

УДК 582.261.1:678.7

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ КОЛОНИАЛЬНЫХ ПОСЕЛЕНИЙ МОРСКИХ БЕНТОСНЫХ ДИАТОМЕЙ НА ПОВЕРХНОСТИ СИНТЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМЕРА

© 2020 г. **Ф. В. Сапожников¹, А. И. Салимон², А. М. Корсунский^{2,3}, О. Ю. Калинина^{1,4},
Ф. С. Сенатов⁵, Е. С. Статник², Ю. Цветинович²**

¹Институт океанологии имени П. П. Ширшова РАН, Москва, Российская Федерация

²Сколковский институт науки и технологии, Москва, Российская Федерация

³Оксфордский университет, Оксфорд, Соединённое Королевство

⁴Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

⁵Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»,
Москва, Российская Федерация

E-mail: fil_aralsky@mail.ru

Поступила в редакцию 10.10.2019; после доработки 28.04.2020;
принята к публикации 26.06.2020; опубликована онлайн 30.06.2020.

Тема взаимодействий пластика и природных сообществ к настоящему времени актуальна как никогда прежде. Постепенное накопление изделий из искусственных полимеров и их фрагментов в природной среде достигло того уровня, при котором уже невозможно не считаться с влиянием этих материалов на живые организмы. В первую очередь воздействию подвергаются сообщества микроорганизмов, населяющих разные биотопы (как водные, так и наземные). Эти существа находятся на переднем крае взаимодействия с пластиком, в том числе в морских экосистемах. Тем не менее для понимания данных процессов необходимо принимать во внимание несколько аспектов таких взаимодействий: влияние разных видов пластика на сообщества микроорганизмов через выделение в среду продуктов их разложения, формы использования пластика самими микроорганизмами, в том числе механизмы колонизации его поверхности, а также возможные процессы биодеструкции полимеров за счёт деятельности микроорганизмов. При этом разные виды пластика могут отличаться не только механической прочностью, но и устойчивостью к биодеструкции, вызываемой микроорганизмами. Эксперименты с колонизацией поверхности видов пластика, разных по составу и механической прочности, позволяют получить широкий спектр результатов, актуальных не только для понимания современных природных процессов с участием пластика: эти результаты важны и для применения в некоторых областях развития технологий (например, при создании композитных материалов). В частности, представляют большой интерес исследования форм и механизмов устойчивой колонизации особо прочных полимеров видами диатомовых водорослей из состава природных сообществ. За счёт обрастания поверхности особо прочных синтетических полимеров диатомеями возможно формирование единого диатомово-полимерного композита, общие свойства которого уже существенно отличаются от свойств полимера как такового. Например, при обрастании полимера диатомеями, плотно удерживающимися на его поверхности за счёт физиологических механизмов, обеспечивающих им надёжную фиксацию, суммарная площадь поверхности композита возрастает на 2–3 порядка по сравнению с таковой голого полимера. Такие композиты и их свойства формируются за счёт механизмов колонизации субстратов, используемых диатомеями из естественных морских ценозов, — при перенесении этих механизмов на новый, перспективный для заселения диатомеями материал. Возможности практического применения этих композитов лежат в сфере тепло- и звукоизоляции, а также

в области создания протезирующей ткани при операциях на костях. В наших экспериментах отслежены последовательности развития устойчивого композита при колонизации диатомеями поверхности образцов особо прочного синтетического полимера, стойкого к коррозии. Процесс заселения образцов происходил на базе сообществ, сформированных в накопительных культурах из природной морской среды. Образцы сверхвысокомолекулярного полиэтилена низкого давления (СВМПЭ) с гладкой и пористой структурой поверхности (с открытой ячейкой, до 80 объёмных % пористости) были подвергнуты колонизации диатомовыми водорослями *Karayevia amoena* (Hust.) Bukht., 2006, *Halamphora coffeaeformis* (C. Agardh) Levkov, 2009 и *Halamphora cymbifera* (W. Greg.) Levkov, 2009. Лабораторные эксперименты продолжались три недели. Накопительные культуры микрофитов, на базе которых проводили эксперименты, были получены из Балтийского моря (район г. Балтийска, Россия) и Аравийского моря (район г. Мумбаи, Индия). Типы и стадии развития колониальных поселений на различных элементах микрорельефа фронтальной поверхности и в подлежащих полостях изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа на образцах, подвергнутых постадийной термической сушке. Отдельные клетки *K. amoena*, *H. coffeaeformis* и *H. cymbifera*, их цепочковидные агрегаты и распостёртые колониальные поселения занимают различные по степени неоднородности элементы поверхности микрорельефа, образуя структуры мощностью в 1–2 слоя со средней высотой поселения 1–1,3 высоты единичной особи. Клетки *K. amoena* плотно фиксируются на полимерном субстрате, используя поровый аппарат нижней створки панциря. При этом наблюдения с помощью сканирующего электронного микроскопа выявили отпечатки панцирей на субстрате, являющиеся признаками внедрения полимерной подложки в ареолы гипотеки. Рассмотрены механизмы распространения диатомей трёх указанных видов по различным элементам поверхности СВМПЭ, а также формирования характерных элементов колониальных поселений, в том числе для *K. amoena* — последовательно в форме «горшков» и сфер, посредством взаимодействия с поверхностью полимера и её растяжения по мере нарастания количества плотно прикреплённых клеток в колониальном поселении.

Ключевые слова: диатомеи, диатомовые водоросли, Bacillariophyta, колонизация пластика, СВМПЭ, устойчивые материалы, пластик в морской среде, аквакультура

Диатомеи многие десятилетия привлекают внимание широкого круга учёных из-за своей роли в экологии биосферы в целом — как производители примерно ¼ земного органического вещества и почти ½ всего генерируемого на планете кислорода. Сравнительно недавно в сфере материаловедения началось изучение иерархической многоуровневой организации, наблюдаемой в устройстве панцирей диатомовых водорослей, и, как следствие, их биомеханических характеристик. Подробно рассмотрены многие аспекты взаимодействия клеток с различными субстратами [6 ; 7 ; 14 ; 15 ; 16 ; 17 ; 24], однако адекватного ответа на ряд вопросов до сих пор нет. Более глубокое понимание упомянутых аспектов ожидают получить благодаря использованию современных методов FIB-SEM (focused ion beam scanning electron microscopy, сканирующая электронная микроскопия с фокусированным ионным пучком) [6 ; 20 ; 25]. Применение технологий аквакультуры может расширить использование диатомей в качестве устойчивого ресурса для биотоплива, биоминерализации и производства материалов. Как важную экологическую проблему рассматривают сейчас и потенциальную биодеградацию загрязняющих гидросферу полимеров с помощью обрастания их диатомеями [2 ; 6 ; 22 ; 23 ; 26].

Сверхвысокомолекулярный полиэтилен низкого давления (далее — СВМПЭ), коммерциализированный компанией Celanese [9], представляет собой полимер с высокими механическими характеристиками, используемый в морской практике для изготовления канатов и парусов с 1990-х гг. В силу биоинертности, а также приемлемых механических свойств и износостойкости растёт сфера применения СВМПЭ в хирургии — при создании имплантов костей и суставов, а в последнее время и в процессах реконструкции на клеточном уровне, в качестве скаффолдов для тканевой инженерии [13]. Будучи колонизированными мезенхимальными стромальными клетками, скаффолды из СВМПЭ с открытой пористостью демонстрируют высокую способность к остеоинтеграции и васкуляризации [21].

Основная идея данного исследования состоит в следующем: если отдельные виды диатомей из природных морских сообществ способны колонизировать поверхность различных видов пластика [4 ; 5 ; 6], в том числе СВМПЭ, то в ряде случаев этот процесс можно квалифицировать

как способ создания нового класса биокоррозионно- и деформационно-устойчивых материалов — диатомово-полимерных гибридов. Теоретически можно рассмотреть ряд процессов, сопровождающих колонизацию синтетического полимера:

- А. «Поверхностная однослойная колонизация» пройдёт без существенной пролиферации диатомей в глубину субстрата за счёт отсутствия его пористости. В случае если колонизированная поверхность будет разрушаться в результате биодеградации, с течением времени этот процесс завершится дезинтеграцией полимерных изделий на фрагменты различного размера, что может быть использовано как технология борьбы с загрязнением среды макроскопическим пластиком.
- Б. В противоположность «поверхностной однослойной колонизации», на поверхности биостойких полимеров возможно развитие довольно толстого, плотного и механически прочного многослойного покрытия с барьерными или другими свойствами, ценными для практического применения.
- В. «Колонизация объёма» из-за интенсивной пролиферации в глубину пористого (ячеистого) полимера создаст, как ожидается, устойчивый объёмный диатомово-полимерный композит с широким спектром технических характеристик, имеющих большое значение для решения конструкционных, трибологических, фильтрационных и тепловых задач, а также для использования в сфере вибро- и звукоизоляции. Расширение спектра возможных применений обусловлено существенным ростом суммарной поверхности композита — на 2–3 порядка по сравнению с неколонизированной поверхностью полимера.

