

УДК 582.26 : 581.4

И.В. СТОНИК, Н.А. АЙЗДАЙЧЕР

Ин-т биологии моря ДВО РАН.

Россия, 690041 Владивосток, ул. Пальцевого, 17

**К ИЗУЧЕНИЮ МОРФОЛОГИИ НОВЫХ ДЛЯ ДАЛЬНЕ-
ВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ РОССИИ ВИДОВ РОДА *PYRAMIMONAS*
SCHMARDA (*PRASINOPHYCEAE*)**

При изучении фитопланктона залива Петра Великого Японского моря обнаружены новые для дальневосточных морей России виды рода *Pyramimonas* Schmarida (*Prasinophyceae*) – *P. aff. cordata* McFadden, Hill et Wetherbee и *P. aurita* Daugbjerg et Moestrup. С помощью метода «теневой электронной микроскопии» изучены особенности морфологии их субмикроскопических поверхностных чешуек. Приведены морфологические описания видов по данным световой и электронной микроскопии, а также оригинальные микрофотографии.

Ключевые слова: *Pyramimonas*, дальневосточные моря России.

Введение

Род *Pyramimonas* Schmarida (*Prasinophyceae*) объединяет более 60 морских солоноватоводных и пресноводных видов, большинство из них широко распространены во всех биогеографических зонах (McFadden et al., 1986; Thomsen, 1988; Daugbjerg, Moestrup, 1993). Представители рода обитают преимущественно в неритической зоне морей, где некоторые из них достигают массового развития (Thronsen, 1993). Изучение около 20 видов рода *Pyramimonas* с помощью электронной микроскопии выявило наличие субмикроскопических чешуек, образующих несколько слоев на поверхности жгутиков и оболочки клетки (McFadden et al., 1986). Известны семь типов чешуек, особенности структуры которых рассматриваются как важные диагностические признаки при определении видов *Pyramimonas* (Norris, Pienaar, 1978; Pennick, 1978).

Празиофициевые водоросли, как и многие другие группы беспанцирных жгутиковых водорослей, в дальневосточных морях России изучены недостаточно, что объясняется методическими трудностями при их сборе и изучении (Коновалова, 2003). Полученные ранее данные о представителях рода *Pyramimonas*, найденных в этом регионе, ограничены морфологическими описаниями шести видов из прибрежных вод Японского моря, составленными по данным световой микроскопии (Гайл, 1950; Коновалова и др., 1989; Коновалова, 2003). Сведения о структуре чешуек представителей этого рода из дальневосточных морей России в литературе до сих пор отсутствуют.

Цель данной работы – дополнить имеющиеся в литературе сведения о морфологии двух видов – *Pyramimonas aff. cordata* McFadden, Hill et Wetherbee и *P. aurita* Daugbjerg et Moestrup, впервые найденных в дальневосточных морях России.

© И.В. Стоник, Н.А. Айздайчер, 2006

Материалы и методы

Вид *Pyramimonas* aff. *cordata* был изолирован в лабораторную культуру из батометрических проб фитопланктона, собранных летом 2000 г. в бухте Золотой Рог Японского моря на глубине 2-3 м. Для получения альгологически чистой культуры клетки отбирали под бинокулярным микроскопом МБС-10 капиллярной пипеткой и переносили в чашки Петри с питательной средой «f» (Guillard, Rutherford, 1962), которую готовили на основе фильтрованной морской воды соленостью 32-34‰. Морскую воду трехкратно пастеризовали путем нагревания на водяной бане до 70-75 °С в течение 20 мин. Для получения клоновой культуры отдельную клетку изолировали стерильной капиллярной пипеткой, три раза промывали в стерильной морской воде и переносили в чашки Петри с питательным раствором объемом 5-10 мл. Через 5 суток содержимое чашек переносили в колбы Эрленмейера емкостью 100 мл с объемом культуральной суспензии 70 мл. Культуру выращивали при температуре 20±2 °С. Освещение (70 мк моль/м²·с) осуществляли флуоресцентными лампами со световым периодом 12 ч свет:12 ч темнота. Колбы с культурами ежедневно встряхивали.

Материалом для исследования вида *P. aurita* послужили батометрические сборы зимне-весеннего фитопланктона из Амурского залива Японского моря.

