

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»
Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН

УДК 582.261: 581.16

На правах рукописи

Давидович Николай Александрович

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Специальность 03.02.01 — ботаника

**Диссертация на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Москва — 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
РАЗДЕЛ 1 ДИАТОМОВЫЕ ВОДОРОСЛИ КАК ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	22
РАЗДЕЛ 2 ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕПРОДУКЦИИ ДИАТОМОВЫХ	25
2.1 Эволюция представлений о типах полового процесса	27
2.2 Изучение жизненных циклов диатомовых.....	29
2.3 Изучение систем скрещивания.....	33
2.4 Молекулярно-генетические исследования.....	35
2.5 Школа диатомологов Карадагской научной станции	38
РАЗДЕЛ 3 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	42
3.1 Клонирование, наименование клонов	42
3.2 Приготовление сред.....	43
3.3 Содержание клоновых культур	47
3.4 Самоингибирование роста в непересеваемых культурах	50
3.5 Скрещивание клонов, половое воспроизведение	55
3.6 Влияние плотности посева на результативность полового воспроизведения.....	56
3.7 Световая и электронная микроскопия.....	58
3.8 Математическая обработка.....	60
3.9 Дополнительные сведения.....	60
РАЗДЕЛ 4 ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ	62
4.1 Общие закономерности.....	62
4.2 Фактор изменения размера клеток.....	66
4.3 Жизненные циклы отдельных видов	85
4.4 Размеры клеток в природных популяциях	89
РАЗДЕЛ 5 ПОЛОВОЙ ПРОЦЕСС У ДИАТОМОВЫХ	93
5.1 <i>Pseudo-nitzschia multiseriata</i> (Hasle) Hasle.....	93
5.2 <i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> Lundholm, Moestrup et Hasle.....	96
5.3 <i>Berkelelya micans</i> (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck	96
5.4 <i>Haslea ostrearia</i> (Gaillon/Bory) Simonsen.....	99
5.5 <i>Haslea karadagensis</i> Davidovich, Gastineau & Mouget.....	102
5.6 <i>Haslea provincialis</i> Gastineau, Hansen et Mouget.....	104
5.7 <i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) D.M. Williams & Round.....	107
5.8 <i>Tabularia tabulata</i> (C. Agardh) Snoeijs.....	109

5.9 <i>Ulnaria ulna</i> (Nitzsch) P.Compère.....	112
5.10 <i>Schizostauron</i> sp.	113
5.11 <i>Ardissonea crystallina</i> (C.Agardh) Grunow.....	119
РАЗДЕЛ 6 ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПОЛОВОЕ	
ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ДИАТОМОВЫХ	123
6.1 Температура.....	123
6.2 Соленость	124
6.3 Условия освещения	131
6.3.1 Продолжительность фотопериода.....	131
6.3.2 Интенсивность света.....	133
6.3.3 Действие синего и красного света.....	138
6.3.4 Сексуализация, сексуальная индукция и этапы полового воспроизведения	140
6.3.5 Влияние условий освещения на протекание отдельных этапов процесса	
полового воспроизведения.....	142
6.3.6 Связь мейоза с митотическим клеточным циклом	143
РАЗДЕЛ 7 ДВИЖЕНИЕ ГАМЕТ.....	151
РАЗДЕЛ 8 РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛОВ И СИСТЕМА СКРЕЩИВАНИЯ.....	163
8.1 Характер детерминации пола у диатомовых	163
8.2 Сочетание гетеро- и гомоталлизма	172
8.3 Эволюция пола.....	176
РАЗДЕЛ 9 НАСЛЕДОВАНИЕ, СВЯЗАННОЕ С ПОЛОМ	180
РАЗДЕЛ 10 РЕПРОДУКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ КАК КРИТЕРИЙ ВИДА У	
ДИАТОМОВЫХ.....	186
РАЗДЕЛ 11 РЕПРОДУКТИВНЫЕ ГРАНИЦЫ И БИОГЕОГРАФИЯ ДИАТОМОВЫХ...201	
РАЗДЕЛ 12 РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ФИЛОГЕНИЯ	
ДИАТОМОВЫХ.....	211
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	225
ВЫВОДЫ	232
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	234
ТЕРМИНОЛОГИЯ ПО РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ ДИАТОМОВЫХ.....	235
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ	240
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	265
СПИСОК ТАБЛИЦ И ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.....	297
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	303