Поскольку СВМПЭ обладает значительной химической и биологической устойчивостью, он является важным кандидатным материалом для изучения процесса колонизации его поверхности и объёма. В этом исследовании мы обсудим первые результаты по структурным аспектам взаимодействия морских диатомовых водорослей из природных сообществ микрофитобентоса с поверхностью пористого СВМПЭ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения процесса колонизации поверхности использовали образцы СВМПЭ двух типов — гладкие и пористые. Образцы обоих типов экспонировали в накопительных культурах диатомей, выделенных с песчаной литорали: I — в р-не г. Мумбаи (Аравийское море); II — в р-не г. Балтийска (Калининградский залив, Балтийское море). В обеих накопительных культурах диатомеи росли при естественном рассеянном свете, в условиях чередования дня и ночи (на подоконнике в лаборатории Института океанологии РАН), в диапазоне температур +5...+30 °С (от наиболее холодных зимних месяцев к наиболее тёплым летним), покрывая стенки 1-литровых лабораторных сосудов из полиэтилентерефталата (далее — ПЭТФ) и полиэтилена низкого давления (далее — ПНД). Рост культур происходил без дополнительной аэрации, в том же объёме воды, в котором они были доставлены из природных биотопов. Солёность морской воды в первом сосуде составляла 30 ‰, во втором — 5 ‰. Возраст культуры I к моменту начала экспериментов по колонизации составил 21 месяц, культуры II — 20 месяцев. В культуре I доминировали представители рода *Halamphora* (Cleve) Levkov — *Halamphora coffeaeformis* (C. Agardh) Levkov, 2009 (рис. 1с–е) и *Halamphora cymbifera* (W. Greg.) Levkov, 2009 (рис. 1f); в культуре II — *Karayevia amoena* (Hust.) Bukht., 2006 (рис. 1a, b).

Выбор условий культивирования — достаточно жёстких для морских бентических диатомей, взятых из природной среды, — был продиктован необходимостью получения смешанных накопительных культур из нескольких видов, максимально приспособленных к совместному развитию на протяжении длительного времени при отсутствии дополнительной аэрации и подкормки биогенами извне и при существенных изменениях условий освещения и температуры среды. Факт колонизации поверхности стенок сосудов разными видами диатомей заслужил особого внимания и стал основой для экспериментов с колонизацией СВМПЭ.

Образцы гладкого СВМПЭ получены путём термической нарезки плотного (не пористого) цилиндра диаметром 26 мм на «таблетки» высотой 2–3 мм с выглаженными за счёт оплавления поверхностями.

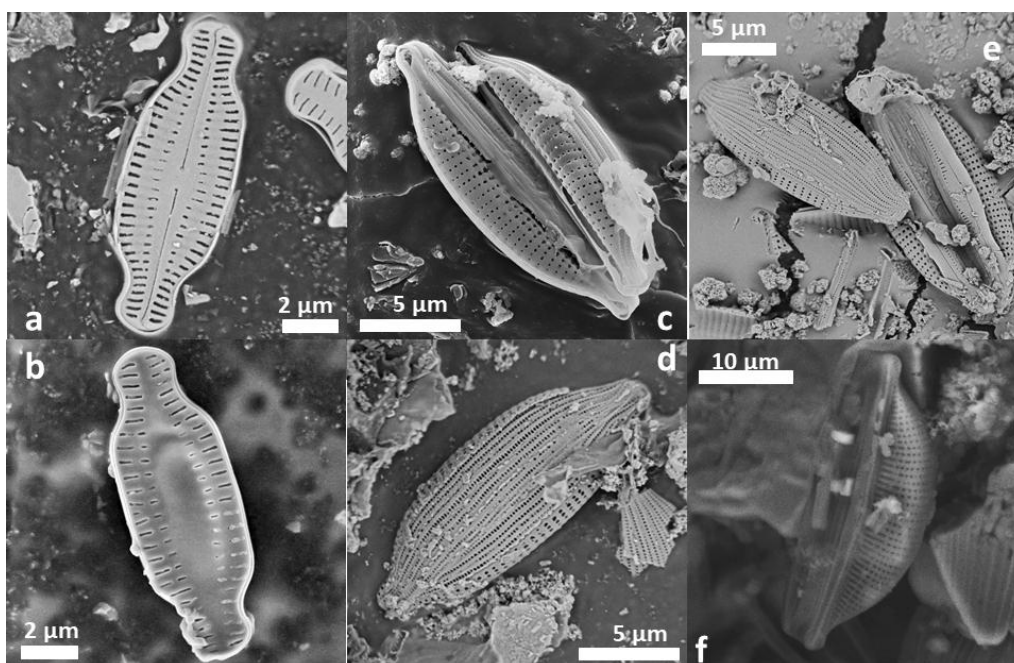


Рис. 1. Наиболее массовые виды диатомей, сформировавших обрастания на поверхности образцов пористого СВМПЭ: а, b — *Karayevia amoena* (в накопительной культуре II); с–е — *Halamphora coffeaeformis*; f — *Halamphora cymbifera* (в накопительной культуре I)

Fig. 1. The most common diatom species that formed fouling on the surface of porous UHMWPE samples: a, b – *Karayevia amoena* (in storage culture II); c–e – *Halamphora coffeaeformis*; f – *Halamphora cymbifera* (in storage culture I)

Образцы пористого СВМПЭ изготовлены в соответствии с методом, представленным в [12]. Смешивали порошок СВМПЭ (4120 GUR Ticona®) и пищевую каменную соль (NaCl) с размером частиц порошка 80–700 мкм. Сухую смесь с весовым соотношением компонентов 1 : 9 осторожно перемешивали с использованием планетарной шаровой мельницы Fritsch Pulverisette 5 (Fritsch GmbH, Германия) в агатовых барабанах (объём — 500 мл), заполненных шариками корунда с диаметром 8 мм. Термическую прессовку осуществляли под нагрузкой 70 МПа при +180 °С. Далее удаление соли проводили с использованием дистиллированной воды при +60 °С с помощью ультразвуковой мойки. Данный процесс привёл к образованию пористых структур с открытыми порами, с объёмной пористостью около 80 %.

Для получения экспериментального оброста поверхности гладкого и пористого СВМПЭ (с разным микрорельефом поверхности) различные его образцы — по три повторности для каждого — были экспонированы в накопительных культурах на период 21 сутки при постоянном рассеянном освещении светодиодной лампой LED1106 G2 2.3 W, 18 mA, 35 lm/W. Размеры прямоугольных образцов пористого СВМПЭ составляли 40×19×3 мм, диаметр гладких образцов — 25 мм. По два лабораторных сосуда из бесцветного ПЭТФ и ПНД ёмкостью 1 л с накопительными культурами располагались на расстоянии 45 см от источника света. Интенсивность освещения составляла 135 лк.

Трёхнедельная продолжительность эксперимента объясняется тем, что к концу этого периода на поверхности образцов пористого СВМПЭ сформировались обширные россыпи бурых пятен обрастания, хорошо различимые невооружённым глазом. Это позволило перейти к стадии микроскопирования материала.

В сосудах 1 и 2 на стенках (ПЭТФ) росли колониальные поселения диатомей из накопительной культуры II; в сосудах 3 и 4 на стенках (ПНД) — колониальные поселения диатомей из накопительной культуры I. В сосуде 1 экспонированы: пористый СВМПЭ, образцы № 8 и 9 — по три повторности, в два ряда, по три в ряд. В сосуде 2 экспонированы: пористый СВМПЭ, образец № 10 — три повторности, верхним рядом, и «таблетки» гладкого СВМПЭ — три повторности, нижним рядом.

В сосуде 3 экспонированы, по аналогии с сосудом 1, образцы пористого СВМПЭ № 1 и 2. В сосуде 4 экспонированы, по аналогии с сосудом 2: образец пористого СВМПЭ № 3 в трёх повторностях и три «таблетки» гладкого СВМПЭ. Общая схема эксперимента приведена на рис. 2.

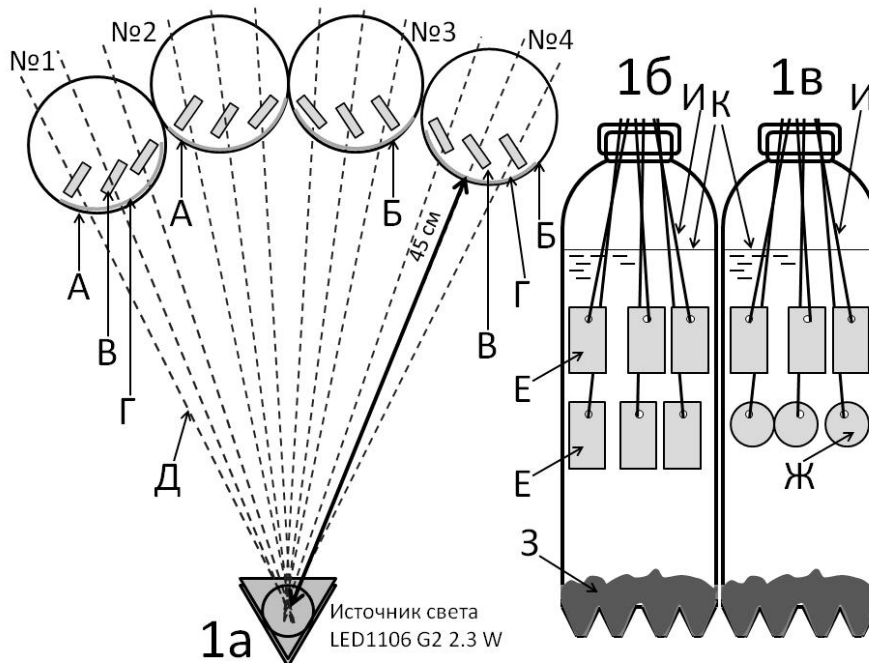


Рис. 2. Общая схема эксперимента с обрастанием поверхности образцов пористого и гладкого СВМПЭ морскими видами диатомей из состава различных накопительных поликультур. **1а** — схема эксперимента, вид сверху: А — мини-аквариумы (1-литровые бутылки) из ПЭТФ; Б — мини-аквариумы (1-литровые бутылки) из ПНД; В — образцы, расположенные под углом к источнику освещения; Г — слой колониальных поселений диатомей на стенке бутылки; Д — вектор направления светового потока от источника. **1б** — схема расположения образцов в бутылках № 1 и 3: Е — образцы пористого СВМПЭ; 3 — грунт со дна моря; И — медная проволока, фиксирующая образец СВМПЭ в воде, у стенки бутылки; К — уровень морской воды. **1в** — схема расположения образцов в бутылках № 2 и 4: Ж — образцы гладкого СВМПЭ