Живые клетки, а также материал, фиксированный раствором Утермеля, изучали (фотографировали, зарисовывали и измеряли) с помощью светового микроскопа «Olympus BX41», объектив UPlanF1 40x/0,75 ∞ /0,17. Подготовку препаратов для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) проводили по методике «теневой микроскопии», предложенной О. Мойструмом и Х. Томсеном (Moestrup, Thomsen, 1980), предусматривающей контрастирование препаратов для изучения деталей тонкого строения клеток голых (беспалирных) жгутиковых водорослей. Материал напыляли хромом и изучали с помощью ТЭМ JEM-100 S.

Обнаруженные виды классифицировали по системе, принятой в работе: Chretiennot-Dinnet et al., 1993.

Результаты и обсуждение

При обработке проб фитопланктона из залива Петра Великого Японского моря были обнаружены два новых для дальневосточных морей России вида рода *Pyramimonas* – *P. aurita* и *P. aff. cordata*.

Класс *Prasinophyceae* Christensen *sensu* Moestrup et Thronsdon, 1988
 Порядок *Chlorodendrales* Fritsch emend. Moestrup et Thronsdon, 1988
 Семейство *Halosphaeraceae* Haeckel emend. Moestrup et Thronsdon, 1988
 Род *Pyramimonas* Schmarida

Pyramimonas aurita Daugbjerg et Moestrup, 1993, p. 10, figs 35-39 (рис. 1, а; рис. 2, 1-11).

Световая микроскопия. Клетки сбоку обратногрушевидной формы, слегка сжатые по бокам, 11-13 мкм дл., 8-11 мкм шир., имеют четыре лопасти. Жгутиков 4, они равны длине клетки или немного больше, выходят из центрального углубления на переднем конце. Пиреноид крупный, в крахмальной оболочке, расположен у основания клетки.

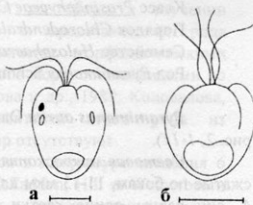
Электронная микроскопия. Наблюдали два типа крупных ящичковидных чешуек, покрывающих оболочку клеток: 1. Плоские квадратные чешуйки с длиной стороны 250-270 нм. Основание чешуйки в центре перфорировано 7-8 отверстиями, которые образуют средний круг. Вблизи каждого угла чешуйки 9-12 отверстий образуют полукруг, открытый в направлении центра основания чешуйки; 2. Плоские квадратные чешуйки (длина каждой стороны 240-260 нм). Четыре ребра выходят из середины каждой из сторон основания чешуйки и образуют центральный ромб с длиной сторон 80-90 нм. Чешуйки перфорированы мелкими отверстиями, порядок расположения которых трудно определить.

Расположение ящичковидных чешуек двух типов относительно друг друга, а также лимулоидные чешуйки наблюдать не удалось.

Примечание. *Pyramimonas aurita* был описан только на основании данных электронной микроскопии. Наши наблюдения показали, что структура ящичковидных чешуек клеток из Японского моря соответствует оригинальному описанию. Вместе с тем, выявлены небольшие отличия в размерах чешуек. Так, у экземпляров, изученных нами, размеры ящичковидных чешуек, как первого, так и второго типа, оказались меньше приведенных в описании вида (290 и 275 нм соответственно). *P. aurita* сходен с *P. nansenii* Thomsen по форме и размерам клетки (Thomsen, 1988). Кроме того, эти два вида объединяет наличие двух типов ящичковидных чешуек при отсутствии короновидных чешуек (Thomsen, 1988; Daugbjerg, Moestrup, 1993). Ящичковидные чешуйки второго типа разделены на четыре перфорированных сектора у обоих видов. Однако структура этих чешуек у *P. aurita* отличается от таковой *P. nansenii* наличием 4 ребер, образующих центральный ромб. Четыре сектора ящичковидных чешуек *P. nansenii* формируются за счет крестообразного утолщения базальной пластинки.

Местонахождение. Вид был описан из прибрежных вод арктической Канады (Daugbjerg, Moestrup, 1993). Нами этот холодноводный вид был найден в Амурском заливе Японского моря в январе-марте 2003 г. при отрицательных значениях температуры воды (-1,8 ÷ -0,5 °С) и солёности 26,8-36,5‰. Плотность клеток варьировала от 72 тыс. до 8,8 млн кл/л.

Рис. 1. Схема строения клеток: а – клетка *Pyramimonas aurita* Daugbjerg et Moestrup с центральным ядром, стигмой, чашевидным хлоропластом с глубоко вырезанными лопастями и пиреноидом у основания; б – клетка *Pyramimonas* aff. *cordata* McFadden, Hill et Wetherbee с четырьмя жгутиками, четырехлопастным хлоропластом и крупным базальным пиреноидом. Масштаб 5 мкм



Pyramimonas aff. *cordata* McFadden, Hill et Wetherbee, 1986, p. 211, fig. 1, D, fig. 2, A-1; *Plankton i de indre danske farvande*, 1992, p. 292, figs 8, 10g, 8, 11c (рис. 1, 6; рис. 3, 12-19).

