетического аппарата водорослей в ответ на изменение интенсивности и спектрального состава освещения, а также температуры окружающей среды (Mendoza *et al.*, 1996; Nan *et al.*, 2003; Sofronova *et al.*, 2006). Особенно это актуально для литоральных водорослей, испытывающих значительные перепады температур при приливно-отливных циклах.

Пигмент  $\beta$ -каротин находится только в фотосистемах (хотя у бурых водорослей небольшое количество данного пигмента может содержаться и в ксантосомах (Passacuet *et al.* 1991). И если соотношение хлорофиллов *a* и *b* характеризует эффективность работы ССК, то содержание  $\beta$ -каротина и его соотношение с Хл *a* может косвенно свидетельствовать об изменении доли хлорофилла, приходящегося на фотосистемы. Поскольку наименьшее содержание  $\beta$ -каротина и увеличение соотношения Хл *a*/ $\beta$ -кар приходится на летний период, это позволяет предположить что количество ФС летом сводится до минимума. Возможно также, что в летний период, при повышении температуры воды, снижается необходимость стабилизации фотосинтетических мембран, что является одной из функций каротиноидов и, в основном,  $\beta$ -каротина.

У зеленых и бурых водорослей соотношение Хл *a*/ $\beta$ -кар максимально в июле-августе (рис. 6 А, В). У красных водорослей это соотношение достаточно невелико и стабильно (рис. 6 Б). По всей вероятности, адаптация к изменению интенсивности освещения у них происходит в основном за счет изменения размеров ССК.

Присущий только зеленым водорослям каротиноид неоксантин входит в состав ССК. Он может выполнять светособирающую функцию, передавая энергию на Хл *b*, а также структурную функцию, влияя на пространственное расположение молекул хлорофиллов и ксантофиллов (Croce *et al.*, 1999a,b; Polle *et al.*, 2001). Возможно поэтому его относительное содержание в течение года изменяется в соответствии с размерами ССК (рис. 6Г).

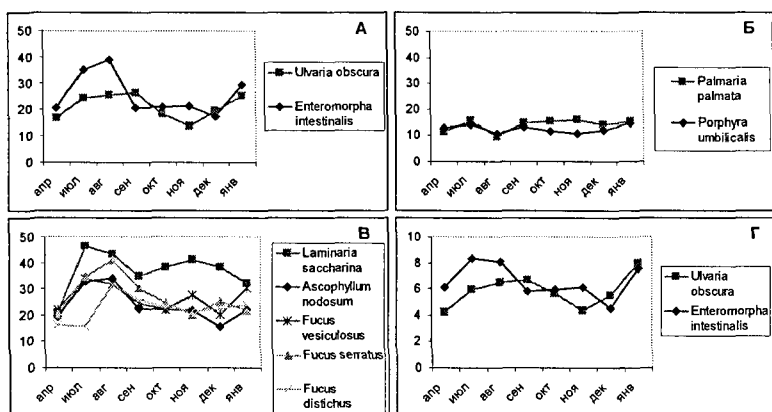


Рис. 6. Изменение соотношения Хл *a*/β-каротин в талломах зеленых (А), красных (Б) и бурых (В) водорослей, а также соотношения Хл *a*/неоксантин у зеленых водорослей (Г) в течение года.

Ксантофиллы лютеин и виолаксантин выполняют светособирающую, фотозащитную функцию, а также принимают участие в стабилизации хлорофилл-белковых комплексов. Лютеин был выделен нами у красных и зеленых водорослей. У бурых данный пигмент отсутствовал, что также подтверждается литературными данными (Haugan, Liaaen-Jensen, 1994). В отличие от β-каротина и неоксантина, связи относительного содержания данных пигментов с сезонными изменениями ССК не обнаружилось.

Соотношение Хл *a*/лютеин у красных водорослей и зеленой улварии имеет сходную сезонную динамику, с весенним минимумом и постепенным повышением к зимнему периоду (рис. 7).

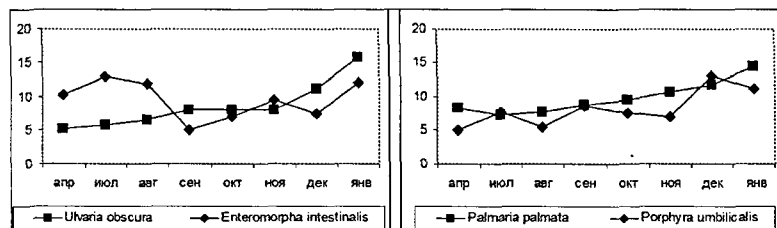


Рис. 7. Изменение соотношения Хл *a*/лютеин в талломах водорослей в течение года.

Такую же динамику наблюдали и при анализе относительного содержания виолаксантина у красных и зеленых водорослей (рис. 8). Особенностью фукусовых водорослей (у ламинарии такого эффекта не наблюдается) являлось резкое снижение содержания

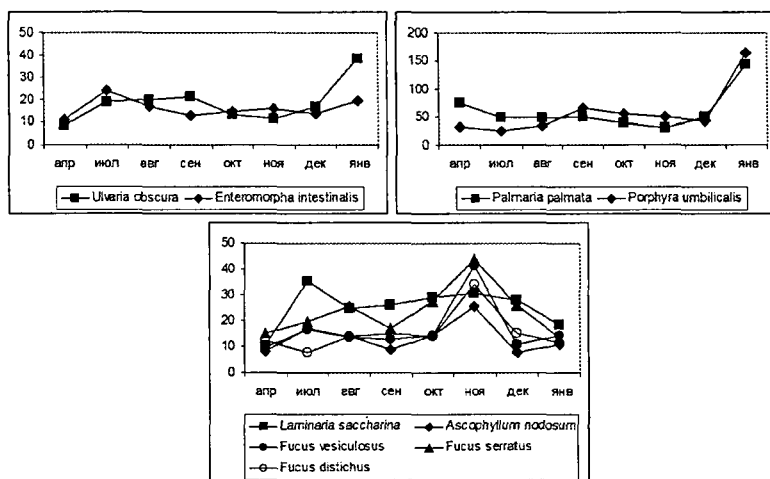


Рис. 8. Изменение соотношения Хл *a*/виолаксантин в талломах водорослей в течение года.

виолаксантина в ноябре и накопление в декабре. Возможно, что при недостатке освещения и сниженном в связи с этим синтезе высокомолекулярных соединений, происходит конкуренция за  $\beta$ -каротин, который является предшественником и виолаксантина, и фукоксантина. Поскольку в зимний период более востребована функция светосбора, синтез ксантофиллов переключается на образование фукоксантина за счет снижения содержания виолаксантина. При анализе их сезонных изменений можно отметить, что содержание виолаксантина и фукоксантина у бурых водорослей находится в противофазе (рис. 9 В, Д).

Снижение содержания виолаксантина (увеличение соотношения Хл *a*/виолаксантин) также может быть связано с синтезом абсцизовой кислоты, которая может являться инициатором формирования репродуктивной ткани у бурых водорослей (Nimura, Mizuta, 2002). На Мурманском побережье начало образования репродуктивной ткани фукусовых (Кузнецов, Шошина, 2003) совпадает со временем снижения содержания виолаксантина.

У красных и зеленых водорослей наблюдается стабильное соотношение Хл *a*/виолаксантин в течение года, с увеличением показателя в январе, что также может быть связано с образованием репродуктивных тканей.

Изменение содержания отдельных каротиноидов в течение года может происходить вследствие смены их функциональной направленности и напрямую не зависеть от количества Хл *a* (рис. 9).

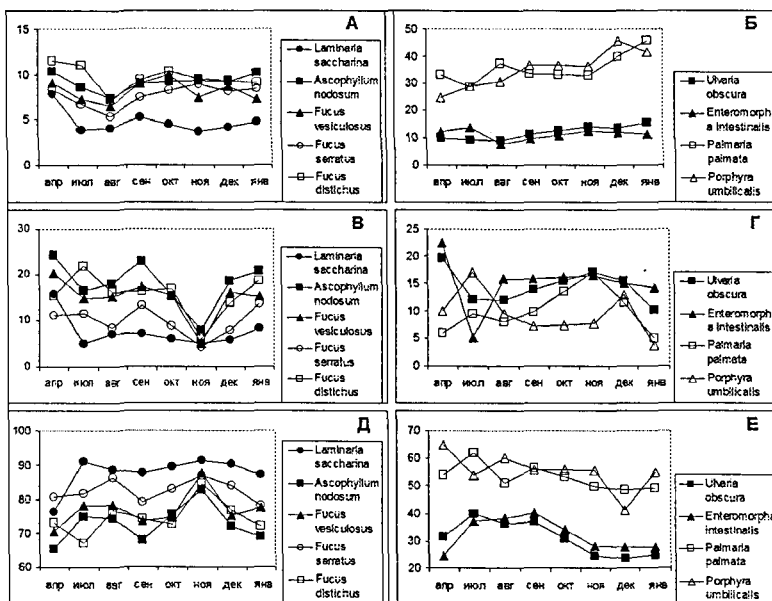


Рис. 9. Изменение относительного содержания (% от суммы) отдельных каротиноидов в талломах водорослей в течение года. А, Б -  $\beta$ -каротин, В, Г - виолаксантин, Д - фукоксантин, Е - лютеин.

#### 4.1.4. Сезонные изменения содержания экранирующих и абсорбирующих веществ (флоротаннины).

Основными экранирующими веществами водорослей, защищающими фотосинтетический аппарат от избытка освещения, являются фенолы, таннины и микоспоринподобные аминокислоты. Анализ структуры клеток и клеточных компонентов показал, что количество физоидов, содержащих флоротаннины, у фукусовых водорослей в летний период более чем в 2 раза выше, чем в зимний. Кроме этого, окраска физоидов в летний период более интенсивная (рис. 10).