Fig. 2. General scheme of the experiment with colonization of the surface of porous and smooth UHMWPE samples by marine diatoms from various storage polycultures. **1а** — scheme of the experiment, top view: А — PET-mini-aquariums (1-L bottles); Б — HDPE-mini-aquariums (1-L bottles); В — samples located at an angle to light source; Г — layer of diatom colonial settlements on the bottle wall; Д — vector of the direction of the light flux from the source. **1б** — layout of samples in bottles No. 1 and 3: Е — porous UHMWPE samples; 3 — sea soil; И — copper wire fixing UHMWPE sample in water, near the bottle wall; К — seawater level. **1в** — layout of samples in bottles No. 2 and 4: Ж — smooth UHMWPE samples

В ходе эксперимента образцы СВМПЭ были подвешены в толще воды, на продетных петлях из медной проволоки (Glohex, 20 м × 0,4 мм, с антикоррозионным покрытием) на расстоянии 5–10 мм от стенок аквариумов, покрытых диатомовыми обрастаниями, под углом 30–40° к источнику света. Оброст видов рода *Halamphora* получен на образцах № 1, 2 и 3 (по три повторности для каждого), вида *Karayevia amoena* — на образцах № 8, 9 и 10 (также в трёх повторностях). В ходе экспериментов не производили контрольных извлечений образцов на протяжении 21 суток экспозиции, поэтому не представляется возможным определить время и место появления первых клеток диатомей на конкретных образцах.

При подготовке образцов для микрофотосъёмки с помощью сканирующего электронного микроскопа применяли новую авторскую методику трёхстадийной сушки: экспозиция в сушильном шкафу при +50 °С — 8 ч; при +80 °С — 3 ч; при +100 °С — 1 ч. Предложенная методика, нигде не опубликованная прежде, была основана:

1) на результатах экспериментов Ф. В. Сапожникова по сушке диатомового перифитона на нитчатых водорослях в сушильном шкафу, проведённых в 1996 г. на Беломорской биологической станции МГУ, целью которых было создание постоянных препаратов из высушенных панцирей диатомей на поверхности нитчаток без потери пространственной организации перифитона;

2) на данных об изменении свойств СВМПЭ при нагреве, позволяющих оценить степень плотности ассоциации панцирей с поверхностью образца.

Температура +80 °С — тот предел, за которым СВМПЭ начинает размягчаться, приобретая свойства густой смолы. Однако мелкие диатомеи, такие как *K. amoena* (длиной до 15 мкм), при этом не могут погружаться в толщу данного полимера за счёт собственного веса, поскольку их масса слишком мала, удельная поверхность широких оваловидов вращения, каковыми геометрически являются их панцири, довольно велика, а мягкость самого субстрата для этого недостаточна. Доказательством служит и тот факт, что более крупноклеточные виды диатомовых, использованные в экспериментах (*Halamphora coffeaeformis* и *H. cymbifera*, имеющие длину менее 30 и 50 мкм соответственно и геометрическую форму широкого овалоида вращения) не погружались в толщу полимера при нагреве свыше +80 °С. Добавим, что при +90 °С на образцах СВМПЭ начинает сказываться эффект памяти формы (расхожее материаловедческое обозначение этого процесса — «цилиндр сужается и вытягивается»), за счёт чего мелкие предметы, погружившиеся в него под собственной тяжестью, выталкиваются наружу. Таким образом, после финального этапа сушки на протяжении одного часа при +100 °С не следовало ожидать эффекта спонтанного впавления панцирей диатомей в поверхность этого полимера. Скорее, при неплотной ассоциации с полимером они бы отделились от поверхности за счёт выталкивающего эффекта памяти формы.

Образцы, экспонировавшиеся в накопительной культуре I, после первичной сушки были сильно покрыты солью, поэтому их дополнительно отмывали посредством двухсуточной экспозиции в дистилляте, а затем снова сушили 4 ч при +60 °С.

Микрофотосъёмку диатомового оброста проводили при увеличении от $\times 500$ до $\times 700$ с помощью трёх сканирующих электронных микроскопов: Hitachi TM 1000, Tescan LYRA и Tescan MAIA3.

Подсчёт панцирей на поверхности образцов СВМПЭ проводили вручную по микрофотографиям, помечая учтённые экземпляры в составе как цепочек, так и «плащевидных» поселений. При выделении дискретных пятен использовали маркеры разных цветов. Количество интервалов при выделении размерных классов пятен примерно подсчитывали по формуле:

$$h = 2(IQ)n^{-1/3},$$

где h — длина интервала;

(IQ) — разница между верхним и нижним квартилем (по формуле Фридмана — Диакониса [8]).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Колонизации поверхности образцов гладкого СВМПЭ не произошло ни в одной из накопительных культур диатомовых водорослей. Полученный результат важен в силу его потенциального применения при конструировании морских необрастающих подводных конструкций из СВМПЭ с гладкой поверхностью.

Эксперименты с колонизацией поверхности образцов пористого СВМПЭ показали ряд важных особенностей этого процесса, в том числе общих, у различных видов диатомей. Так, в накопительных культурах, где на песчаном субстрате развивались многие виды диатомей, а на стенках экспериментальных сосудов поселялись только несколько видов с преобладанием названных выше, перешли на образцы СВМПЭ лишь отдельные таксоны.

Так, накопительная культура II насчитывала 10 видов бентических диатомей. Из них *Karayevia amoena* образовывал многочисленные и плотные колониальные поселения на стенках сосудов из ПЭТФ и разреженные поселения — на песчинках на дне ёмкости, *Melosira nummuloides*

C. Agardh — немногочисленные короткие цепочки, а остальные виды из родов *Amphora* Ehr. ex Kütz., *Diploneis* (Ehr.) Cleve, *Nitzschia* Hassall и *Fallacia* Stickle et D. G. Mann часто встречались на песке и изредка — на стенках сосуда. Из накопительной культуры II перешли к обитанию на новом субстрате (пористом полиэтилене) только два первых упомянутых вида — *K. amoena* и *M. nummuloides*.

Исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа не выявили развития на образцах СВМПЭ бактериальных колоний. В свою очередь, *K. amoena* сформировала на поверхности различных образцов СВМПЭ колониальные поселения разных типов.

В составе накопительной культуры I отмечены три вида из рода *Halamphora*, два — *Karayevia* Round et Bukhtiyarova ex Round, два — *Nitzschia*, один — *Navicula* Bory. Все бентические диатомеи жили не только в песке на дне сосуда, но и на стенках, образуя на них плотные пятна колониальных поселений, в составе которых доминировала *H. coffeaeformis*. На образцах пористого СВМПЭ поселились только *H. symbifera*, *H. coffeaeformis* и *K. amoena*. Третий вид в культуре I имел морфологические отличия от такового в культуре II и встречался редко, отдельными клетками, в то время как первые два вида образовали колониальные поселения различных типов. Доминирующим видом, формировавшим наиболее обширные колониальные поселения на пористом СВМПЭ, здесь также являлась *H. coffeaeformis*. На поверхности образцов СВМПЭ и в данном эксперименте не было зафиксировано бактериальных колоний, но встречались отдельные клетки палочковидных бактерий.

Все три вида, показавшие активный рост на пористом СВМПЭ (*K. amoena*, *H. coffeaeformis* и *H. symbifera*), являются бентическими и ведут в природе прикрепленный образ жизни, колонизируя различные субстраты (поверхность минеральных песчинок и растительных остатков, хитиновые панцири отмерших беспозвоночных). При этом по макро- и микроморфологии панциря, способности к активному движению и способу закрепления на субстрате представители рода *Karayevia* существенно отличаются от таковых *Halamphora* [3 ; 10 ; 11 ; 19]. Крайне малоподвижная *K. amoena* прикрепляется к поверхности субстрата весьма плотно, и все перемещения её клеток сводятся к тому, что верхняя дочерняя клетка после деления отползает от нижней на расстояние, не превышающее, как правило, её длины. До настоящего времени не сообщалось о самостоятельном перемещении *K. amoena* на расстояния значительно больше длины её панциря. Перенос клеток этого вида на новые места обитания, существенно удалённые от прежних, происходит исключительно за счёт действия внешних факторов при движении воды или при перемещении частиц уже заселённого ими субстрата. В частности, мы рассматриваем возможность переноса клеток на поверхность СВМПЭ (из состава колониальных поселений на стенках сосудов и с поверхности песчаного грунта) с помощью пузырьков выделявшегося микрофитами кислорода, так как стенки этих пузырьков, отделившихся от оброста, часто имели буроватый цвет. Напротив, клетки *H. coffeaeformis* и *H. symbifera* ведут прикрепленный образ жизни и малоподвижны, однако всё же способны перемещаться на расстояния, во много раз превышающие длину их панциря, что может отражаться на характере формируемых ими поселений [18].