Световая микроскопия. Клетки сбоку сердцевидной формы или почти круглые, сверху округло-квадратные, 7-9 мкм дл., 6-8 мкм шир., имеют четыре хорошо развитые лопасти. Жгутиков 4, они равны длине клетки или немного больше, выходят из центрального углубления на переднем конце клетки. Хлоропласт с 4 лопастями, пиреноид расположен ближе к основанию клетки и окружен крахмальными зернами.

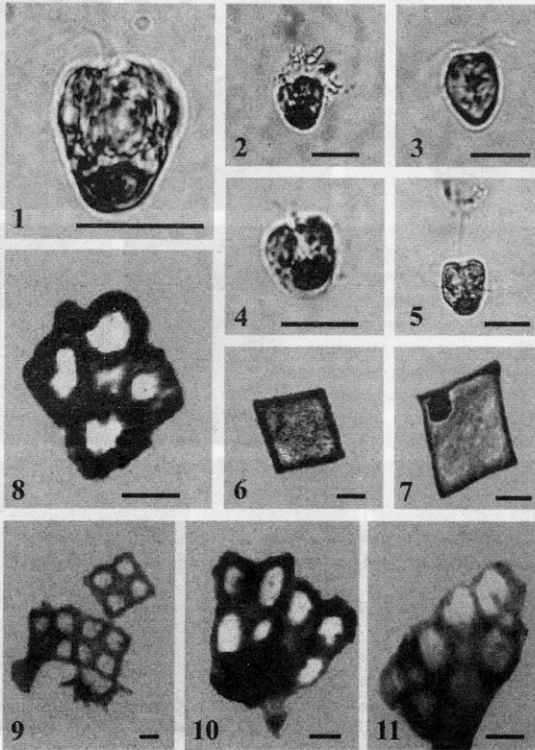


Рис. 2. *Pyramimonas aurita* Daugbjerg et Moestrup: 1-5 – общий вид клеток; 6-7 – плоские ящичковидные чешуйки первого типа с отверстиями в углах, образующими полукруг, открытый в направлении центра основания чешуйки (базальной пластинки); 8-11 – ящичковидные чешуйки второго типа со структурой из четырех ребер и центрального ромба. 1-5 – СМ; 6-11 – ТЭМ. Масштаб 1-5 – 10 мкм, 6-11 – 100 нм.

Электронная микроскопия. Наблюдали пять типов чешуек: 1. Подстилающий слой из мелких чешуек полигональной формы, покрывающий плазмалемму клетки и поверхность жгутиков; 2. Слой ящичковидных чешуек с квадратным основанием, находящийся выше подстилающего слоя; 3. Слой короновидных чешуек, покрывающий ящичковидные чешуйки; 4. Слой лимулоидных чешуек, покрывающий подстилающий слой чешуек на жгутиках; 5. Волосовидные чешуйки, покрывающие лимулоидные на жгутиках.