Таким образом, проведенные нами исследования раскрыли структурные и функциональные адаптационные перестройки фотосинтетического аппарата, позволяющие водорослям Баренцева моря эффективно функционировать в течение всего года при значительных изменениях интенсивности освещения. Выявлена также сезонная динамика содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, которая зависит от систематической принадлежности

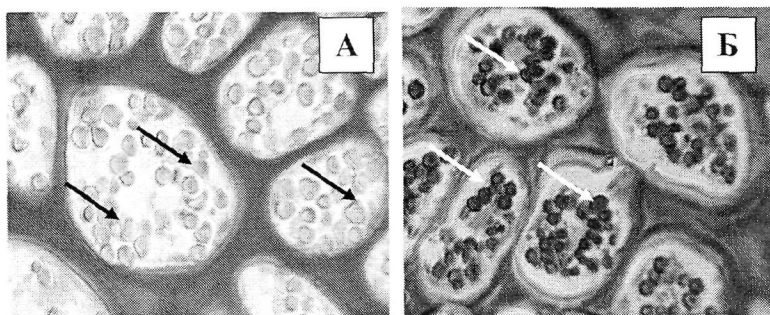


Рис. 10. Изменение количества и структуры физоидов (показаны стрелками) в клетках корового слоя бурой водоросли *F. vesiculosus* в зимний (А) и летний (Б) периоды.

водорослей и от высоты их произрастания на литорали. У зеленых водорослей ФСА является наиболее лабильным: в течение года в широких пределах варьирует содержание фотосинтетических пигментов, размер ССК и количество фотосистем. Ответная реакция красных водорослей заключается в основном в изменении размеров ССК и содержания каротиноидных пигментов. Наиболее стабильным является ФСА бурых водорослей. Адаптация к высокой интенсивности освещения в летний период у бурых водорослей в основном происходит путем накопления экранирующих пигментов. У водорослей, принадлежащих к разным отделам, имеются общие ответные реакции на изменение интенсивности освещения, что может быть связано как со стратегией их сезонного роста, так и с приспособлением к существованию в условиях высоких широт.

#### 4.1.5. Сезонные изменения содержания сухого вещества.

Исследование содержания сухих веществ в талломах водорослей показало, что максимальное их количество приходится на осенний период (кроме *Porphyra umbilicalis*), а минимальное - на летний. Наблюдаются межвидовые различия, вызванные стратегией сезонного роста и развития водорослей, а также процессами накопления и расходования запасных веществ. Изменение содержания сухих веществ в талломе растений может проявляться при изменении рН и осмотического давления, что приводит к накоплению воды в клетках, а также при интенсивном росте таллома.

Наибольшее содержание сухих веществ отмечается у зеленой водоросли *Ulvaria obscura*, минимальное - у *Laminaria saccharina*. Изменение данного параметра в течение года (таб. 2) характеризует стратегию сезонного роста и развития водорослей. У двух

исследованных видов, *Laminaria saccharina* и *Palmaria palmata*, наблюдается не только наименьшее содержание, но и минимальная вариабельность данного показателя в течение года. Это может свидетельствовать о наличии у них дополнительных (кроме потребления запасных веществ) механизмов существования в период полярной ночи. Наибольшие изменения содержания сухих веществ в течение года наблюдаются у *Enteromorpha intestinalis* и *Fucus vesiculosus*. Эти виды активно накапливают запасные и структурные вещества в течение лета и осени (значительное влияние на данный процесс оказывает фотопериод) и используют их в полярную ночь при недостатке освещения. Подробнее механизмы, обеспечивающие существование различных видов водорослей в течение полярной ночи, рассмотрены в соответствующей главе.

Исследование показало наличие сезонной динамики в содержании сухих веществ у водорослей Баренцева моря. Сходства динамик у представителей одного отдела или у видов, произрастающих в одинаковых условиях, выявлено не было. Таким образом, общее содержание сухих веществ зависит от строения таллома конкретного вида водорослей, а изменение данного показателя в течение года может быть связано со стратегией их сезонного роста и развития.

Таблица 2. Содержание сухих веществ и изменение их содержания в течение года.

| Вид                              | Среднегодовое содержание (% от сыр. массы) | Изменение содержания в течение года (%) <sup>*</sup> |
|----------------------------------|--|--|
| <i>Laminaria saccharina</i>      | 13,2                                       | 25,3   |
| <i>Palmaria palmata</i>          | 18,4                                       | 17,2   |
| <i>Enteromorpha intestinalis</i> | 18,8                                       | 53,1   |
| <i>Fucus serratus</i>            | 20,2                                       | 33,3   |
| <i>Fucus distichus</i>           | 22,0                                       | 37,4   |
| <i>Porphyra umbilicalis</i>      | 22,4                                       | 26,4   |
| <i>Ascophyllum nodosum</i>       | 24,4                                       | 28,3   |
| <i>Fucus vesiculosus</i>         | 25,2                                       | 42,1   |
| <i>Ulvaria obscura</i>           | 29,0                                       | 21,4   |

\* Рассчитывали по формуле: (Max-Min)/Max \* 100%.



#### 4.1.6. Механизмы существования водорослей в период полярной ночи и при отсутствии освещения.

На Мурманском побережье Баренцева моря полярная ночь длится около 1 месяца (2 декабря - 10 января), средняя интенсивность ФАР в середине декабря в полдень составляет 3 Вт/м<sup>2</sup>. На широте Шпицбергена полярная ночь длится около 4 месяцев (28 октября - 14 февраля), из них 2 месяца (декабрь - январь) освещение отсутствует.

До недавнего времени считалось, что в течение полярной ночи водоросли впадают в состояние "спячки" или мезабиоза (Голдовский, 1977а, б; Воскобойников, Камнев, 1991). Наши исследования показали наличие физиологической активности водорослей, а также установили, что на Мурманском побережье интенсивность естественного освещения, присутствующего в дневные часы в период полярной ночи, достаточна для протекания реакций фотосинтеза у большинства видов водорослей. Причем интенсивность фотосинтеза в дневное время в несколько (6-8) раз превышает интенсивность дыхания (хотя в течение полных суток, что важно для определения продукционных показателей вида, дыхание превалирует). Косвенно о наличии фотосинтеза свидетельствует и присутствие запасных веществ (крахмальные гранулы и обкладка пиреноида у *Ulvaria obscura*) в клетках водорослей на момент окончания полярной ночи (рис. 11).

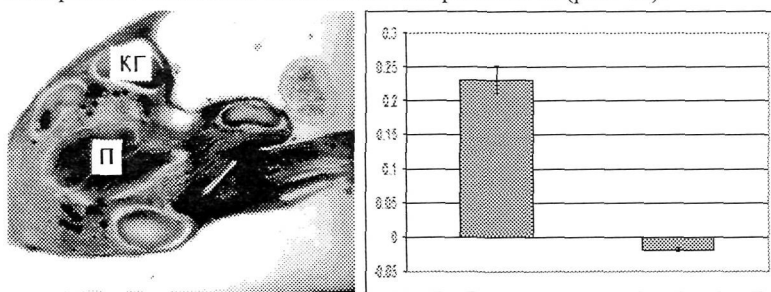


Рис. 11. Ультраструктура хлоропласта (КГ - крахмальные гранулы, П - пиреноид) и интенсивность фотосинтеза и дыхания (мгО<sub>2</sub>/г сыр. массы\*ч) зеленой водоросли *Ulvaria obscura* в естественных условиях в декабре (ФАР - 3 Вт/м<sup>2</sup>, t=+0.6 °С).

Для моделирования условий полярной ночи более высоких широт (архипелаги Земля Франца-Иосифа и Шпицберген), где наблюдается полное отсутствие освещения, водоросли в зимний период помещали в море в специальный светонепроницаемый контейнер. В данной серии экспериментов были выявлены различные механизмы существования водорослей, и показано, что

продолжительность существования водорослей при отсутствии освещения зависит от структуры таллома и расположения меристематической зоны.

Однолетние водоросли при недостатке освещения находятся в покоящейся стадии. Большинство видов зимний период переживают в виде микроскопических стадий жизненного цикла (гаметофитов или спор) (Vreeman, 1988; том Dieck, 1993).

Многолетние красные и зеленые макроводоросли, имеющие тонкопластинчатую организацию таллома и диффузный рост (отсутствие дифференцированной зоны роста), наиболее чувствительны к недостатку освещения. Продолжительность их существования ограничена количеством внутриклеточных запасных веществ и составляет около 30 суток. При деградации наблюдается разрушение фотосинтетического аппарата.

У более высокоорганизованных бурых водорослей кроме потребления запасных веществ имеются дополнительные механизмы, обеспечивающие их существование при отсутствии освещения, обусловленные физиологической дифференциацией различных участков таллома. Механизмы направлены на поддержание меристематической зоны в интактном состоянии. У фукусовых водорослей эта зона находится в апикальной части таллома, у ламинариевых - расположена на границе стволика и пластины.

Псевдопаренхиматозная структура таллома бурых водорослей предполагает наличие гетеротрофного питания внутренних слоев клеток, лишенных возможности фотосинтетической ассимиляции углерода. Их питание обеспечивается ближним транспортом ассимилятов от внешнего фототрофного слоя клеток. При этом во внутренних слоях происходит накопление запасных веществ. При неблагоприятных световых условиях наблюдается обратный транспорт ассимилятов к клеткам внешнего слоя.