ПРИЛОЖЕНИЕ А	304
ПРИЛОЖЕНИЕ Б	306
ПРИЛОЖЕНИЕ В	307
ПРИЛОЖЕНИЕ Г	310
ПРИЛОЖЕНИЕ Д	313
ПРИЛОЖЕНИЕ Е	314

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Диатомовые водоросли (диатомовые, диатомеи) — один из главных компонентов практически всех водных экосистем. По многим показателям (видовое разнообразие, численность, первичная продукция, участие в круговороте веществ) диатомовые заметно выделяются среди остальных микроводорослей. Существуют разные оценки, но даже по самым осторожным из них, диатомовые продуцируют до $1/5$ мировой первичной продукции, внося существенный вклад в глобальный круговорот элементов, прежде всего, углерода, кислорода и кремния [Mann, 1999; Smetacek, 1999]. Несмотря на экстраординарную роль диатомовых в природе, представления об их основных биологических качествах, таких как репродуктивное поведение, жизненный цикл, пути воспроизведения, проявление пола долгое время оставались, а по многим позициям и до настоящего времени остаются крайне ограниченными. При этом следует заметить, что нет ни одного семейства или рода диатомовых, или даже секции в пределах рода, все представители которых были бы асексуальными или партеногенетическими [Mann, 1999].

Диатомовые характеризуются рядом уникальных черт. В качестве примера можно привести присущее только диатомовым и связанное с особенностями строения панциря, изменение размеров клеток в жизненном цикле, без учета которого представление о динамике размерной структуры, биомассе, ассимиляционно-продукционных характеристиках популяций оказывается неполным или неточным. Восстановление размеров у диатомовых связано с половым воспроизведением, и поэтому для подавляющего большинства из них половое воспроизведение является не факультативным, как у многих других одноклеточных водорослей, а обязательным этапом жизненного цикла.

Известно такое пагубное, наносящее существенный экологический и экономический ущерб явление, как цветение водоемов, которое может быть вызвано, в том числе, диатомовыми водорослями, включая токсикогенные виды (из родов *Amphora* C.G.Ehrenberg ex F.T.Kützing, *Nitzschia* Hassall, *Pseudo-nitzschia* H.Peragallo). Развитие водорослей, приводящее к цветению, также связано с их жизненным циклом. К сожалению, приходится констатировать, что жизненный цикл большинства видов диатомовых остается неизученным.

Экономически эффективное культивирование диатомовых водорослей (например, с целью получения биодизельного топлива, ненасыщенных жирных кислот и других ценных веществ, а также утилизации углекислого газа и т.д.) практически невозможно без учета особенностей их жизненного цикла, без понимания того, как содержать клоновые культуры, сохраняя их генетическую уникальность [Давидович и др., 2015]. Вопросы селекции,

генетических манипуляций также невозможно решать без представлений о системах скрещивания.

Вышеизложенные простые примеры убеждают в безусловной значимости получения данных о жизненном цикле и биологии воспроизведения диатомовых; относящихся как к конкретным видам, так и группе в целом. Эти данные необходимы для решения многих теоретических и прикладных проблем как диатомологии, так и смежных дисциплин. Принимая во внимание тот факт, что жизненный цикл изучен менее чем у 1% из описанных 20-25 тысяч видов диатомовых [Mann, Droop, 1996; Edlund, Stoermer, 1997], можно оценить объем предстоящих исследований. Здесь уместно напомнить, что общее число уже известных и еще не описанных видов диатомовых оценивается величиной на порядок большей [Mann, Droop, 1996; Mann, 1999; Mann, Vanormelingen, 2013].