Мы наблюдали три основных вида колониальных поселений, между которыми существовали переходные формы. Это позволяет предположить, что заселение пористого СВМПЭ *K. amoena* происходит в три последовательных стадии. Сначала клетки данной диатомеи распространяются по субстрату, формируя цепочки первичной колонизации (рис. 3). Для этого они используют верхушки (гребни) или же краевые области складок и хлопьевидных фрагментов поверхности. Цепочки этого типа характеризуются терминальным (верхушечным) ростом: они образуются вследствие деления клеток и дальнейшего перемещения каждой верхней дочерней клетки от нижней на небольшое расстояние по поверхности наиболее высоко выступающих элементов микрорельефа образца. Интеркалярное удвоение клеток в такой цепочке происходит локально и только в местах «ветвления» микрорельефа: к основному направлению роста добавляются боковые отростки, также удлиняющиеся терминально. Можно предположить, что формирование данных цепочек — это не только первичная колонизация поверхности, но и процесс поиска участков, на которых возможно образование более компактных колониальных поселений.

При достижении такими цепочками участков рельефа, характеризующихся либо высокой плотностью расположения складок (в особенности на холмовидных поднятиях), либо, наоборот, относительной гладкостью поверхности (включая дно небольших лакун), начинается образование цепочек вторичной колонизации. Эти структуры формируются за счёт удвоения уже не только терминальной клетки в цепочке, но и всех остальных её клеток, достигших такого участка. В результате образуются продолговатые извилистые или ветвящиеся структуры из клеток, расположенных в два ряда «по принципу ёлочка» (паркет «ёлочка») (рис. 4). Если цепочка первичной колонизации имела существенные (длиной хотя бы в 1–1,5 клетки) интервалы (разрывы), то из неё могут образоваться несколько цепочек вторичной колонизации. При квазиоднородном характере микро рельефа цепочки первичной, а затем и вторичной колонизации способны покрыть поверхность субстрата довольно густой сетью (рис. 4).

Цепочки вторичной колонизации дают начало «ядрам», или наиболее плотным, инициальным группам клеток, при разрастании колониальных поселений. Продолжая часто удваиваться в составе цепочек вторичной колонизации, клетки *K. amoena* эффективно распространяются по участку с высокой плотностью складок (часто по «холму») или же по ограниченному участку относительно ровной поверхности, заполняя всю доступную его площадь. Так формируется третья стадия колонизации, или «плащевидное» поселение (рис. 5).

Область, покрываемая таким поселением, зависит от масштаба пространства элементов микро рельефа, обеспечивающего его развитие. Отметим, что эти обширные поселения, образованные зачастую из сотен и тысяч клеток, состоят из более мелких фрагментов мозаики, или «пятен» сходной конфигурации [1]. «Пятна» бывают хорошо различимы по узким извилистым зазорам между ними, а также по направлению осей клеток, из которых состоят. Эти «пятна», как правило, выглядят бугорками в составе поселения, располагаются по отношению друг к другу под разными углами и соответствуют очагам интенсивного деления клеток. При развитии особенно густого «плащевидного» поселения они отображают особенности поверхности микро рельефа, на которой происходит их формирование. На образцах СВМПЭ различной пористости такие

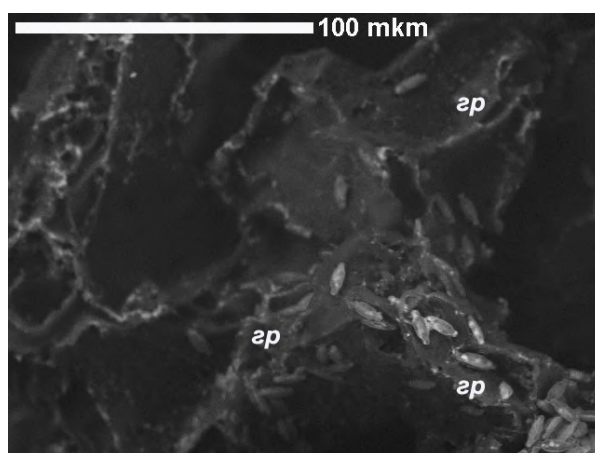


Рис. 3. Цепочки первичной колонизации пористого СВМПЭ клетками *Karayevia amoena*. На переднем плане цепочки проходят по гребням складок субстрата (*gp*)

Fig. 3. Primary colonization chains of porous UHMWPE by *Karayevia amoena* cells. In the foreground, the chains pass along the crests of substrate folds (*gp*)

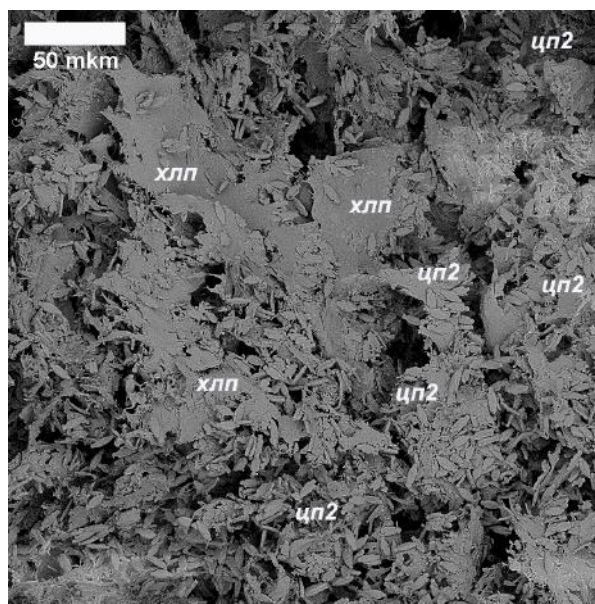


Рис. 4. Цепочки вторичной колонизации (*цп2*) пористого СВМПЭ диатомеей *K. amoena*. Структуры из клеток, расположенных в два ряда «по принципу ёлочка» (паркет «ёлочка»). Субстрат представлен мелкими хлопьевидными фрагментами (*хлп*) относительно ровной поверхности

Fig. 4. Secondary colonization chains (*цп2*) of porous UHMWPE by diatom *K. amoena*. Cell structures arranged in two rows according to “herringbone principle” (“herringbone” parquet). The substrate is represented by small flocculent fragments (*хлп*) of a relatively flat surface

«пятна» различаются обилием клеток. При достижении предельной плотности упаковки, когда клетки поселения уже покрывают субстрат в 1–1,3 плотных слоя и начинают приподниматься над ним в виде бугра, они перестают массово делиться, как отмечено в составе обширных распротёртых «плащевидных» поселений. Зафиксировано также, что периодически, в условиях малой площади доступной относительно ровной поверхности, клетки продолжают удвоение и начинают активно преобразовывать субстрат, как это будет описано ниже.

На участках поверхности образца № 8, которая представлена в основном относительно гладкими хлопьями шириной 20(30)–80 мкм, изорванными по краям, размер цепочек первичной колонизации колебался от 2 до 12 клеток (в среднем — по 3), с преобладанием цепочек по 3–4 клетки. Размер цепочек вторичной колонизации на стадии обильного формирования «ёлочек» и покрытия субстрата густой сетью варьировал здесь от 3 до 23 клеток (в среднем — 9,94), с преобладанием цепочек по 6–11 клеток (на их долю приходилось суммарно 48,75 %) (рис. 6). В свою очередь, размер «пятен» колебался от 9 до 73 клеток (в среднем — 31,01); наиболее крупные из них имели ветвистые очертания.

Между тем в структуре «плащевидных» поселений преобладали (суммарно 65 %) «пятна» размером 19–35 клеток (рис. 6). Всего было учтено расположение 12 404 панцирей в составе 400 «пятен».

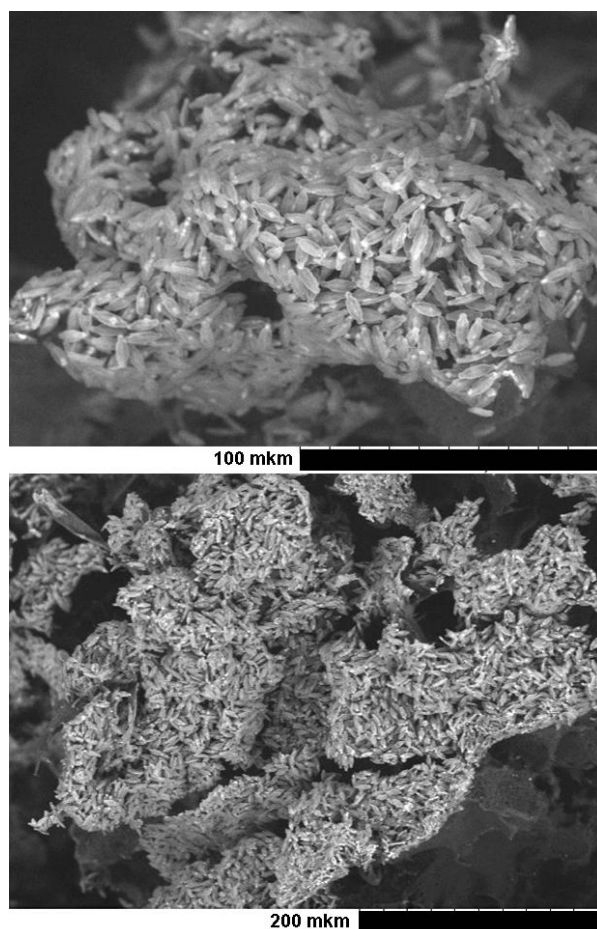


Рис. 5. Внешний вид участков «плащевидных» поселений *K. amoena* на поверхности пористого СВМПЭ (при разном увеличении)