Наши исследования показали, что даже при длительном отсутствии освещения клетки внешнего фототрофного слоя у *L. saccharina* остаются в интактном состоянии и не теряют способности к фотосинтезу. В темноте на 30% снижается толщина центральной части таллома (рис. 12 А), а также содержание сухих веществ (рис. 12 Б). В зоне роста и волане морфологических изменений не происходит. Но в волане наблюдается деградация фотосинтетического аппарата: количество Хл *a* уменьшается на 30%, фукоксантина - на 40% (рис. 12 В). В центральной части таллома

общее содержание фотосинтетических пигментов не меняется, однако несколько увеличивается содержание Хл *a* и на столько же снижается содержание фукоксантина. Вследствие этого изменяется соотношение хлорофиллов и каротиноидов (рис. 12 Г). В зоне роста перестроек ФСА не наблюдалось. При недостатке освещения сохранение зоны роста происходит за счет транспорта запасных веществ из центральной части (о чем свидетельствует снижение ее толщины и массы).

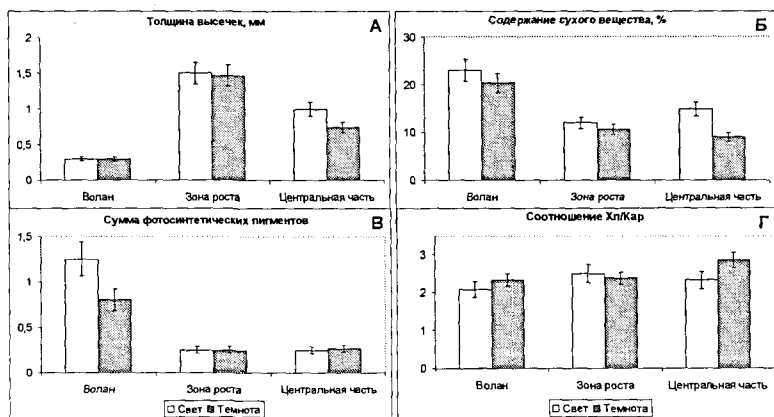


Рис. 12. Изменение морфо-физиологических параметров *Laminaria saccharina* при отсутствии освещения: А - толщина различных участков таллома (мм), Б - содержание сухого вещества (%), В - содержание фотосинтетических пигментов (мкг/г сыр. массы), Г - соотношение фотосинтетических пигментов.

У *Laminaria saccharina* также существует и дальний транспорт ассимилятов, который активизируется в конце летнего периода. При этом отток ассимилятов от разрушающихся клеток волана и дистальной части пластины к зоне роста (Schmitz, Lobban, 1976) способствует сохранению ее функциональной активности и даже позволяет запускать ростовые процессы в период полярной ночи (Dunton, Schell, 1986; Makarov *et al.*, 1999). При увеличении фотопериода быстрое формирование новой пластины происходит за счет интенсивного деления клеток меристематической зоны и функциональной активности фотосинтетического аппарата клеток оставшегося участка таллома.

Таким образом, сохранение жизнеспособности ламинариевых водорослей при отсутствии освещения достигается путем потребления внутриклеточных запасных веществ

гетеротрофных слоев клеток и органических веществ, образующихся в процессе автолиза таллома. Продолжительность существования составляет около 60 суток и зависит от возраста таллома и длины пластины.

У фукусовых водорослей зона роста апикальная, и они не могут, подобно ламинариевым водорослям, активно использовать органические вещества, образующиеся при автолизе таллома. Однако нами было показано, что *F. vesiculosus* способен до 9 месяцев находиться в условиях отсутствия освещения. Через 3 месяца морфологических изменений таллома не наблюдалось, более того, происходило образование органов размножения - рецептакулов, что свидетельствует об активности клеток в зимний период и наличии эндогенной регуляции развития репродуктивной ткани.

Через 6 месяцев нахождения водорослей в темноте их фотосинтетический аппарат сохранялся в интактном состоянии, количество и соотношение фотосинтетических пигментов оставалось неизменным. Интенсивность фотосинтеза и дыхания менялись незначительно, уровень фотосинтеза был в 6-8 раз выше, чем дыхания (рис 13). На ультраструктурном уровне наблюдали уменьшение размеров и снижение электронной плотности гранул полисахаридной природы, увеличение удельной доли митохондрий и крист в митохондриях.

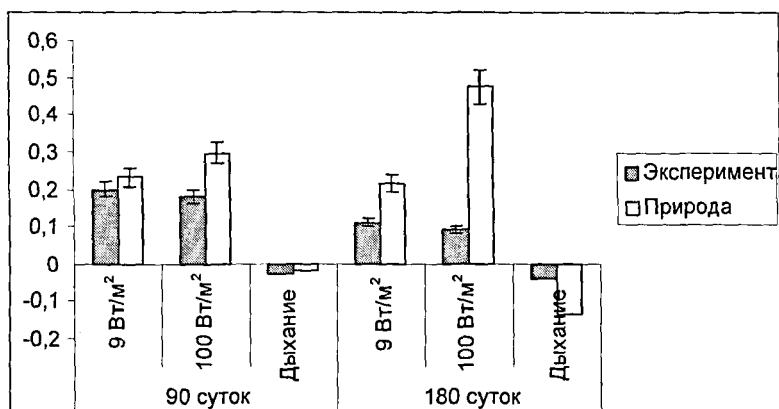


Рис. 13. Интенсивность видимого фотосинтеза и дыхания *F. vesiculosus* (мгО<sub>2</sub>/г сыр. массы\*ч) после нахождения в условиях отсутствия освещения (90 и 180 суток).

Восстановление фотосинтетической активности растений, находившихся в темноте, зависело от уровня освещения. Слабое освещение ( $1.5 \text{ Вт/м}^2$ ) не активировало работу фотосинтетического аппарата, увеличение освещенности до  $4 \text{ Вт/м}^2$  приводило к возрастанию интенсивности фотосинтеза. Зависимость процессов восстановления от уровня освещения предполагает наличие связи с энергетическим обменом клетки. Наблюдавшееся временное снижение фотосинтеза при увеличении ФАР могло быть связано с перестройкой энергетического обмена с эндогенного и органотрофного на фототрофный.

Способность водорослей к поглощению растворенных органических веществ была показана ранее К.М. Хайловым с коллегами (Хайлов, 1971; Хайлов, Фирсов, 1976; Хайлов, Моница, 1977). По всей вероятности, органические вещества используются макрофитами для поддержания энергетического обмена, поскольку нами было показано поглощение карбонат-ионов при отсутствии световой фиксации  $\text{CO}_2$ , что было также отмечено и у других видов водорослей (Титлянов и др., 1972; Быков, 2003; Колмаков, 2005; Трусова, 2009). Сходные результаты получены нами и в экспериментах с другими видами фукусовых водорослей.

Таким образом, проведенное исследование физиологического состояния, морфологии и ультраструктуры клеток водорослей различных систематических групп показало, что на Мурманском побережье возможность их существования в период полярной ночи обеспечивается адаптацией фотосинтетического аппарата к низкому уровню освещения. Максимальная продолжительность существования водорослей при отсутствии освещения зависит от структуры таллома. Красные и зеленые водоросли, имеющие простую организацию, являются наименее устойчивыми. Время их существования в темноте ограничено количеством запасных веществ. У ламинарии сахаристой функциональная специализация различных участков таллома и наличие дальнего транспорта веществ обеспечивает сохранение жизнеспособности в течение около 60 суток отсутствия освещения (в зависимости от возраста и длины пластины). Фукоиды при недостатке освещения способны переходить с фотоавтотрофного на гетеротрофный способ питания, что может являться важным условием их распространения в высоких широтах.

#### 4.2. Влияние фотопериода.

Нами было проведено исследование влияния фотопериода на скорость роста, содержание сухих веществ и состояние фотосинтетического аппарата водорослей-макрофитов Баренцева моря. Увеличение периода освещения способствовало росту водорослей в осенне-зимний период и не влияло или тормозило рост в течение весны и лета. Эксперименты также показали, что при постоянном освещении скорость роста большинства видов водорослей выше, чем при фотопериоде 12/12 свет/темнота. Тем не менее, в естественных условиях при постоянном освещении (полярный день) и увеличении температуры воды рост водорослей замедляется, что является проявлением эндогенных ритмов сезонного развития водорослей. Сходные данные также были получены и на других видах водорослей из морей умеренных широт (Fortes, Lüning, 1980; Lüning 1991, 1993; tom Dieck, 1991; Lüning, Kadel, 1993; Schaffelke, Lüning, 1994).

Реакция фотосинтетического аппарата клетки на продолжительность и интенсивность освещения различается. При длинном дне наблюдается общее снижение содержания фотосинтетических пигментов без изменения соотношения хлорофиллов и каротиноидов (рис. 14 А, В). При более кратковременном, но интенсивном воздействии содержание пигментов не изменяется, но наблюдается накопление каротиноидов (рис. 14 Б, Г). В естественных условиях при коротком световом дне накопление каротиноидов, выполняющих двойную роль и фотозащитных и светособирающих пигментов, является наиболее выгодным для оптимального функционирования фотосинтетического аппарата. При высокой интенсивности освещения в дневные часы каротиноиды защищают хлорофиллы от фотодеструкции, а при пониженном освещении в утренние и вечерние часы исполняют роль дополнительных "светосборщиков", увеличивая тем самым период эффективного использования световой энергии.

Также было выявлено влияние фотопериода на содержание сухих веществ в талломах *Fucus vesiculosus*: снижение продолжительности освещения вызывало их накопление. Особенно ярко данный эффект наблюдается при коротком световом дне. Фотопериод 8/16 (свет/темнота) вызывал более активное накопление сухих веществ, чем фотопериод 16/8.