Различные аспекты репродуктивной биологии находят живой интерес со стороны тех, кто занимается таксономией, систематикой, филогенией, эволюцией, биогеографией диатомовых, ведет популяционные и экосистемные исследования, занимается практическим культивированием. Обобщения, выполненные на современном уровне, по нашему мнению, будут способствовать дальнейшему развитию направления исследований – репродуктивной биологии диатомовых. Подходя формально-критически, можно возразить, что предмет "репродуктивная биология диатомовых" слишком узок, ограничен только одной группой организмов. Однако, огромное видовое разнообразие группы, уникальность этих одноклеточных организмов во всех аспектах, начиная от их происхождения, пигментов, биохимических путей метаболизма и заканчивая особенностями репродукции и эволюционной успешностью группы, доказывает обратное — предмет исследования обширен и "географические открытия" на этом поле деятельности сделаны далеко еще не все.

Существует мнение, что выражение "репродуктивная биология" предпочтительнее употреблять для конкретной области исследования, нежели в качестве названия нового научного подхода или принципиально новой проблемы [Терехин, 2000]. Мы также видим наибольший смысл в употреблении этого термина скорее для обособления (очерчивания) направления исследования, относящегося к диатомовым, чем для придания этому направлению принципиальной новизны. На самом деле, к репродуктивной биологии в разных ее аспектах обращаются с самых начал исследований и наблюдений за любыми живыми организмами, так было и с диатомовыми. Тем не менее, представления о репродуктивной биологии каждой конкретной группы организмов зачастую остаются весьма туманными и слабо развитыми. Попыткой придать большую самостоятельность репродуктивной биологии диатомовых как направлению исследований мы отнюдь не пытаемся уменьшить или в какой-

либо мере умалить значение тех обобщений, которые были сделаны исследователями ранее [Wiese, 1969; Geitler, 1973; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Поцин, 1994б; Edlund, Stoermer, 1997; Cherpurnov *et al.*, 2004; Amato, 2010; Mann, 2011 и др.]. Однако, следует отметить, что в отношении репродукции диатомовых некоторые представления носят устаревший характер, нуждаются в существенных дополнениях. Непрерывно появляются новые данные.

Еще один аспект исключительной важности исследований в области репродуктивной биологии состоит в проблеме идентификации видов. Сегодня, как и во времена зарождения и становления диатомологии, основным критерием для разграничения таксонов является форма и структура панциря клеток диатомовых водорослей. Долгое время единственным инструментом, используемым при этом, оставался световой микроскоп. С появлением новых методов исследования (электронная микроскопия, молекулярно-генетический анализ) при идентификации видов стала все больше проявляться ограниченность световой микроскопии в сочетании с узко-морфологическим подходом [Amato, 2010], недостатки которого становятся особенно очевидными в случае, когда игнорируются представления о жизненном цикле диатомовых и связанном с ним изменением морфологических характеристик клеток [Mann, 2010]. Внедрение в практику научных исследований современных методов генетического анализа прояснило многие вопросы, но при этом проблемы идентификации и делимитации видов не исчезли. Напротив, исследователи столкнулись с той же проблемой — необходимостью разграничения видов — но уже не по морфологическим критериям, а по степени их молекулярных различий. Появилась возможность некой формализации оценки. Однако на самом деле, не существует однозначно определенной критической границы молекулярных различий, которая бы указывала на наличие двух видов. Выбор такой границы (в молекулярных единицах измерения) довольно условный и фактически основывается на таком же субъективном подходе, что и морфологический. Особенно трудно говорить о расхождении или нерасхождении видов, оперируя исключительно степенью молекулярных различий, когда речь идет о видовом и довидовом уровнях.

В настоящее время сведения о жизненных циклах диатомовых, проявлении пола, половом воспроизведении и регулирующих его факторах, типах полового процесса, принципах определения пола, наследовании, связанном с полом, путях воспроизведения, определяющих систему скрещивания и т.д. содержатся в отдельных статьях и главах книг, количество которых приближается к тысяче [Давидович, 2009]. Написан целый ряд обзорных работ [Geitler, 1935; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Mann, 1993a; Edlund, Stoermer, 1997; Давидович, 2002б, 2009; Cherpurnov *et al.*, 2004; Amato, 2010; Gastineau *et al.*, 2014a и др.]. В них, к сожалению, нет сведений о принципах детерминации пола у диатомовых (имеются

лишь слабо обоснованные предположения); наследовании факторов, связанных с полом; отсутствуют или слабо разработаны такие разделы, как "репродукция и биогеография", "репродукция и филогеография" диатомовых. Данные разделы мы активно разрабатываем.