Fig. 5. View of “cloak-like” areas of *K. amoena* settlements on the surface of porous UHMWPE (at different magnification)

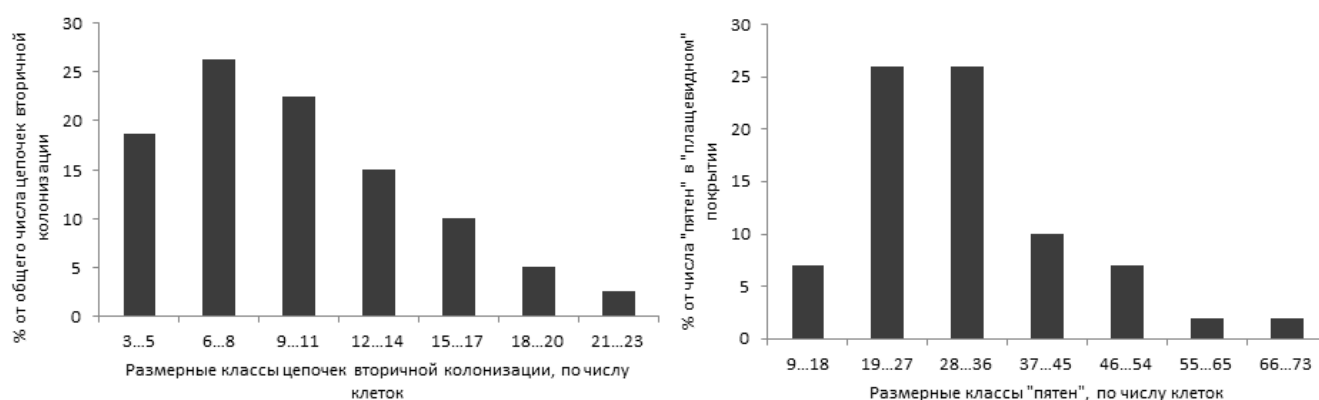


Рис. 6. Распределение частот размерных классов «пятен» в составе «плащевидных» колониальных поселений на поверхности образца № 8

Fig. 6. Frequency distribution of size classes of “spots” in “cloak-like” colonial settlements on the surface of sample No. 8

На поверхности образца № 10 складчатость была существенно выше. Так, микрорельеф был извилистым и мелкоскладчатым, состоял из трёхмерно ветвящихся структур, покрытых мозаикой мелких плоских участков (40–60 мкм по наибольшей оси), расположенных в разных плоскостях и разделённых тонкими невысокими складочками-барьерами. Цепочки первичной колонизации имели здесь длину 2–8 клеток (в среднем — 3–4 клетки); цепочки вторичной колонизации состояли из 3–15 клеток (в среднем — 5–8 клеток; 60 % приходилось на цепочки такой размерности) (рис. 7). «Пятна» состояли из 5–26 клеток (в среднем — 17), но преобладали среди них структуры двух типов — сформированные из 14–16 и из 19–21 клетки, в зависимости от особенностей микрорельефа поверхности (рис. 7). На данном образце было учтено 9 520 панцирей в составе 560 «пятен».

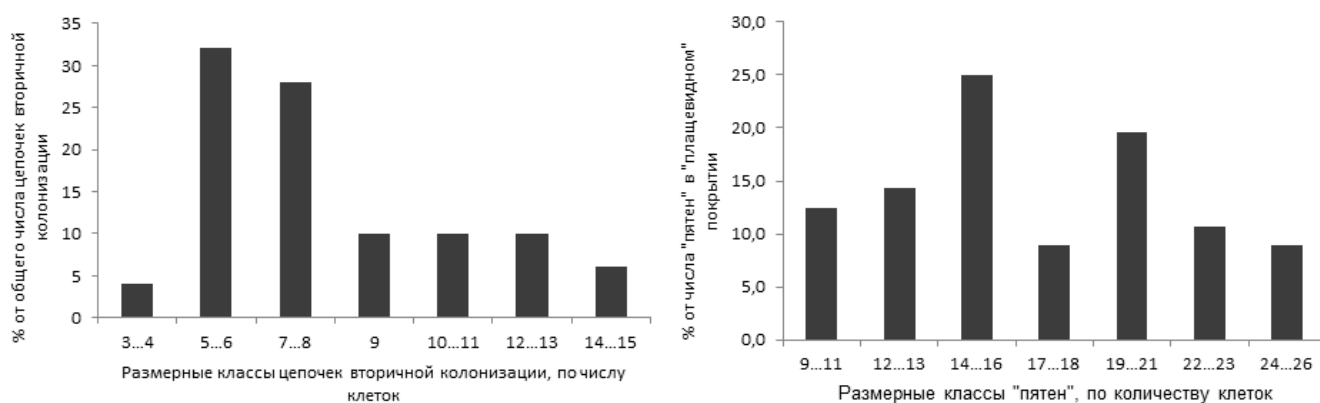


Рис. 7. Распределение частот размерных классов «пятен» в составе «плащевидных» колониальных поселений на поверхности образца № 10

Fig. 7. Frequency distribution of size classes of “spots” in “cloak-like” colonial settlements on the surface of sample No. 10

Важно отметить установленную нами способность *K. atoeana* к модификации микрорельефа СВМПЭ: с одной стороны — за счёт очень плотного прикрепления клеток к поверхности образца, с другой — за счёт их синхронного деления в рядах. При рассмотрении фрагментов развитого оброста на увеличении $\times 3000$ зафиксированы следующие типы деформации поверхности полиэтилена клетками диатомей.

Первый тип представлял собой гребни протяжённостью 20–30 мкм, выдавленные панцирями диатомей вследствие уплотнения оброста с обеих сторон от складки. Последовательное удвоение рядов клеток, плотно прикреплённых к субстрату, по обе стороны от невысокой, но широкой складки со встраиванием между ними новообразующихся рядов приводило к растягиванию самого субстрата: складка вытягивалась в узкий гребень. На таких гребнях росло по несколько клеток, находившихся в субстрате в лунках, которые отображали очертания панциря (рис. 8). Лунки могли сформироваться за счёт обжатия этих клеток, продолжающих плотно удерживаться на своих местах, при поднятии краёв верхушки гребня за счёт его растяжения в высоту, сопровождающегося выжиманием бровки в валик.

Второй тип образовывали отжатые и истончившиеся краевые области плоских участков поверхности, по краям которых находились диатомей в лунках по форме панциря (рис. 8).

Оба типа элементов крупной (по отношению к панцирям) деформации образовывались вследствие разрастания цепочек клеток в ширину (удвоения), а также из-за того, что панцири были плотно прикреплены к поверхности, а новообразованные ряды клеток встраивались между уже прикреплёнными рядами, при этом растягивая субстрат.

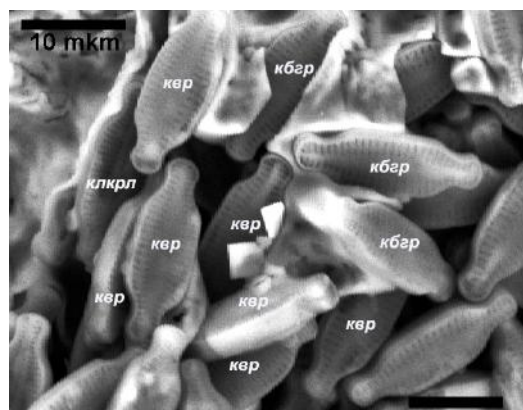


Рис. 8. Деформации поверхности СВМПЭ клетками *K. amoena* при формировании «плащевидного» поселения. Клетки на бровке гребня (*кбгр*), выдавленного из широкой складки субстрата плотными рядами клеток (*квр*), сидят в лунках, образовавшихся при выдавливании бровки в виде валика. Слева видна клетка в лунке (*кккрл*) на отжатом участке краевой области (выжатый валик обрамляет клетку слева)

Fig. 8. UHMWPE surface deformations by *K. amoena* cells during the formation of a “cloak-like” settlement. Cells on the edge of the crest (*кбгр*), squeezed from a wide fold of the substrate in dense cell rows (*квр*), sit in the wells formed by extruding the brow in the form of a fold. The cell in the well (*кккрл*) is visible on the left in the wrung-out part of the marginal area (the squeezed fold frames the cell on the left)

Совершенно особые вторичные структуры, формируемые *K. amoena* из СВМПЭ, отмечены на поверхности образца № 8 (рис. 9). При достижении максимальной плотности заселения ровного участка, относительно небольшого по площади, клетки начинали трансформацию его поверхности, используя плотное прикрепление к субстрату и увеличение числа соседствующих рядов и растягивая тем самым полимерный субстрат.