Таким образом, наши исследования подтвердили вывод К. Люнинга (Lüning, 1993), что фотопериод является регулятором,

синхронизирующим эндогенные ритмы водорослей с условиями внешней среды. Особенно это актуально для водорослей полярных морей, где температурные и световые условия в течение года меняются в широких пределах.

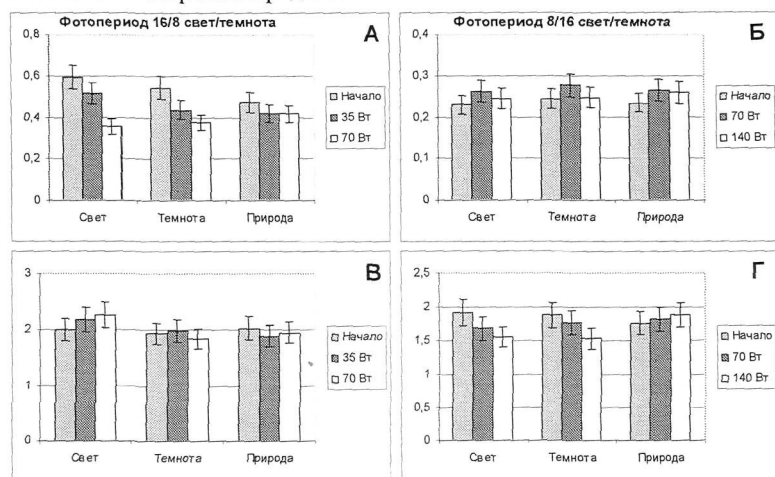


Рис. 14. Содержание хлорофиллов (Хл a + Хл c, мкг/г сыр. массы, А, Б) и соотношение Хл/Кар (В, Г) в талломах *Fucus vesiculosus*, находившихся в экспериментальных условиях при различном фотопериоде.

### 4.3 Влияние ультрафиолетовой радиации.

#### 4.3.1 Влияние ультрафиолетовой радиации на скорость роста водорослей-макрофитов в естественных условиях.

Ультрафиолетовая область спектра (УФ) по длинам волн разделяется на три составляющих: УФ-А (200-280 нм), УФ-Б (280-320 нм) и УФ-С (320-400 нм, Lubin, Frederick, 1989).

Весной, когда процессы роста наиболее интенсивны, УФ радиация оказывает наибольшее повреждающее воздействие. Скорость роста водорослей максимальна при ее отсутствии, остается на том же уровне или немного снижается под воздействием УФ-А и заметно уменьшается под воздействием УФ-Б (рис. 15).

Виды, обитающие в нижней литорали и верхней сублиторали и имеющие пластинчатую организацию таллома, оказываются наиболее чувствительными. Эксперименты с применением избирательных фильтров, отсекающих различные спектры УФ-радиации, показали, что у *Ulvaria obscura* под влиянием УФ-Б интенсивность роста снижается на  $64 \pm 6\%$ .

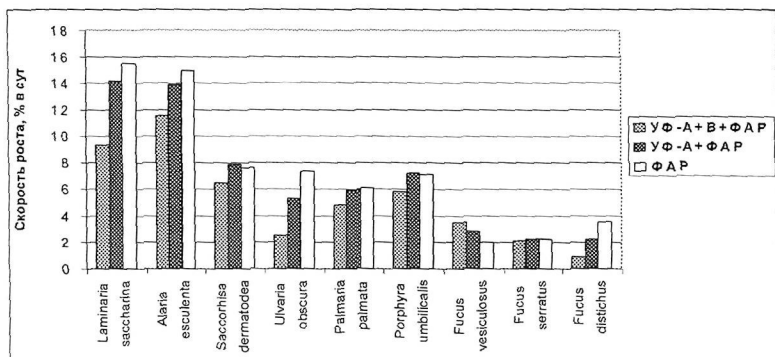


Рис. 15. Изменение скорости роста водорослей под воздействием различных частей ультрафиолетовой радиации в мае месяце.

Скорость роста *Fucus distichus*, хотя он и имеет плотную структуру и обитает в средней литорали, снижается на  $81 \pm 8\%$ . На рост *Fucus serratus* УФ не оказывает влияния, а у *Fucus vesiculosus* наблюдается даже увеличение скорости роста, что может объясняться его произрастанием на верхней литорали, и адаптацией его фотосинтетического аппарата к высоким интенсивностям освещения. Поэтому даже небольшой недостаток света может лимитировать ростовые процессы у данного вида. Уменьшение скорости роста под влиянием природного УФ-Б также было показано для других видов водорослей, что связывают с нарушением работы фотосинтетического и белоксинтезирующего аппаратов (Harm, 1980; Dohler, 1984; Karentz *et al.*, 1991a; Jordan *et al.*, 1991).

Таким образом, результаты экспериментов свидетельствуют, что в условиях Мурманского побережья Баренцева моря естественный уровень УФ-Б в весенний период снижает скорость роста водорослей. УФ-А не оказывает заметного ингибирующего влияния и, вероятно, служит дополнительным источником энергии в случае уменьшения количества ФАР.

#### 4.3.2. Толерантность различных видов водорослей к УФ-Б.

Лабораторные эксперименты показали, что наиболее чувствительными к воздействию УФ-Б являются *Saccorhiza dermatodea* и *Ulvaria obscura*. Оба вида значительно снижают скорость роста, однако у ульварии наблюдалась высокая интенсивность восстановительных процессов. У сублиторальных видов *Laminaria saccharina* и *Alaria esculenta* при воздействии УФ-Б скорость роста также снижалась и быстро восстанавливалась после снятия воздействия.



Наиболее устойчивыми к воздействию УФ-Б оказались *Porphyra umbilicalis* и *Palmaria palmata*. Последняя снижает относительную скорость роста незначительно (с 2.1 до 1.4%/сут), но имеет низкую скорость восстановления. Скорость роста *P. umbilicalis* под воздействием УФ-Б не снижалась.

Результаты экспериментов свидетельствуют, что степень устойчивости разных видов к УФ-Б зависит от содержания экранирующих и УФ-абсорбирующих пигментов, а также активности репарационных процессов.

#### 4.3.3. Влияние УФ-Б на выход и жизнеспособность спор *Laminaria saccharina* и *Palmaria palmata*.

Облучение спорогенной ткани *L. saccharina* УФ-Б вызывало активацию выхода спор. При высокой интенсивности (1.2 Вт/м<sup>2</sup>, что соответствует природному уровню в ясный летний день) выход начинался через 4 ч после начала воздействия, при низкой - через более длительный промежуток времени. Микроскопический анализ облученной ткани показал, что УФ-Б вызывает гибель парафиз в спорогенной ткани *L. saccharina*, что влечет за собой выход не только подвижных зрелых, но и незрелых спор и отрыв целых спорангиев.

Наблюдения за прорастанием вышедших спор показали, что облучение ультрафиолетом не повлияло на их дальнейшее развитие. Все споры проросли на 1-3 сутки после воздействия.

При облучении зооспор *L. saccharina* УФ-Б выявлено, что скорость их оседания также напрямую зависит от интенсивности воздействия. Если в контроле споры начали оседать через 15 час после начала опыта, то при высокой интенсивности УФ-Б (1.2 Вт/м<sup>2</sup>) - через 3 часа.

В контрольном варианте споры начинали прорастать в течение первых суток эксперимента. После 12-часового воздействия УФ-Б большинство спор оказались жизнеспособными, однако лаг-фаза между оседанием и началом прорастания колебалась от 4 суток при облучении УФ-Б интенсивностью 0.1 Вт/м<sup>2</sup> до 13 суток при интенсивности 1.2 Вт/м<sup>2</sup>. При облучении спор УФ-Б интенсивностью 1.2 Вт/м<sup>2</sup> в течение 24 ч проросло только 1-2%.

Дальнейшие наблюдения показали отсутствие нарушений развития спор, облученных малой интенсивностью УФ-Б (0.1-0.3 Вт/м<sup>2</sup>), и даже некоторое стимулирование роста. Гаметофиты состояли из 4-6 клеток, в большинстве из них просматривались клеточные структуры. Большая часть гаметофитов, образовавшаяся из спор, подвергнутых облучению УФ-Б интенсивностью свыше 0.6 Вт/м<sup>2</sup>, значительно отставали в развитии.

При облучении эмбриоспор *L. saccharina* УФ-Б в течение 12 час, независимо от интенсивности, большая их часть оставалась способной к дальнейшему развитию. 24-час облучение эмбриоспор УФ-Б интенсивностью свыше 0.6 Вт/м<sup>2</sup> приводило к их гибели, хотя и наблюдались начальные этапы развития (рис. 16).



Рис. 16. Прорастание эмбриоспор *L. saccharina* после 24 ч воздействия УФ-Б.

Оболочка эмбриоспоры значительно толще, чем у зооспоры. Тем не менее, дозы УФ-Б которые не оказывают влияния на развитие зооспор, для эмбриоспор оказывается губительными. Вероятно, это происходит потому, что у эмбриоспор ДНК и белоксинтезирующий аппарат находятся в активном состоянии. Данные структуры в первую очередь подвержены влиянию УФ-Б (Calcins, Barcelo, 1982; Karentz *et al.*, 1991a).

При облучении репродуктивной ткани *Palmaria palmata* УФ-Б также наблюдался выход тетраспор, однако прямой зависимости между интенсивностью облучения и количеством вышедших спор выявлено не было (рис. 17 А), но активный выход тетраспор происходил после перенесения облученной ткани в темноту (рис. 17 Б).