Пока неясно, чем обусловлен эволюционный переход от эпигенетической регуляции пола у центрических к генетической у пеннатных. Непонятен характерный для диатомовых, но нетипичный для большинства других групп организмов эволюционный тренд от оогамного к изогамному воспроизведению. Не объяснен с позиций репродуктивных отношений эндемизм одних и космополитизм других видов. Остается недоказанной возможность появления репродуктивных барьеров между симпатрически сосуществующими популяциями.

За всю историю изучения половой репродукции диатомовых фактический материал собран большой, однако, следует признать, что вопросы, по сути своей взаимосвязанные, не находили обобщения в такой форме, когда можно вести речь о самостоятельном, отдельном направлении исследований, как изучаемом предмете. По нашему мнению, в диатомологии назрела очевидная необходимость выделить репродуктивную биологию диатомовых как самостоятельное направление исследований, в фокусе которого находится ключевое понятие пола и полового воспроизведения. Указанное направление нельзя связывать с принципиально новой научной проблемой, однако, накопленные данные, несомненно, заслуживают изложения в рамках отдельной дисциплины, для которой важно определить свой предмет, цели, задачи, объекты и методы исследований. Необходимо обобщить наиболее весомые результаты и показать их значимость не только для развития самого направления, но и для смежных дисциплин. Важно показать также, что в рамках репродуктивной биологии диатомовых могут быть обнаружены явления и описаны закономерности, существенные не только для изучаемой группы, но имеющие общебиологический смысл.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Диссертационная работа выполнена в рамках программ и тем научно-исследовательских работ (НИР), отечественных и зарубежных проектов, в том числе инициативных, в которых автор принимал и принимает непосредственное участие:

тема НИР "Изучение полового воспроизведения диатомовых водорослей: разнообразие и влияние эколого-физиологических факторов" (1996–2000 гг., финансирование НАН Украины, шифр 03534363, руководители темы: к.б.н. Н.А.Давидович, к.б.н. В.А.Чепурнов);

тема НИР "Изучение половой структуры популяций и особенностей воспроизведения диатомовых водорослей" (2001–2005 гг., финансирование НАН Украины, № госрегистрации 0101U006635, руководитель темы к.б.н. Н.А.Давидович);

тема НИР "Изучение половой репродукции, систем воспроизведения и жизненных циклов диатомовых водорослей" (2006–2010 гг., финансирование НАН Украины, № госрегистрации 0107U000082, руководитель темы к.б.н. Н.А.Давидович);

раздел 2 "Изучение особенностей систем воспроизведения, репродуктивной изоляции и половой структуры популяций диатомовых водорослей" (руководитель раздела к.б.н. Н.А.Давидович) в теме НИР "Эколого-физиологические и физиолого-биохимические механизмы адаптации морских гидробионтов к факторам среды существования в условиях прогрессирующего загрязнения" (2011–2015 гг., финансирование НАН Украины, № госрегистрации 0111U001576);

проект "Life cycle of the domoic-acid-producing diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*" ("Жизненный цикл продуцирующей домоевую кислоту диатомовой *Pseudo-nitzschia multiseries*") Международной научной программы НАТО по научному обмену (NATO International Scientific Exchange Programmes, Collaborative Research Grant). 1996–1997 гг., финансирование НАТО, координаторы проекта: с Украинской стороны к.б.н. Н.А.Давидович, со стороны НАТО д-р С. Бэйтс (Dr. Stephan S. BATES; Department of Fisheries and Oceans, Gulf Fisheries Centre, P.O. Box 5030, Moncton, New Brunswick, E1C 9B6, Canada);

проект "Sexual reproduction and marennine production in the pennate diatom *Haslea ostrearia*" ("Половое воспроизведение и продукция мареннина у пеннатной диатомовой водоросли *Haslea ostrearia*") совместной исследовательской программы Днипро-2007, 2008 гг., совместное финансирование: Министерство образования и науки, Украина - EGIDE, Франция; руководители: со стороны Украины к.б.н. Н.А.Давидович, со стороны Франции д-р Жан-Люк Муже, Университет Дю Мэйн, г. Ле-Ман, Франция (Dr. Jean-Luc Mouget, Universite Du Maine, Le Mans, France);