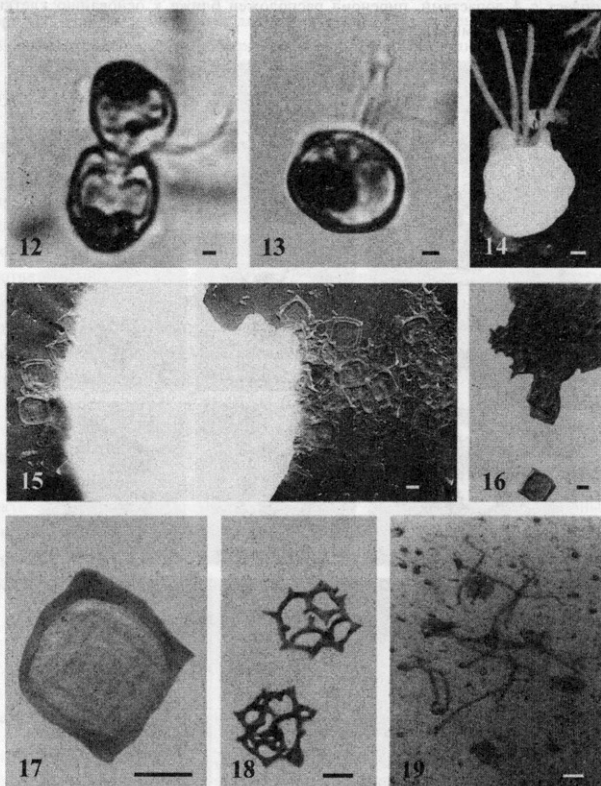


Рис. 3. *Pyramimonas* aff. *cordata cordata* McFadden, Hill et Wetherbee: 12-14 – общий вид клеток; 15 – фрагмент препарата, подготовленного методом «теневого электронного микроскопии» и показывающего слой ящичковидных чешуек; 16 – слой ящичковидных чешуек и покрывающие их короновидные чешуйки; 17 – структура ящичковидной чешуйки с перфорированным основанием; 18 – две короновидные чешуйки; 19 – лимулоидные и волосовидные чешуйки. 12-13 – СМ, 14-19 – ТЭМ. Масштаб 12-14 – 1 мкм, 15-19 – 100 нм.

Ящичковидные чешуйки характеризуются уникальной структурой. Они блюдцевидной формы с квадратным основанием (базальной пластинкой) с длиной стороны 260-270 нм, приподнятым и закругленным на краях ободком. Структура основания чешуек состоит из утолщений, образующих несколько квадратов, находящихся один внутри другого. Края квадратов параллельны краям основания чешуйки. От полукруглого основания короновидных чешуек диаметром 260-270 нм отходят 4-5 не соединяющихся между собой на апексе подпорок. Лимулоидные чешуйки 170-215 нм выс. и 120-170 нм шир. с крупным приподнятым шипом посередине. Волосовидные чешуйки длинные, часто изогнутые на концах, 475-800 нм выс. и 16-25 нм шир.

Примечание. Согласно оригинальному описанию вида *P. aff. cordata* (McFadden et al., 1986), его ящичковидные чешуйки характеризуются уникальной архитектурой базальной пластинки с приподнятой квадратной структурой и перфорациями основания чешуйки. Структура ящичковидных чешуек у найденных нами экземпляров вида *P. aff. cordata* отличается от таковой *P. cordata* отсутствием перфораций основания чешуйки, а также отсутствием апикального соединения подпорок у короновидных чешуек.

Ранее с помощью методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии был изучен стеринный состав *P. aff. cordata*, изолированного нами в лабораторную культуру. Установлено, что *Pyramimonas aff. cordata* содержит в качестве основного стерина пориферастерол, а не изофукостерол, как отмечалось ранее для близкородственного вида *P. cordata* (Ponomarenko et al., 2004). Эти данные, а также уникальная структура внутренней поверхности ящичковидных чешуек *P. aff. cordata* из нескольких квадратов, не отмеченная ни у одного из видов рода *Pyramimonas*, позволяют предположить, что *Pyramimonas aff. cordata* – самостоятельный, новый для науки вид. Вероятно, этот таксономический вопрос может быть решен в будущем с применением современных методов молекулярно-генетического анализа.

Местонахождение. Вид *P. cordata* был описан на основании материалов лабораторной культуры, изолированной из прибрежных вод Австралии в районе Восточно-Австралийского течения. Он был обнаружен также у берегов Дании и Южной Африки (McFadden et al., 1986). Нами вид был найден в июне 2000 г. в бухте Золотой Рог Японского моря вблизи г. Владивостока (температура поверхностных слоев воды составляла 11-14 °С, соленость 30,9 ‰).

Выводы

В заливе Петра Великого Японского моря обнаружены два новых для дальневосточных морей России вида рода *Pyramimonas* – *P. aff. cordata* и *P. aurita*.

Ящичковидные чешуйки у найденных нами экземпляров *P. aff. cordata* отличаются от таковых *P. cordata* уникальной структурой базальной пластинки из ее утолщений, образующих несколько квадратов, расположенных один внутри другого, а также отсутствием перфораций основания чешуйки и апикального соединения подпорок у короновидных чешуек.

Показано, что морфология *P. aurita* из Японского моря соответствует описанию, приведенному в литературе. Вместе с тем, размеры ящичковидных

чешуек у найденных нами экземпляров оказались меньше указанных в оригинальном описании.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-1420.2003.04) и ДВО РАН 06-III-B-06-213. Авторы глубоко признательны проф. О. Мойструпу (Ø. Moestrup) (Копенгагенский ун-т, Дания) и к.б.н. Т.Ю. Орловой (ИБМ ДВО РАН) за консультации по определению вида *Pyramimonas* aff. *cordata*, а также Л. Хаукрог (L. Naukrogh) (Копенгагенский ун-т, Дания) за помощь в подготовке препаратов для изучения в ТЭМ. Авторы сердечно благодарны д.б.н. Г.В. Коноваловой (ИБМ ДВО РАН) за критические замечания по рукописи, а также А.А. Бегуну за предоставленный материал.