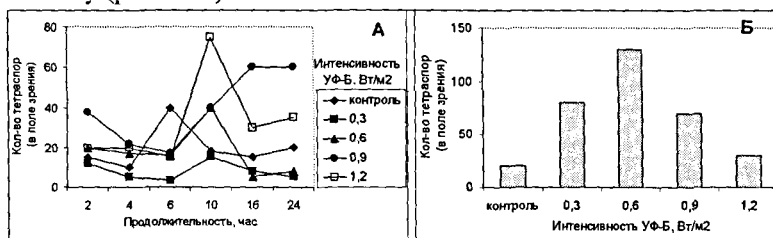


Рис. 17. Выход тетраспор из репродуктивной ткани *P. palmata* при облучении УФ (А) и после переноса облученной ткани в темноту на 10 час (Б).

Эксперимент показал, что при отсутствии освещения наблюдается выход тетраспор из спорогенной ткани *Palmaria palmata*. Присутствие УФ-Б в предварительном освещении активизирует этот процесс. Повышение интенсивности УФ-Б до определенных значений ( $0.6 \text{ Вт/м}^2$ ) вызывает увеличение выхода тетраспор в темноте примерно в 13 раз (в контроле в 2 раза), дальнейшее увеличение УФ-Б вызывает его ингибирование.

В отличие от спороношения ламинариевых водорослей (Макаров, 1987) механизм выхода тетраспор из спорогенной ткани *Palmaria palmata* до сих пор не исследован. Возможно, что в нем задействованы 2 различных механизма: ферментативный лизис клеточной стенки тетраспорангия и сдавливание его соседними клетками, увеличивающими свой объем за счет осмотических процессов. При увеличении количества УФ-радиации повышается осмотическое давление за счет нарушения функционирования механизма ионного транспорта в клеточной мембране и накопления ионов  $\text{Na}^+$  и воды в цитоплазме (Владимиров, Рошупкин, 1975; Green, 1956; Cook, 1965). Однако при этом также нарушается функция белоксинтезирующего аппарата и снижается синтез ферментов (Harm, 1980; Dohler, 1984; Karentz *et al.*, 1991a; Jordan *et al.*, 1991). Таким образом, при малой интенсивности УФ-Б синтез ферментов не снижается, но также не увеличивается и осмотическое давление. При высокой интенсивности осмотическое давление увеличивается, но тормозится синтез ферментов. Возможно, что именно вследствие этого максимальный выход тетраспор происходит при средней интенсивности УФ-Б, когда синтез ферментов еще не снижен, но уже происходит нарастание осмотического давления. То, что активизация выхода происходит в темноте, указывает на наличие еще одного, неизвестного пока, процесса.

Дальнейшие наблюдения показали большую устойчивость тетраспор пальмарии к воздействию УФ-Б по сравнению со спорами ламинарии. При 24-ч облучении УФ-Б интенсивностью  $1.2 \text{ Вт/м}^2$  прорастало 70% тетраспор.

Результаты экспериментов показали, что ультрафиолетовая радиация является фактором, оказывающим значительное влияние на выход и развитие спор водорослей. Если активизацию спорогенеза ламинарии осенью можно объяснить повышением температуры воды, то выход спор в феврале-мае может быть индуцирован увеличением интенсивности УФ радиации в этот период. У пальмарии выход тетраспор также происходит в феврале-марте, при высокой интенсивности УФ, ФАР и наличии

фотопериода. Возможно, что эндогенные ритмы развития репродуктивных тканей и выхода спор регулируются внешними воздействиями (длина дня, интенсивность освещения и УФ-радиация).

Таким образом, на примере *L. saccharina* и *P. palmata*, принадлежащим к различным отделам, можно проследить синхронизацию их жизненного цикла с условиями обитания. У ламинарии имеется 2 пика размножения, основной приходится на осень, дополнительный - в весенний период. Однако гаметофиты и спорофиты, образовавшиеся из вышедших весной спор, погибают в течение лета (Lee, Brinkhuis, 1988). Возможно, что синхронизация основного периода размножения ламинарии со временем минимальной активности УФ-радиации произошла с целью избегания пагубного воздействия последней. А весенний пик является остаточным редуцируемым явлением. У пальмарии наоборот, УФ-излучение стимулирует выход спор, и сроки размножения синхронизированы с периодом увеличения УФ-радиации в природе.

#### **4.4. Влияние глубины произрастания.**

##### **4.4.1 Изменение морфофизиологических параметров водорослей при различной глубине произрастания.**

Основными абиотическими факторами, изменяющимися с глубиной, являются освещение (интенсивность и спектральный состав) и уровень гидростатического давления. Другие важные для функциональной активности растений факторы в диапазоне глубин произрастания водорослей меняются незначительно, поскольку существует хорошее перемешивание водной массы в прибрежных районах и водообмен с открытой частью моря.

Наши исследования показали, что в течение летнего периода (июль-сентябрь) характер проникновения ФАР в толщу воды остается постоянным. В бухте Зеленецкая глубины 1 м достигает около 20% освещения, имеющегося на поверхности, а глубины 15 м, где заканчивается основной пояс растительности в Баренцевом море, - около 0.5% освещения. С начала октября прозрачность воды увеличивается, и на глубину 15 м проникает около 8% ФАР.

Исследование скорости роста водорослей показало, что для каждого вида характерны свои особенности произрастания на различных глубинах, что отражается в естественном вертикальном распределении видов. Выделяется 3 группы. В первую группу светлюбивых входят литоральные водоросли, для которых

характерно снижение скорости роста уже на небольших глубинах, однако они сохраняют способность к росту даже на значительной глубине (рис. 18 А). Для второй группы характерно снижение скорости роста возле поверхности. В нее входят тенелюбивые красные водоросли, произрастающие на больших глубинах или под пологом других растений (рис. 18 Б). Для третьей, в которую входит большинство исследованных видов водорослей-макрофитов, характерно постепенное снижение скорости роста с глубиной (рис. 18 В, Г).

Результаты экспериментальных исследований показывают, что уровень освещения лишь в незначительной степени влияет на вертикальное распределение водорослей. Однако у большинства видов (кроме глубоководных красных водорослей) скорость роста значительно снижается на глубине 10-12 м. На Мурманском побережье именно эти глубины являются нижней границей произрастания зарослей водорослей.

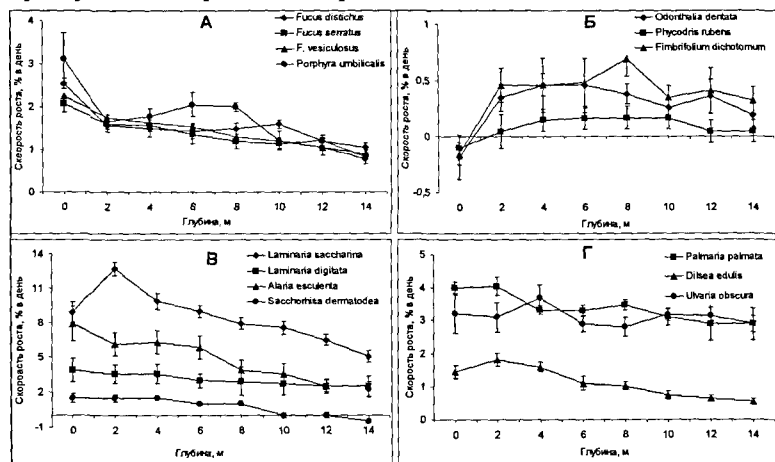


Рис. 18. Скорость роста водорослей на различной глубине.

Дополнительно было проведено исследование морфологии и физиологического состояния литорального вида *Fucus vesiculosus* при длительном нахождении (9 месяцев, январь-сентябрь) на глубине до 15 м.

Весной и в начале лета растения, произраставшие в поверхностном слое воды (0-0.5 м), в массе обрастали эпифитными водорослями (*Pylaiella littoralis*, *Ectocarpus* sp.). Во второй половине лета водоросли-эпифиты исчезали, но появлялись гидриды и моллюски-фитофаги. Талломы по внешнему виду не отличались от

растений из природных зарослей. Растения, произраставшие на глубинах 2-5 м, имели более темную окраску, на них поселилось большое количество гидроидов *Obelia geniculata*, двустворчатых (*Mytilus edulis*) и брюхоногих моллюсков (в основном *Epheria vincta*, редко *Margarites helicinus*). Признаки деградации талломов отсутствовали. У растений с глубины 10 м разрушалась апикальная часть и "листовая" пластинка на средней части таллома. Эпифиты отсутствовали, на талломах находились брюхоногие моллюски. У растений, произраставших на глубине 15 м, сохранилась только срединная жилка. Апексы, листовая часть и воздушные пузыри были разрушены. Эпифитов не обнаружено. На талломе присутствовало большое количество брюхоногих моллюсков, по-видимому, питавшихся разрушающимися участками таллома. Вероятно, что при снижении освещения или при отсутствии периодического осушения сократился синтез веществ, препятствующих поселению эпифитов и поеданию таллома животными. Полученные данные свидетельствуют в пользу наиболее распространенной гипотезы, что верхняя граница распространения литоральных видов определяется факторами среды, нижняя - конкуренцией (Kiirikki, 1996).

Интенсивность фотосинтеза *F. vesiculosus* с глубиной уменьшалась, однако, если освещение снижалось экспоненциально, то фотосинтез - линейно. Причем растения, предварительно адаптированные к глубине (14 сут), показывали большую интенсивность фотосинтеза по сравнению с растениями, собранными из природных зарослей непосредственно перед экспериментом (рис. 19). На глубине 15 м величина видимого фотосинтеза оставалась положительной и составляла около 20% от фотосинтеза растений, находившихся возле поверхности. Данный факт свидетельствует о перестройках фотосинтетического аппарата при уменьшении освещенности.