участник проекта "БИОВАДИА — Биоразнообразие и распространение синих диатомовых" ("BIOVADIA—Biodiversity and Valorisation of blue Diatoms". 2011–2014 гг., проект №269294, по Акции Марии Кюри "Международная программа обмена исследовательскими коллективами" (Marie Curie action "International Research Staff Exchange Scheme", FP7-PEOPLE-2010-IRSES); в проект включены представители 8 университетов и организаций из 5 стран; финансировался проект Европейским сообществом в рамках программы FP-7;

грант РФФИ № 14-04-90427_Укр_а (2014–2015 гг.) "Филогеография и репродуктивные основы разграничения видов диатомовых водорослей". Совместно с Институтом биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Ярославская обл. Совместный Российско-Украинский проект профинансирован одной из сторон (Россия). Руководитель гранта к.б.н. М.С. Куликовский, в качестве руководителя от исполняющей организации к.б.н. Н.А. Давидович;

грант РФФИ № 15-04-00237_а (2015–2016 гг.) "Получение данных о репродуктивной биологии рода *Ardissonea*, критически важных для понимания филогении диатомовых". По конкурсу инициативных проектов, руководитель проекта к.б.н. Н.А. Давидович;

грант РФФИ № 15-34-50571_мол_нр (2015 г.) "Изучение репродуктивных отношений между аллопатрическими популяциями полиморфного вида диатомовой водоросли *Nitzschia palea*". По конкурсу научных проектов, выполняемых молодыми учеными под руководством кандидатов и докторов наук в научных организациях Российской Федерации, руководитель проекта к.б.н. Н.А. Давидович;

грант РФФИ и Совета министров Республики Крым № 17-44-92021_р_а "Диатомовые рода *Pseudo-nitzschia*: распространение у берегов Крыма, жизненный цикл, токсикогенная активность"(2017–2018 г.), руководитель проекта к.б.н. Н.А. Давидович;

программа фундаментальных научных исследований на 2013-2020 гг. РАН, тема НИР № 0830-2015-0002 (2016–2018 гг.) "Изучение жизненных циклов и систем воспроизведения диатомовых водорослей", № госрегистрации АААА-А16-116022510089-9, руководитель темы к.б.н. Н.А. Давидович.

Цель исследования — изучить историю формирования представлений в области знаний, касающихся вопросов, связанных с полом и половым воспроизведением диатомовых водорослей, провести самостоятельные исследования с целью получения новых данных о репродуктивной биологии диатомовых, обобщить и систематизировать основные достижения, показать связь репродуктивной биологии диатомовых с другими науками и направлениями.

Задачи:

- изучить половой процесс, жизненные циклы и системы воспроизведения у отдельных видов диатомовых водорослей; установить особенности и общие закономерности;
- изучить действие абиотических факторов на половое воспроизведение диатомовых;

- определить механизм детерминации пола у гетероталлически воспроизводящихся видов;
- изучить способ доставки гамет к месту слияния у неподвижных бесшовных пеннатных диатомовых;
- установить характер наследования митохондрий у диатомовых, связав его с полом;
- изучить репродуктивную совместимость географически удаленных популяций отдельных видов.

Объект и предмет исследования. *Объект исследования* — диатомовые водоросли (Bacillariophyta, в некоторых системах диатомовые рассматриваются на уровне класса Bacillariophyceae).

Предмет исследования — половая репродукция диатомовых, и все связанные с ней вопросы, включая:

- жизненные циклы,
- половой процесс,
- системы скрещивания,
- принципы определения и наследования пола,
- закономерности наследования признаков, связанных с полом,
- репродуктивные барьеры,
- репродуктивные отношения между популяциями,
- микроэволюционные процессы, связанные с половым воспроизведением.