I.V. Stonik, N.A. Aizdaicher

Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
17, Palchevskogo St., 690041 Vladivostok, Russia

STUDIES ON MORPHOLOGY OF SPECIES FROM THE GENUS *PYRAMIMONAS* SCHMARDA (*PRASINOPHYCEAE*) NEW FOR THE FAR EASTERN SEAS OF RUSSIA

When studying phytoplankton of Peter the Great Bay (East Sea / Sea of Japan), two species from the genus *Pyramimonas* Schmarida (*Prasinophyceae*) – *P. aff. cordata* McFadden, Hill et Wetherbee and *P. aurita* Daugbjerg et Moestrup, new for the Far Eastern seas of Russia, were revealed. Peculiarities in morphology of their submicroscopic superficial squamules were examined by the method of "shadow-cast electron microscopy". Morphological descriptions of the mentioned species obtained by the data of light and electron microscopy and also original microphotographs are presented.

Keywords: *Pyramimonas*, Far Eastern seas of Russia.

Гайя Г.И. Определитель фитопланктона Японского моря // Изв. ТИНРО. – 1950. – 33. – С. 3-177.

Коновалова Г.В., Орлова Т.Ю., Паутова Л.А. Атлас фитопланктона Японского моря. – Л.: Наука, 1989. – 167 с.

Коновалова Г.В. Состояние изученности жгутиковых водорослей российских вод дальневосточных морей // Альгология. – 2003. – 13, № 3. – С. 331-342.

Chretiennot-Dinet M.J., Sourina A., Ricard M., Billard C. A classification of the marine phytoplankton of the world from class to genus // Phycologia. – 1993. – 32, N 3. – P. 159-179.

Daugbjerg N., Moestrup Ø. Four new species of *Pyramimonas* (*Prasinophyceae*) from arctic Canada including a light and electron microscopic description of *Pyramimonas quadrifolia* sp. nov. // Eur. J. Phycol. – 1993. – 28. – P. 3-16.

Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran // Can. J. Microbiol. – 1962. – 8, N 2. – P. 229-239.

McFadden G.I., Hill D.R.A., Wetherbee R. A study of genus *Pyramimonas* (*Prasinophyceae*) from south-eastern Australia // Nord. J. Bot. – 1986. – 6, N 2. – P. 209-234.

Moestrup Ø., Thomsen H.A. Preparation of shadow-cast whole mounts // Handbook of Phycological Methods. Developmental and Cytological Methods. – Cambridge: Cambridge Univer. Press, 1980. – P. 385-390.

- Moestrup Ø., Thronsdon J. Light and electron microscopical studies on *Pseudoscurfieldia marina*, a primitive scaly green flagellate (Prasinophyceae) with posterior flagella // Can. J. Bot. – 1988. – 66. – P. 1415-1434.
- Norris R.E., Pienaar R.N. Comparative fine-structural studies on five marine species of *Pyramimonas* (Chlorophyta, Prasinophyceae) // Phycologia. – 1978. – 17, N 1. – P. 41-52.
- Pennick, N.C. Studies of external morphology of *Pyramimonas*. 5. *P. amyliifera* Conrad // Arch. Protistenk. – 1978. – 120. – P. 142-247.
- Plankton i de indre danske farvande / Ed. H.A. Thomsen. – Miljøministeriet Miljøstyrelsen, 1992. – 331 p.
- Ponomarenko L.P., Stonik I.V., Aizdaicher N.A., Orlova T.Yu., Popovskaya G.I., Pomazkina G.V. Sterols of marine microalgae *Pyramimonas* cf. *cordata* (Prasinophyta), *Attheya assurensis* sp. nov. (Bacillariophyta) and the Baikalian spring diatom bloom // Comparative Biochem. and Physiol., Part B. – 2004. – 138. – P. 65-70.
- Thomsen H.A. Fine structure of *Pyramimonas nansenii* (Prasinophyceae) from Danish coastal waters // Nord. J. Bot. – 1988. – 8. – P. 305-318.
- Thronsdon J. The planktonic marine flagellates. // Marine phytoplankton, a guide to naked flagellates and coccolithophorids. – San Diego, etc.: Acad. Press. 1993. – P. 7-145.

Получена 24.01.05

Подписала в печать Н.П. Масюк