С целью исследования процессов, связанных с изменением освещения при увеличении глубины произрастания, дополнительно был исследован пигментный аппарат 4 видов бурых водорослей: *Fucus vesiculosus*, *F. distichus*, *F. serratus* и *Laminaria saccharina*. Для этого водоросли в течение 45 суток находились на глубинах 0, 0.5, 2, 5, 10 и 15 м. Повышение содержания фотосинтетических пигментов при увеличении глубины произрастания отчетливо проявилось у *F. distichus* и *L. saccharina*. У *F. serratus* их количество увеличивалось незначительно, а у *F. vesiculosus* повышение содержания пигментов происходило до глубины 5 м. Соотношение хлорофиллов и каротиноидов при этом изменялось незначительно. Прямая

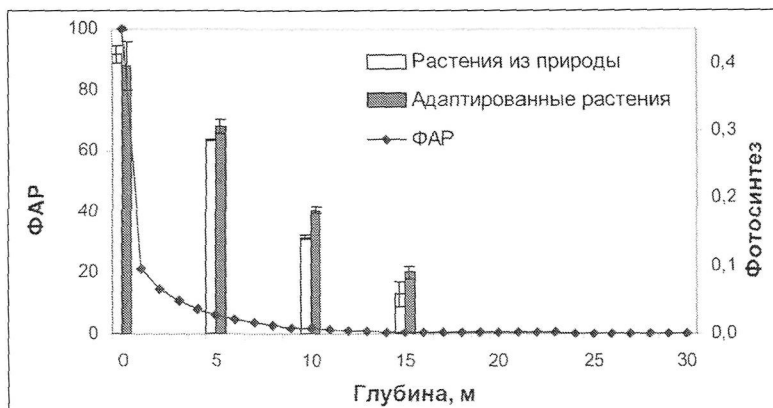


Рис. 19. Изменение интенсивности ФАР (% от освещения на поверхности) и видимого фотосинтеза ( $\text{мгO}_2/\text{ч}\cdot\text{г}$  сыр. массы) у *F. vesiculosus* при произрастании на различной глубине.

зависимость метаболической активности клеток (МА) от содержания фотосинтетических пигментов наблюдалась только у *F. vesiculosus* и *L. saccharina*. У *F. distichus* зависимость была обратная, а у *F. serratus* зависимости не обнаружилось (рис. 20). Содержание сухих веществ при увеличении глубины произрастания повысилось только у *F. vesiculosus*, у остальных видов данный показатель достоверно не изменился.

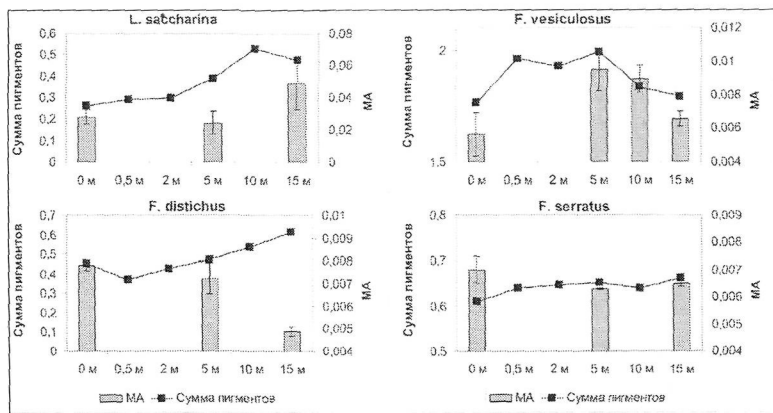


Рис. 20. Содержание фотосинтетических пигментов ( $\text{мкг}/\text{г}$  сыр. массы) и метаболическая активность клеток ( $A_{570\text{nm}}/\text{ч}\cdot\text{ч}$ ) в талломах водорослей при различной глубине произрастания.

Изменение соотношения доли пигментов, входящих в ССК, к общему содержанию хлорофилла *a* (что указывает на изменение размеров ССК), проявилось только у растений, произрастающих в среднем и верхнем горизонтах литорали - у *F. vesiculosus* и *F. distichus*. При этом размер ССК у *F. vesiculosus* увеличивался до глубины 2 м, а у *F. distichus* наоборот, снижался до глубины 5 м. У *F. serratus* и *L. saccharina* изменений ССК не происходило (рис. 21).

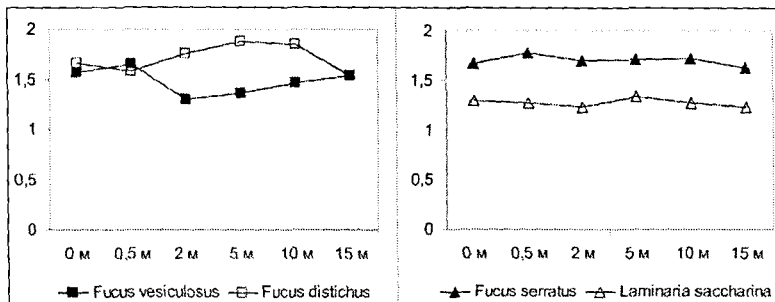


Рис. 21. Изменение соотношения Хл *a* / Хл *c* + фукоксантин в талломах бурых водорослей при произрастании на разных глубинах.

У *F. vesiculosus*, находившихся на глубине 0.5 м, при снижении метаболической активности клеток и содержания фотосинтетических пигментов скорость роста была максимальной. Это может объясняться наличием в верхнем слое воды "бликового" освещения, при котором интенсивность фотосинтеза растений может значительно увеличиваться (Greene, Gerard, 1990; Wing, Patterson, 1993). При дальнейшем увеличении глубины "бликовое" освещение снижается, при этом происходит и дополнительное затенение растений эпифитами. Снижение освещения вызывает адаптационные перестройки фотосинтетического аппарата. Данные процессы энергозависимы, что подтверждается увеличением метаболической активности водорослей. Поэтому синтез структурных элементов замедляется и наблюдается уменьшение скорости роста водорослей.

У *F. vesiculosus*, являющегося представителем светлюбивых видов, изменение морфофизиологических показателей при увеличении глубины произрастания проявилось наиболее ярко. В меньшей степени подобные изменения происходили и у остальных видов водорослей. Накопление фотосинтетических пигментов при увеличении глубины произрастания, превалирование процессов фотосинтеза над



дыханием, а также непрекращающийся рост литоральных водорослей даже на больших глубинах свидетельствуют об адаптационных перестройках фотосинтетического аппарата и возможности исследованных видов водорослей существовать на глубинах больших, чем они произрастают в естественных условиях.

#### 4.4.2 Влияние гидростатического давления на ранние стадии онтогенеза *Laminaria saccharina*.

Ламинария сахаристая в Баренцевом море образует пояс зарослей, расположенный на глубинах от 0 до 10-15 м. Нижняя граница пояса четко очерчена, и на большей глубине, даже при наличии подходящего субстрата, встречаются только единичные растения. Считается, что нижнюю границу вертикального распределения ламинарии сахаристой определяет недостаток освещения (Перестенко, 1969; Kain, 1971) или синего света (Lüning, Dring, 1979; Lüning, 1980; Odegaard *et al.*, 1998).

На Мурманском побережье в летний период до глубины 5 м, где расположены основные заросли ламинарии, достигает около 6 % ФАР, регистрирующейся возле поверхности (рис. 19). До глубины 15 м (нижняя граница пояса ламинарии) - около 0.5 %. Различие между глубиной 15 м и 25 м (где отсутствуют растения) составляет 0.1 %. Дефицит синего света также может ингибировать развитие гамет (Dring, Lüning, 1979; Lüning, 1980; Deysher, Dean, 1984; Shi *et al.*, 2005), однако нарушение развития наблюдалось и при достаточном количестве синего света и интенсивности освещения на глубине 45 м (Odegaard *et al.*, 1998). Наши исследования показали принципиальную возможность обитания водорослей на глубинах больших, чем наблюдается в естественных условиях. И возможной причиной ограничения глубины произрастания могут быть факторы, влияющие на ранние стадии онтогенеза ламинарии. Нами было выдвинуто предположение о негативном воздействии гидростатического давления и проведено исследование его влияния на ранние стадии развития ламинарии сахаристой.

Эксперименты показали, что на характер движения и скорость оседания зооспор ламинарии сахаристой высокое гидростатическое давление (5 атм) не оказывает влияния. После отмены воздействия прорастание и развитие спор опытного и контрольного вариантов происходило одинаково. На прорастающие споры меньшее давление (3 атм) оказывало значительное воздействие. Под давлением содержимое эмбриоспор либо частично перетекало в трубку, оставаясь наполовину в оболочке эмбриоспоры,

либо находилось в трубке фрагментарно. Формирование фотосинтетического аппарата происходило гораздо медленнее, внутреннее содержимое трубки и эмбриоспоры было значительно светлее, чем в контрольном варианте. Развивающиеся из отдельных спор гаметофиты имели уродливую форму, и были, по всей вероятности, стерильными, поскольку развития спорофитов в течение длительного времени (64 суток) не происходило (рис. 22). В контрольном варианте за 40 суток развились многоклеточные спорофиты.