Сначала формировался кольцевой ряд, расположенный по краю участка (рис. 9а), и начиналось его удвоение в обе стороны с постепенным выдавливанием поверхности субстрата в невысокий кольцевой валик. Затем, отчлняя в процессе делений всё новые ряды в обе стороны — внутрь и наружу от кольцевого ряда, диатомеи выжимали валик уже в кольцевую стенку (рис. 9б). Ряды внутри такого строящегося «колодца» получали заведомо меньше света и биогенов, чем ряды снаружи, поскольку формировалось полузамкнутое пространство. В результате количество рядов снаружи росло быстрее, в том числе за счёт их интеркалярного удвоения вверх и вниз по всей высоте «колодца». Стенки «колодца» от этого выгибались наружу, формируя «горшок» (рис. 9с).

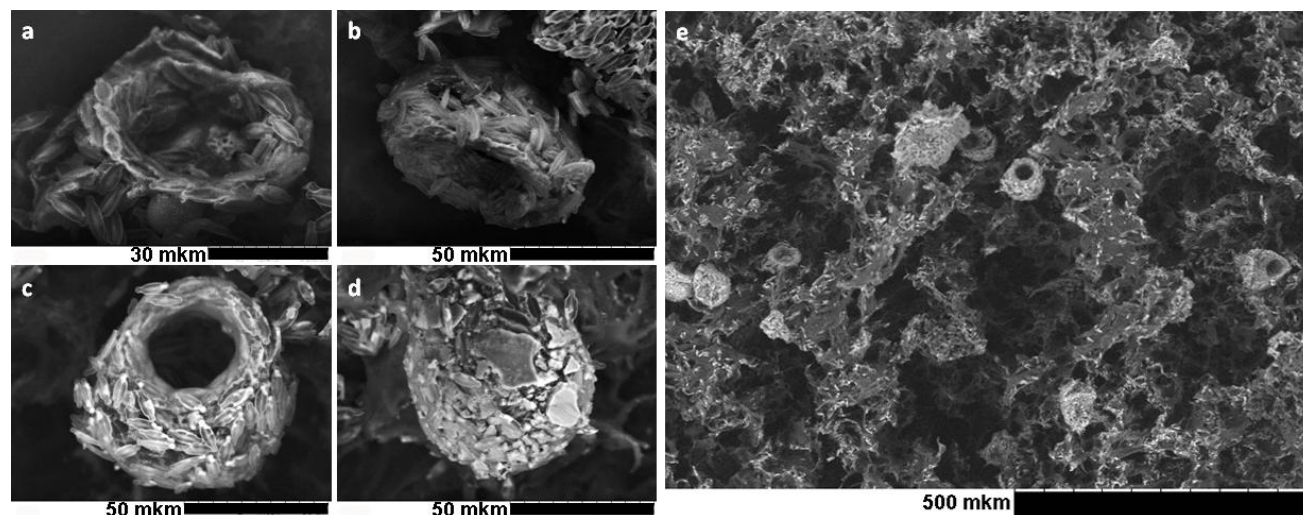


Рис. 9. Глубокая деформация поверхности пористого СВМПЭ растущим колониальным поселением *K. amoena*: а — образование кольцевого валика; б — стадия выдавливания валика в кольцевую стенку; с — стадия «горшка»; д — формирование фрагмента «плащевидного» поселения в форме шара, внутри оброста — выдавленный плотными рядами клеток в форме «горшка» фрагмент поверхности СВМПЭ; е — расположение выступающих фрагментов «плащевидного» поселения в форме «горшков» и шаров на фронтальной поверхности пористого СВМПЭ

Fig. 9. Deep deformation of the surface of porous UHMWPE by the growing *K. amoena* colonial settlement: а – formation of an annular fold; б – stage of fold extrusion in the annular wall; с – stage of the “pot”; д – formation of a fragment of a “cloak-like” settlement in the form of a sphere, inside the fouling there is a fragment of UHMWPE surface extruded by dense cell rows in the form of a “pot”; е – location of the protruding fragments of the “cloak-like” settlement in the form of “pots” and balls on frontal surface of porous UHMWPE

На поздних стадиях формирования такой структуры свет и биогены практически переставали поступать в её внутреннее пространство через узкое горло. В этот период рост числа клеток продолжался только снаружи, — и диатомеи в рядах формировали уже короткие последовательности из 3–4 клеток, образуя «финальные пятна» оболочки. Такие «финальные пятна» располагались под разными углами друг к другу. В конечной стадии формировалось подобие шара (рис. 9d): терминальное отверстие раздувшегося «горшка» закрывало «пятно» из диатомей наружной оболочки. Диаметр этих выдавленных структур составлял ≈ 60 мкм на стадии валика и ≈ 80 мкм на стадии «горшка»; объём в сформированном виде — ≈ 270 – 290 мкм³. Расстояние между «горшками» на фронтальной поверхности образца достигало при редком их расположении 300(400)–600(700) мкм, а при частом расположении, включая парное, — 10(40)–700 мкм (рис. 9е).

Колонизация поверхности пористого СВМПЭ в толщу образца происходила на глубину до 150–200 мкм — как в виде цепочек первичной колонизации по дну каверн, так и за счёт широких «плащевидных» поселений на участках глубокой складчатости фронтальной поверхности.

Последовательное формирование тех же трёх стадий колонизации пористого СВМПЭ отмечено и для *H. coffeaeformis*, но со своими особенностями. Во-первых, цепочки первичной колонизации у этого вида были существенно более разреженными (за счёт перемещения дочерних клеток на большие расстояния после деления). Во-вторых, в их составе чаще наблюдали интеркалярное деление клеток, и это не всегда сопровождалось отрастанием боковых «ветвей» по подходящим участкам микрорельефа. В-третьих, первичная колонизация происходила не только по выступающим, многоскладчатым участкам (на образцах № 1 и 2), но и по вогнутым элементам рельефа — как на поверхности образца № 3 (рис. 10). Здесь широкие, лишённые дополнительной складчатости и плавно изгибающиеся «лопасти» (шириной 200–400 мкм) часто перемежались с широкими кавернами (200–700 мкм по наибольшей оси), глубина которых составляла 200–500 мкм. В свою очередь, сами лопасти, благодаря своим изгибам, могли достигать 300–700 мкм по высоте. Тем не менее формирование цепочек вторичной колонизации происходило по «кряжам» и краям каверн во фронтальной поверхности СВМПЭ по тому же принципу «паркетчатого» удвоения рядов, как у *K. amoena*, или путём увеличения числа клеток в цепочке в виде пучков. В-четвёртых, развитие особо крупных «плащевидных» поселений *H. coffeaeformis* чаще всего отмечали по краям крупных каверн (рис. 11), а более мелких — по верхним краям «лопастей» (на образце № 3) или же по «холмам» (на образцах № 1 и 2) (рис. 12). Ввиду разреженности цепочек первичной и вторичной колонизации, а также сетчатого характера «пятен» достоверно выделить их типичные размеры для *H. coffeaeformis* не представляется возможным.

Наконец, *H. symbifera* вовсе не формировала цепочек первичной колонизации для поиска топологически подходящих участков поверхности. Крупные клетки этого вида либо обосновывались на притенённых участках микрорельефа и давали там начало очень плотным, компактным колониальным поселениям (на образце № 3) (рис. 13), либо поселялись одиночно по краям каверн, среди густых поселений *H. coffeaeformis* (на образцах № 1 и 2) (рис. 12).

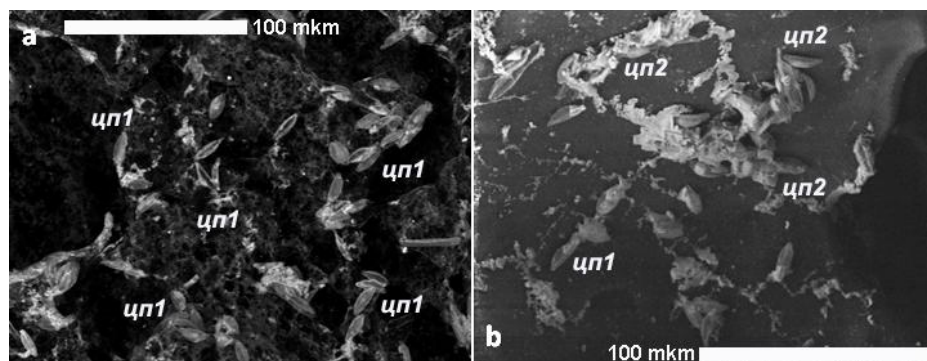


Рис. 10. Цепочки первичной (*цп1*) и вторичной (*цп2*) колонизации поверхности пористого СВМПЭ клетками *Halamphora coffeaeformis*

Fig. 10. Primary (*цп1*) and secondary (*цп2*) colonization chains of surface of porous UHMWPE by *Halamphora coffeaeformis* cells

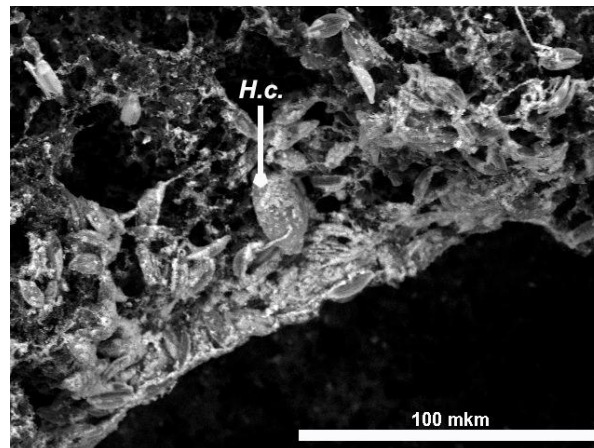


Рис. 11. Крупное «плащевидное» поселение *Halamphora coffeaeformis* по краю крупной каверны на фронтальной поверхности пористого СВМПЭ. В центре снимка — отдельная крупная клетка *H. symbifera* (H.c.)