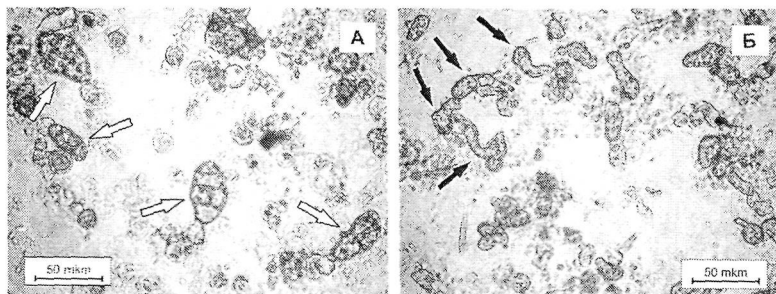


Рис. 22. Влияние гидростатического давления на развитие спор *Laminaria saccharina*. А - контроль, Б - давление 3 атм. Светлыми стрелками показаны многоклеточные спорофиты, темными - стерильные гаметофиты.

Наиболее вероятно, что негативное проявление гидростатического давления связано с воздействием на развивающийся белоксинтезирующий аппарат клетки, что в дальнейшем приводит к нарушению функций остальных систем, как было показано на микроорганизмах (Albright, Morita, 1968; Pope, Berger, 1973; Spence, 1981). Давление может не только ингибировать синтез, но и изменять структуру уже имеющихся мембранных белков и липидов (Bartlett, 2002; Kaye, Vaross, 2004; Yano *et al.*, 1998), что нарушает проницаемость мембран и приводит к утечке ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  (Pettier-Cornet *et al.*, 1999). Воздействие может проявляться в деградации структурных элементов клетки: гидростатическое давление, так же, как и колхицин, вызывает разборку цитоплазматических микротрубочек, что у микроорганизмов приводило к изменению формы (Воробьев, Драчев, 1989; Brown, Bouck, 1973; Molina-Hoppner *et al.*, 2003; Salmon, 1975). Негативный эффект может вызываться увеличением парциального давления кислорода, при этом  $\beta$ -каротин, и, возможно, другие соединения, содержащие конъюгированные двойные связи,

теряют свойства антиоксиданта и показывают автокаталитический прооксидантный эффект (Burton, Ingold, 1984). Процессы фотосинтеза и дыхания (Yuasa *et al.*, 1995), а также активность ферментов (Kim, ZoBell, 1972) ингибируются только высокими уровнями давления.

Поскольку макрофиты являются фототрофными организмами, несомненно, что интенсивность освещения является основным фактором, определяющим вертикальную зональность их произрастания. Однако, как показало данное исследование, давление также может оказывать существенное влияние. Поэтому нижнюю границу зональности для конкретного вида необходимо рассматривать, исходя из толерантности ранних стадий жизненного цикла не только к освещению, но и уровню гидростатического давления. В мутных водах нижняя граница произрастания обусловлена недостатком освещения. В прозрачных водах гидростатическое давление может определять нижнюю границу произрастания макрофитов.

#### **Глава 5. Адаптация водорослей к световым условиям как основа их биогеографического распространения.**

Таксономический обзор бурых водорослей, проведенный Л.П. Перестенко (2000), показал, что видовое разнообразие резко снижается на широтах выше 70° с.ш. Результаты наших исследований позволяют утверждать, что данный эффект в большей степени связан с действием полярной ночи (длительное отсутствие освещения), нежели с понижением температуры, поскольку теплое Северо-Атлантическое течение доходит до берегов Шпицбергена, и температура вод возле его юго-западной части сравнима с температурой возле побережья Мурмана.

По всей вероятности, распространение видов происходило параллельно с развитием приспособлений к существованию в период полярной ночи. У однолетних водорослей таким приспособлением является синхронизация жизненного цикла с природными условиями, чтобы неблагоприятный период приходился на покоящуюся стадию. Для них возможность распространения зависела от продолжительности существования покоящейся стадии и скорости развития таллома до фертильного состояния в благоприятный период.

У многолетних видов механизмы переживания периода отсутствия освещения связаны со структурой таллома, а также типом и расположением зоны роста. Продолжительность существования видов с тонкопластинчатой организацией таллома

ограничивается количеством запасных веществ, потребление которых может быть экономным за счет снижения метаболизма. У бурых ламинариевых и фукусовых водорослей, кроме этого, имеются дополнительные механизмы, связанные с физиологической специализацией различных участков таллома и направленные на поддержание меристематической зоны в интактном состоянии. У ламинариевых это потребление веществ, образующихся в процессе автолиза таллома. У фукусовых водорослей, кроме этого, возможен переход на гетеротрофное питание. Различие механизмов обуславливает и разницу в сроках существования водорослей при отсутствии освещения.

Для всех видов водорослей важным приспособлением является синхронизация жизненного цикла с условиями окружающей среды, закрепленная на генетическом уровне, что подтверждается наличием эндогенных ритмов развития. Это позволяет наиболее оптимально распределить фазы жизненного цикла с учетом воздействия на них стимулирующих (оптимальной температуры, освещенности, биогенов) или подавляющих (низкая температура, УФ-излучение) факторов среды. Данный механизм регулируется фотопериодом и спектральным составом освещения. Таким образом, распространение водорослей происходило вследствие совершенствования механизмов, обеспечивающих их существование в высоких широтах Мирового океана, и сопровождалось эволюционными изменениями, приводившими к образованию новых видов. Так отличие в эволюционной направленности видообразования ламинариевых (неотения, педоморфоз) и фукусовых водорослей (усложнение организации) (Перестенко, 1998, 2000) определило различие в механизмах адаптации к условиям освещения.

Существенно, что большое количество водорослей различных систематических таксонов, обитающих в полярных регионах, имеют сходные физиологические адаптации к низкому уровню освещения и температуре, что также было отмечено различными авторами (обзор Gomez *et al.*, 2009). Таким образом, данное исследование подтверждает гипотезу о существовании некоего барьера из комплекса факторов среды, контролирующего биогеографическое распространение водорослей (Gomez *et al.*, 2009).

### Заключение.

Ведущим фактором внешней среды, оказывающим влияние на водоросли, как на представителей фотоавтотрофных организмов, является освещение. Как показало проведенное исследование, составляющие данного фактора - интенсивность, спектральный состав и фотопериод - оказывают значительное воздействие на все стадии жизненного цикла водорослей. Однако функциональная значимость этих составляющих различается. Так фотопериод и спектральный состав света выступают в основном в роли сигналов, синхронизирующих эндогенные ритмы функционирования организма (периоды интенсивного роста, размножения, накопления запасных веществ, снижения метаболической активности в зимний период и т.д.) с факторами внешней среды. Например, влияние спектрального состава ярко проявляется в индукции гаметогенеза при синем свете и остановке данного процесса при красном. Влияние фотопериода - в образовании новой пластины и спорогенной ткани у ламинариевых, или при сезонных перестройках фотосинтетического аппарата. Интенсивность освещения при этом выполняет корректирующую функцию для конкретных световых условий. Пределы возможных изменений ФСА заложены генетически, что и определяет диапазон освещения, пригодного для существования вида.

Акклимация к искусственному изменению интенсивности освещения, например при экспериментальных исследованиях, также проявляется в перестройке ФСА, но в меньших пределах, и сопровождается значительным повышением метаболической активности. Опыты с увеличением глубины произрастания водорослей показали, что снижение интенсивности освещения до определенного уровня (конкретное значение зависит от видовой принадлежности) вызывает накопление фотосинтетических пигментов. При дальнейшем снижении освещения наблюдается разрушение ФСА и деградация таллома. Однако в природных условиях в осенний период, при значительно более низкой интенсивности и дозе освещения, активность ФСА водорослей не снижается.

Анализ сезонных изменений показал, что у водорослей разных систематических групп, несмотря на различия в наборе фотосинтетических пигментов и строении ФСА, наблюдаются сходные перестройки. В зимний период у всех видов происходит увеличение размеров ССК, площади тилакоидных мембран и содержания фотосинтетических пигментов. Вместе с тем, имеются и отличия в сезонном содержании некоторых каротиноидных пигмен-

тов у водорослей, принадлежащие к различным отделам. Однако, по всей вероятности, данные отличия связаны не с работой фотосинтетического аппарата, а с функциональной направленностью организма в определенный период времени, например, с формированием органов размножения.

Произрастание водорослей в приполярных районах зависит не только от лабильности ФСА, но и от возможности адаптации физиологических процессов к низкой температуре окружающей среды. Анализ изменений, происходящих на различных уровнях организации у высших растений при адаптации к низкой температуре и у водорослей при низкой интенсивности освещения, показал, что имеется большое количество сходных изменений. На уровне организма наблюдается торможение метаболических процессов, а также синхронизация сезонного ритма развития организма с условиями окружающей среды. На клеточном уровне - изменение численности (или парциального объема в клетке) митохондрий и хлоропластов, тилакоидов в хлоропласте. На молекулярном уровне - изменение содержания фотосинтетических пигментов и доли хлорофиллов, относящихся к ССК. У высших растений, адаптированных к холоду, и у зеленых водорослей при низкой интенсивности освещения наблюдается снижение парциального объема крахмальных гранул. При гидролизе крахмала происходит накопление водорастворимых углеводов в цитоплазме (что способствует снижению температуры точки образования льда), а также их потребление для поддержания процессов клеточного метаболизма при недостатке ассимилятов, синтезирующихся в процессе фотосинтеза.

Описанные перестройки ФСА происходят вследствие снижения уровня светового насыщения фотосинтеза при низких температурах, что было отмечено на высших растениях и зеленых водорослях (Mawson, Cummins, 1991; Gray *et al.*, 1997; Huner *et al.*, 1998; Morgan *et al.*, 1998). Таким образом, результаты наших исследований и анализ литературных данных показали, что, несмотря на многообразие жизненных форм водорослей, на разницу в месте и времени происхождения, их эволюция и распространение в высокоширотные районы Мирового океана привели к конвергентному функционированию фотосинтетического аппарата водорослей различных систематических групп.