Fig. 11. Large “cloak-like” settlement of *Halamphora coffeaeformis* along the edge of a large cavern on the frontal surface of porous UHMWPE. In the center of the image there is a separate large cell of *H. coffeaeformis* (H.c.)

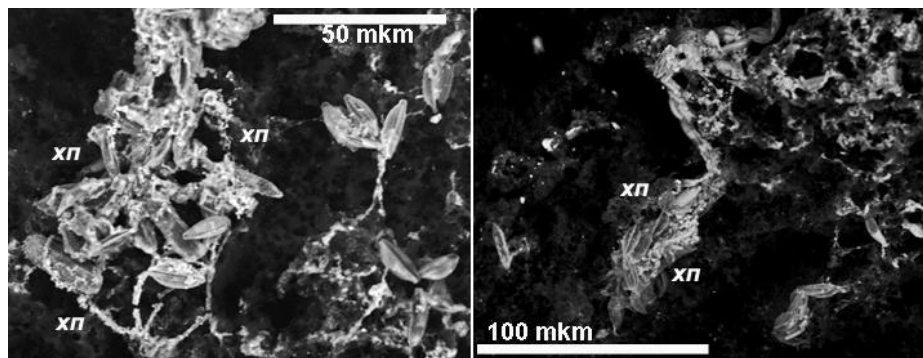


Рис. 12. Небольшие «плащевидные» поселения *Halamphora coffeaeformis* по вершинам холмовидных поднятий (хп) густоскладчатой поверхности пористого СВМПЭ

Fig. 12. Small “cloak-like” *Halamphora coffeaeformis* settlements along the tops of hill-shaped uplifts (хп) of the densely folded surface of porous UHMWPE

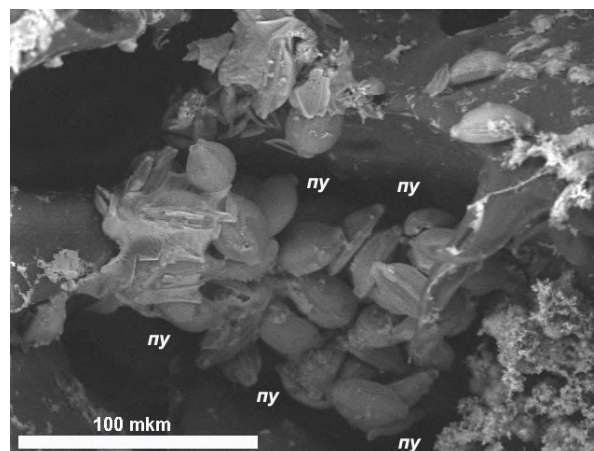


Рис. 13. Плотное и компактное колониальное поселение *Halamphora symbifera* на притенённом («пещеристом») участке (ny) микро рельефа пористого СВМПЭ

Fig. 13. Dense and compact *Halamphora symbifera* colonial settlement in the shaded (“cavernous”) area (ny) of porous UHMWPE microrelief

Размеры компактных поселений *H. symbifera* варьировали от 6 до 32 клеток (в среднем — 17,08). Преобладали группы по 14–18 клеток (в общей сложности — 32 %).

Заключение. Результаты экспериментов по изучению обрастания диатомеями образцов сверхвысокомолекулярного полиэтилена разного давления с разной структурой микрорельефа поверхности позволили выявить ряд общих характеристик процесса. Обрастания поверхности гладкого СВМПЭ не произошло. Образцы пористого СВМПЭ колонизировали клетки с различной морфологией — ахнантоиды (*Karayevia amoena*) и амфороиды (*Halamphora* spp.), обладающие неодинаковыми механизмами адгезии к поверхности субстрата, но проявившие общие стратегии при освоении отличающихся по микрорельефу образцов. Для видов близких размеров (*K. amoena* и *H. coffeaeformis*, размерный класс $\approx 10\text{--}18$ мкм) выявлены три общие последовательные стадии формирования колониальных поселений: 1) цепочки первичной колонизации, с помощью которых клетки расселялись по субстрату; 2) цепочки вторичной, или плоскостной, колонизации; 3) распростёртые, или «плащевидные», поселения, сформированные из «пятен».

Первая и вторая стадии колонизации распространялись преимущественно по выступающим элементам микрорельефа, а третья — на участках относительно ровных или же испещрённых мельчайшими, густо расположенными складками, где каждая клетка присоединялась сразу к двум-тремя складкам. На участках с максимально плотной складчатостью или с относительно гладкой поверхностью оба вида формировали обширные «плащевидные» поселения, наиболее обильные на приподнимающихся над общим уровнем фронтальной поверхности «холмах» и «лопастях». На всех образцах, где минимальный повторяющийся участок складчатой поверхности был сопоставим по площади с размерами клеток (от $\approx 10 : 1$ до $\approx (50\dots 100) : 1$), отмечено формирование «пятен» из более-менее определённого числа клеток, своим расположением повторяющих особенности микрорельефа и образующих «плащевидные» поселения.

Для *K. amoena* впервые отмечена способность к модификации поверхности СВМПЭ — за счёт крайне плотного прикрепления клеток к субстрату и, как следствие, растягивания этой поверхности при увеличении числа рядов клеток. В одних случаях модификация выражалась в точечном растягивании краевых зон мельчайших ровных участков, пригодных для разрастания распростёртых поселений. В других случаях трансформация заключалась в выжимании поверхности участка в форме кольца и в дальнейшем формировании «горшка» с выпуклыми стенками.

На поверхности образца с минимальной складчатостью *H. coffeaeformis* (размерный класс $\approx 10\text{--}18$ мкм) использовали для крупных компактных поселений притенённые участки — по краям каверн, во вмятинах по изгибам «лопастей» и на узких перешейках между кавернами. В этом случае площадь минимального относительно однородного участка значительно превосходила площадь клеток данного размерного класса; они предпочитали участки, защищённые от движения воды и прямого освещения. Более крупные клетки *H. symbifera* (размерный класс $\approx 30\text{--}35$ мкм) при минимальной складчатости также уходили в «тень», но использовали более сопоставимые с собой по площади участки на дне неглубоких каверн.

Таким образом, выявлено, что при колонизации различных образцов пористого СВМПЭ диатомовые водоросли образуют устойчивые, плотно ассоциированные с поверхностью поселения, морфология которых тесно связана с особенностями микрорельефа поверхности. При соответствующей обработке полученных композитов, позволяющей избавляться от органического содержимого клеток диатомей и очищать их панцири, становится возможным получение образцов СВМПЭ с устойчиво биоминерализованной поверхностью, суммарная площадь которой на несколько порядков больше площади первоначальной поверхности.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке грантов Лондонского королевского общества (№ IEC/R2/170223) и Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-55-80004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Азовский А. И. *Пространственно-временные масштабы организации морских донных сообществ* : дис. ... д-ра биол. наук. Москва : МГУ, 2003. 291 с. [Azovsky A. I. *Prostranstvenno-vremennyye masshtaby organizatsii morskikh donnykh soobshchestv*. [dissertation]. Moscow : MGU, 2003, 291 p. (in Russ.)]
2. Artham T., Doble M. Biodegradation of aliphatic and aromatic polycarbonates. *Macromolecular Bioscience*, 2008, vol. 8, iss. 1, pp. 14–24. <https://doi.org/10.1002/mabi.200700106>
3. Bukhtiyarova L. N. Additional data on the diatom genus *Karayevia* and a proposal to reject the genus *Kolbesia*. *Nova Hedwigia, Beiheft*, 2006, vol. 130, pp. 85–96.
4. Carson H. S., Nerheim M. S., Carroll K. A., Eriksen M. The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, vol. 75, iss. 1–2, pp. 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.054>
5. Dussud C., Hudec C., George M., Fabre P., Higgs P., Bruzard S., Delort A.-M., Eyheraguibel B., Meistertzheim A.-L., Jacquin J., Cheng J., Callac N., Odobel Ch., Rabouille S., Ghiglione J.-F. Colonization of non-biodegradable and biodegradable plastics by marine microorganisms. *Frontiers in Microbiology*, 2018, vol. 9, article 1571 (13 p.). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01571>
6. Eich A., Mildenerger T., Laforsch C., Weber M. Biofilm and diatom succession on polyethylene (PE) and biodegradable plastic bags in two marine habitats: Early signs of degradation in the pelagic and benthic zone? *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 9, article e0137201 (16 p.). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137201>
7. Fisher J., Dunbar M. J. Towards a representative periphytic diatom sample. *Hydrology and Earth System Sciences*, 2007, vol. 11, iss. 1, pp. 399–407. <https://doi.org/10.5194/hess-11-399-2007>
8. Freedman D., Diaconis P. On the histogram as a density estimator: L_2 theory. *Zeitschrift für Wahrscheinlichkeitstheorie und Verwandte Gebiete*, 1981, vol. 57, iss. 4, pp. 453–476.
9. GUR® UHMW-PE ultra high molecular weight polyethylene. URL: <https://www.celanese.com/engineered-materials/products/gur-uhmw-pe.aspx> (accessed 01.06.2020).
10. Kingston J. C. Araphid and monoraphid diatoms. In: *Freshwater Algae of North America. Ecology and Classification* / J. D. Wehr, R. G. Sheath (Eds). San Diego : Academic Press, 2003, pp. 595–636.
11. Levkov Z. *Amphora sensu lato*. In: *Diatoms of Europe* / H. Lange-Bertalot (Ed.). Ruggell : A. R. G. Gantner Verlag K. G., 2009, vol. 5, 916 p.
12. Maksimkin A. V., Kaloshkin S. D., Tcherdynstev V. V., Chukov D. I., Stepashkin A. A. Technologies for manufacturing ultrahigh molecular weight polyethylene based porous structures for bone implants. *Biomedical Engineering*, 2013, vol. 47, no. 2, pp. 73–77. <https://doi.org/10.1007/s10527-013-9338-5>
13. Maksimkin A. V., Senatov F. S., Anisimova N. Yu., Kiselevskiy M. V., Zalepugin D. Yu., Chernyshova I. V., Tilkunova N. A., Kaloshkin S. D. Multilayer porous UHMWPE scaffolds for bone defects replacement. *Materials Science and Engineering: C*, 2017, vol. 1, no. 73, pp. 366–372. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.104>
14. Mejdandžić M., Ivanković T., Pfannkuchen M., Godrijan J., Pfannkuchen D. M., Hrenović J., Ljubešić Z. Colonization of diatoms and bacteria on artificial substrates in the northeastern coastal Adriatic Sea. *Acta Botanica Croatica*, 2015, vol. 74, iss. 2, pp. 407–422. <https://doi.org/10.1515/botcro-2015-0030>
15. Nenadović T., Šarčević T., Čižmek H., Godrijan J., Pfannkuchen D. M., Pfannkuchen M., Ljubešić Z. Development of periphytic diatoms on different artificial substrates in the Eastern Adriatic Sea. *Acta Botanica Croatica*, 2015, vol. 74, iss. 2, pp. 377–392. <https://doi.org/10.1515/botcro-2015-0026>
16. Penna A., Magnani M., Fenoglio I., Fubini B., Cerrano C., Giovine M., Bavestrello G. Marine diatom growth on different forms of particulate silica: Evidence of cell/particle interaction. *Aquatic Microbial Ecology*, 2003, vol. 32, iss. 3, pp. 299–306. <https://doi.org/10.3354/ame032299>
17. Richard C., Mitbavkar S., Landoulsi J. Diagnosis of the diatom community upon biofilm development on stainless steels in natural freshwater. *Scanning*, 2017, article 5052646 (13 p.). <https://doi.org/10.1155/2017/5052646>
18. Round F. E., Crawford R. M., Mann D. G. *Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge : Cambridge University Press, 1990, 747 p.
19. Sala S. E., Sar E. A., Hinz F., Sunesen I. Studies on *Amphora* subgenus *Halamphora* (Bacillariophyta): The revision of some species described