## ВЫВОДЫ

Результаты проведенных экспериментальных исследований и натуральных наблюдений позволили выявить механизмы, обеспечивающие существование водорослей-макрофитов в высоких широтах:

1. У водорослей-макрофитов Баренцева моря приспособление к изменению интенсивности освещения в течение года происходит путем структурных и функциональных перестроек фотосинтетического аппарата: изменение удельной поверхности фотосинтетических мембран, содержания и соотношения фотосинтетических пигментов, размеров ССК, содержания экранирующих пигментов.

2. Вариабельность размеров ССК в течение года зависит от систематической принадлежности (повышается в ряду бурые < красные < зеленые водоросли) и высоты произрастания водорослей (наибольшая у водорослей верхней литорали).

3. На Мурманском побережье в период полярной ночи интенсивность освещения является достаточной для осуществления у водорослей процессов фотосинтеза. В дневные часы фотосинтез превалирует над дыханием, хотя суточная продукция является отрицательной.

4. Возможность и продолжительность существования многолетних видов водорослей Баренцева моря при отсутствии освещения определяется наличием следующих типов питания:

- потребление внутриклеточных запасных веществ (виды с тонкопластинчатой организацией таллома);

- потребление веществ, образующихся при деструкции таллома (ламинариевые водоросли). Определяется наличием гетеротрофных слоев клеток и транспорта веществ по таллому;

- переход на гетеротрофный способ питания (фукусовые водоросли). Каждый последующий тип питания подразумевает наличие более простого и увеличивает продолжительность жизнеспособности водорослей при отсутствии освещения. Их фотосинтетический аппарат в этот период остается в интактном состоянии.

5. Механизмы, обеспечивающие существование водорослей в условиях отсутствия освещения, направлены на поддержание в интактном состоянии зоны роста и прилегающих тканей.

6. Изменение характера освещения при увеличении глубины произрастания вызывает накопление фотосинтетических пигментов в клетках водорослей. Увеличение размеров ССК наблюдается

только у видов, произрастающих на верхней литорали. Адаптационные перестройки эффективны до определенной глубины, являющейся нижним пределом произрастания вида, и сопровождаются повышением метаболической активности. При этом влияния изменения спектрального состава освещения на пигментный аппарат водорослей не выявлено.

7. Нижняя граница произрастания сублиторальных макрофитов зависит от чувствительности разных стадий жизненного цикла к уровням освещения и гидростатического давления. Вертикальное распространение ламинариевых водорослей в мутных водах может ограничиваться недостатком освещения, в прозрачных - уровнем гидростатического давления.

8. Жизненные циклы и эндогенные ритмы функциональной активности водорослей синхронизированы с условиями внешней среды, при этом регулируемыми сигналами являются фотопериод и спектральный состав света.

9. При изменении фотопериода функциональная перестройка фотосинтетического аппарата зависит от соотношения длительности и интенсивности освещения. Снижение длины светового дня в осенний период переключает направленность физиологических процессов с роста на накопление сухих (запасяющих) веществ.

10. Совершенствование механизмов адаптации водорослей к условиям освещения и низкой температуре определило возможность их распространения в полярные районы Мирового океана.

11. Эволюционное развитие и адаптация к условиям существования в высокоширотных районах привели к конвергентному сходству в функционировании фотосинтетического аппарата водорослей различных систематических групп.



**Основные положения диссертации опубликованы  
в следующих работах:**

*Kuznetsov L.L., Makarevich P.R., Makarov M.V.* Structural and productional indices of marine phytocenoses // Environment and ecosystems of the Franz Josef Land (Archipelago and shelf). Apatity. 1993. P. 98-104.

*Шошина Е.В., Макаров В.Н., Макаров М.В.* Особенности биологии ламинариевых водорослей Земли Франца-Иосифа. // Биология моря. 1997. Т. 23. №5. С. 286-292.

*Воскобойников Г.М., Макаров М.В.* Влияние физических и химических факторов на выход, подвижность и развитие спор. // Промысловые и перспективные для использования водоросли и беспозвоночные Баренцева и Белого морей. Апатиты: изд. КНЦ РАН. 1998. С. 68-81.

*Макаров М.В., Воскобойников Г.М.* Влияние ультрафиолетовой радиации на споры *Laminaria saccharina* (Phaeophyta). // Бот. журн. 1999. Т. 84, №10. С. 63-72.

*Makarov M.V.* Influence of ultraviolet-radiation on the growth of the dominant macroalgae of the Barents Sea. // Chemosphere: Global Change Science. Climate Change Effect on Northern Terrestrial and Freshwater Ecosystems. 1999. V. 1. No. 4. P. 461-469.

*Макаров М.В., Воскобойников Г.М., Шошина Е.В., Матишов Г.Г.* Влияние ультрафиолетовой радиации на рост и размножение ламинарии сахаристой (*Laminaria saccharina* (L.) Lamour.) Баренцева моря. // Доклады РАН. 1999. Т. 367. №2. С. 286-288.

*Makarov V.N., Makarov M.V., Schoschina E.V.* Seasonal dynamics of growth in the Barents sea seaweeds: endogenous and exogenous regulation. // Bot. Mar. 1999. V. 42. N. 1. P. 43-49.

*Makarov M.V., Voskoboynikov G.M.* The Influence of Ultraviolet-B Radiation on Spore Release and Growth of the Kelp *Laminaria saccharina*. // Bot. Mar. 2001. V. 44. P. 89-94.

*Voskoboynikov G., Makarov M., Maslova T., Sherstneva O.* The photosynthetic apparatus of *Ulvaria obscura* during the polar day and polar night. // Phycologia. 2001. V. 40. No. 4 (Suppl.). P. 83.

*Макаров М.В., Облучинская Е.Д., Воскобойников Г.М., Рыжик И.В.* Биологически активные вещества макрофитов Баренцева моря: содержание, механизмы накопления, технологии получения и перспективы использования. // Сб. Север-2003. Проблемы и решения. Апатиты. 2004. С. 218-229.

**Тропин И.В., Макаров М.В.** Фотосинтетический аппарат представителей *Fucales* (Phaeophyta) Баренцева моря после полярной ночи. // Альгология. 2004. Т. 4. № 4. С. 393-404.

**Воскобойников Г.М., Макаров М.В., Маслова Т.Г., Шерстнева О.А.** Ультраструктура и пигментный состав фотосинтетического аппарата зеленой водоросли *Ulvaria obscura* в полярный день и полярную ночь. // Доклады РАН. Общая биология. 2004. Т. 394. № 3. С. 423-426.

**Матишов Г.Г., Макаров М.В.** Изменения пигментного состава *Fucus vesiculosus* L. и *F. serratus* L. Баренцева моря при длительном нахождении в темноте. // Доклады РАН. Общая биология. 2004. Т. 397. № 5. С. 1-2.

**Воскобойников Г.М., Макаров М.В., Рыжик И.В.** Изменения в составе фотосинтетических пигментов и структуре клеток *Fucus vesiculosus* L. и *F. serratus* L. Баренцева моря при длительном нахождении в темноте. // Биология моря. 2006. Т. 32. № 1. С. 26-33.

**Макаров М.В., Рыжик И.В., Воскобойников Г.М., Матишов Г.Г.** Дифференциация пластины *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. как приспособление к длительному отсутствию освещения. // Доклады РАН. Общая биология. 2006. Т. 409. № 2. С. 1-2.

**Макаров М.В., Рыжик И.В., Воскобойников Г.М., Матишов Г.Г.** Влияние интенсивности движения воды на морфологические и физиологические показатели *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря. // Доклады РАН. Общая биология. 2007. Т. 415. № 4. С. 1-2.

**Воскобойников Г.М., Макаров М.В., Рыжик И.В., Малавенда С.В.** Влияние абиотических факторов на структуру фитоценозов, морфологические и физиологические особенности водорослей-макрофитов Баренцева моря. // Динамика морских экосистем и современные проблемы сохранения биологического потенциала морей России. Влад.: Дальнаука. 2007. С. 357-386.

**Рыжик И.В., Макаров М.В.** Активизация физиологических процессов у *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря при произрастании в поверхностном слое воды. // Материалы конференции РБО. Петрозаводск, сентябрь. 2008. С. 173-174.

**Макаров М.В., Рыжик И.В., Воскобойников Г.М.** Механизмы существования бурых водорослей в период полярной ночи: функциональная дифференциация и гетеротрофия. // Сб. Современные проблемы альгологии. Мат. междунар. научн. конф. Ростов-на-Дону, 9-12 июня. 2008. С. 225-227.

*Макаров М.В., Степаньян О.В.* Выбор потенциальных биоиндикаторов состояния морских экосистем. Водоросли. // Новые технологии мониторинга природных процессов в зоне взаимодействия пресных и морских вод (биологическая индикация). Апатиты. 2009. С. 60-69.

*Макаров М.В.* Влияние давления на ранние онтогенетические стадии ламинарии сахаристой (*Laminaria saccharina* (L.) Lamour.). // 8-я Всероссийская школа по морской биологии "Проблемы морской палеоэкологии и биогеографии в эпоху глобальных изменений" (Мурманск, ноябрь). М.: ГЕОС. 2009. С. 106-112.

*Макаров М. В., Рыжик И. В., Воскобойников Г. М., Матишов Г. Г.* Влияние глубины произрастания на морфо-физиологические показатели *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря. // Доклады РАН. Общая биология. 2010. Т. 430. № 3. С. 427-429.

Отпечатано в издательском центре ММБИ КНЦ РАН  
Заказ № 02-2010. Тираж 100 экз. Тел. 25-39-81