- by Hustedt using type material. *European Journal of Phycology*, 2006, vol. 41, iss. 2, pp. 155–167. <https://doi.org/10.1080/09670260600556609>
20. Sheik S., Chandrashekar K. R., Swaroop K., Somashekarappa H. M. Biodegradation of gamma irradiated low density polyethylene and polypropylene by endophytic fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, vol. 105, pp. 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.08.006>
21. Senatov F. S., Anisimova N. Yu., Kiselevskiy M. V., Kopylov A. N., Tcherdyntsev V. V., Maksimkin A. V. Polyhydroxybutyrate/Hydroxyapatite highly porous scaffold for small bone defects replacement in the nonload-bearing parts. *Journal of Bionic Engineering*, 2017, vol. 14, iss. 4, pp. 648–658. [https://doi.org/10.1016/S1672-6529\(16\)60431-6](https://doi.org/10.1016/S1672-6529(16)60431-6)
22. Shah A. A., Hasan F., Hameed A., Ahmed S. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 2008, vol. 26, iss. 3, pp. 246–265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>
23. Tokiwa Y., Calabia B. P., Ugwu C. U., Aiba S. Biodegradability of plastics. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009, vol. 10, iss. 9, pp. 3722–3742. <https://doi.org/10.3390/ijms10093722>
24. Totti C., Cucchiari E., De Stefano M., Pennesi C., Romagnoli T., Bavestrello G. Seasonal variations of epilithic diatoms on different hard substrates, in the northern Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2007, vol. 87, iss. 3, pp. 649–658. <https://doi.org/10.1017/S0025315407054665>
25. Xing Y., Yu L., Wanga X., Jiaa J., Liua Y., Hec J., Jia Z. Characterization and analysis of *Coscinodiscus* genus frustule based on FIB-SEM. *Progress in Natural Science: Materials International*, 2017, vol. 27, iss. 3, pp. 391–395. <https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2017.04.019>
26. Zettler E. R., Mincer T. J., Amaral-Zettler L. A. Life in the “plastisphere”: Microbial communities on plastic marine debris. *Environmental Science and Technology*, 2013, vol. 47, iss. 13, pp. 7137–7146. <https://doi.org/10.1021/es401288x>

FEATURES OF FORMATION OF COLONIAL SETTLEMENTS OF MARINE BENTHIC DIATOMS ON THE SURFACE OF SYNTHETIC POLYMER

Ph. V. Sapozhnikov¹, A. I. Salimon², A. M. Korsunsky^{2,3}, O. Yu. Kalinina^{1,4},
F. S. Senatov⁵, E. S. Statnik², and Ju. Cvjetinovic²

¹P. P. Shirshov Institute of Oceanology, Moscow, Russian Federation

²Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation

³University of Oxford, Oxford, United Kingdom

⁴Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

⁵National University of Science and Technology “MISIS”, Moscow, Russian Federation

E-mail: fil_aralsky@mail.ru

The topic of interactions between plastic and natural communities is now more relevant than ever before. Gradual accumulation of artificial polymer products and their fragments in the natural environment has reached a level at which it is already impossible to ignore the affect of these materials on living organisms. First and foremost, microorganism colonies inhabiting different biotopes, both aquatic and terrestrial, have been affected. These species are at the front-end of interaction with plastic, including those present in marine ecosystems. Nevertheless, in order to understand these processes, it is necessary to take into account several aspects of such interactions: the impact of different types of plastic on microbial community through the release of their decomposed products into the environment, the forms of plastic usage by microorganisms themselves, including mechanisms for surface colonization, as well as possible biodegradation processes of polymers due to the actions of microorganisms. At the same time, types of plastic may differ not only in mechanical strength, but also in their resistance to biodegradation caused by microorganisms. Experiments with surface colonization of types of plastic, which are different in composition and mechanical strength, provide a wide range of results that are not just relevant for understanding modern natural processes involving plastic: these results are also important for application in certain areas of technology development (for example, when creating composite materials). In particular, researches into the forms

and mechanisms of sustainable colonization of particularly strong polymers by diatoms from natural communities are of great interest. Due to the fouling of surface of particularly strong synthetic polymers by diatoms, it is possible to form a single diatom-polymeric composite with general properties being already substantially different from those of the polymer itself. For example, when a polymer is fouled with diatoms that are firmly held on its surface due to physiological mechanisms that ensure their reliable fixation, total surface area of the composite increases by 2–3 orders of magnitude compared with this of bare polymer. Such composites and their properties are formed due to mechanisms of substrate colonization used by diatoms from natural marine cenoses – during the transfer of these mechanisms to a new material being prospective for diatom settlement. The practical applications of these composites lie in the sphere of heat and sound insulation, as well as in the field of creating prosthetic tissues for bone operations. In our experiments, we tracked the sequence of development of a stable composite when diatoms colonized the surface of samples of a particularly strong synthetic polymer being resistant to corrosion. In this case, the sample population process took place on the basis of colonies formed in accumulative cultures from the natural marine environment. Samples of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) with a smooth and porous surface structure (with an open cell, bulk porosity up to 80 %) were colonized by diatoms *Karayevia amoena* (Hust.) Bukht., 2006, *Halamphora coffeaeformis* (C. Agardh) Levkov, 2009, and *Halamphora cymbifera* (W. Greg.) Levkov, 2009. These laboratory experiments lasted for three weeks. Accumulative microphyte cultures, on the basis of which the experiments were conducted, were obtained from the Baltic Sea (Baltiysk area, Russia) and the Arabian Sea (Mumbai area, India). The types and stages of development of colonial settlements on various elements of the frontal surface microrelief and in the underlying caverns were studied using a scanning electron microscope on samples subjected to stepwise thermal drying. Individual cells of *K. amoena*, *H. coffeaeformis*, and *H. cymbifera*, their chain-like aggregates, and outstretched colonial settlements occupied varying in degree non-homogeneous microrelief surface elements, forming structures with a thickness of 1–2 layers with an average settlement height of 1–1.3 single specimen height. *K. amoena* cells were tightly fixed to the polymer substrate using the pore apparatus of the flap of the frustule. Observations using scanning electron microscope revealed shell imprints on the substrate, which were signs of a polymer substrate introduction into hypotheca areoles. The spread mechanisms of diatoms of three mentioned species on various elements of UHMWPE surface were explored, as well as the formation of the characteristic elements of colonial settlements, including for *K. amoena* – consecutively in the form of “pots” and spheres, by means of interaction with polymer surface and its extension with the increase in the number of tightly attached cells in the colonial settlement.

Keywords: diatoms, diatom algae, Bacillariophyta, plastic colonization, UHMWPE, sustainable materials, plastic in the marine environment, aquaculture