Методология и методы исследования. В плане общенаучной методологии, в рамках ее практического аспекта, в работе использованы два основных подхода — наблюдение и эксперимент. Для доказательств применялись принципы непосредственной верификации, когда происходит прямая проверка утверждений в эксперименте или в ходе наблюдения (например, описание типов полового процесса у отдельных видов), а также косвенной верификации, когда устанавливаются логические отношения между верифицируемыми утверждениями (например, при описании схемы детерминации и наследования пола в результате анализа гомоталлического воспроизведения раздельнополых видов). Концептуальный анализ видового разнообразия и биогеографии видов основан на использовании ряда постулатов общебиологических теорий (в частности, теории эволюции и теории репродуктивной изоляции).

Эксперименты выполнялись в лабораторных условиях преимущественно с клоновыми культурами водорослей. Клоновые культуры выделены из проб, отобранных в природных популяциях. Клоны использованы неаксеничные, допускалось присутствие бактерий, простейших. Для содержания клонов приняты условия, которые можно определить как стандартные, включая:

- содержание в среде известного состава (морские — в искусственной морской воде, приготовленной по рецепту ESAW, пресноводные — в среде DM, подробнее см. в разделе "Методы исследования") при концентрации солей, соответствующей естественному уровню для изучаемой популяции,
- освещение естественное со стороны северного окна (попадание прямых солнечных лучей исключается),
- сосуды для содержания, изготовленные из стекла (чашки Петри либо конические колбы Эрленмейера),
- температура на уровне $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$, постоянно поддерживаемая круглый год.

В зависимости от вида и условий содержания продолжительность жизненного цикла диатомовых водорослей может составлять от нескольких месяцев до нескольких лет. Все это время культуры необходимо поддерживать не только в жизнеспособном состоянии, но и в фазе экспоненциального роста численности, для чего регулярно, с периодичностью от 5 до 20 дней должны осуществляться пересевы в свежую среду. Частота (периодичность) пересевов зависит от вида, температуры и освещенности. В большинстве случаев мы осуществляем пересевы еженедельно. Поддержание в фазе экспоненциального роста исключает появление тератогенных изменений формы и структуры панциря, а также у диатомовых является принципиальным условием для перехода к процессу полового воспроизведения.

Длительное содержание клонов в культуре позволяет изучить все этапы жизненного цикла, проследить за морфологическими и физиологическими превращениями клеток, сопряженными с его прохождением. Половое воспроизведение может быть обнаружено в клоновых культурах и в смешанных посевах сексуально совместимых клонов. Репродуктивная совместимость/изоляция проверяется в смешанных посевах. Репродуктивная совместимость доказывается фактом появления жизнеспособного потомства. Получение потомства в первом поколении (*F1*) говорит о репродуктивной совместимости и возможности гибридизации, однако, если речь идет о выяснении видовых границ, это не может служить окончательным доказательством конспецифичности ввиду возможной инфертильности полученных гибридов. В таком случае необходимо получить потомство *F2* или осуществить возвратное скрещивание. Отсутствие скрещиваемости доказывается многими повторами, т.к.

нельзя исключить несоответствия условий эксперимента одному или нескольким факторам из комплекса факторов, определяющих возможность полового воспроизведения.

Принципиально важным в применяемом методическом подходе является использование клоновых культур. Клоновые культуры (К.С. Мережковский называл их "выводками" [Мережковский, 1903]) используются в диатомологии давно, начиная с Микеля [Miquel, 1892], однако принципиальное значение они приобретают при изучении жизненного цикла, закономерностей определения и наследования пола, и особенно систем скрещивания.

Объекты исследования имеют характерные размеры, попадающие в микронный диапазон (микромир), поэтому основной метод наблюдения — оптическая микроскопия, осуществляемая в прижизненном состоянии, при увеличениях 40–1600 крат, обычно при увеличении близком к 600-т кратному. Для того, чтобы исключить нарушение хода процессов, наблюдения осуществляли преимущественно с использованием водоиммерсионных объективов, погружаемых непосредственно в сосуды с культурами. Такой подход позволяет не только оставлять клетки интактными, но и дает возможность выполнить наблюдения в несколько этапов, с перерывами.

Научная новизна полученных результатов. Впервые получены, установлены и описаны следующие данные, явления и закономерности.

У 11 видов диатомовых изучен жизненный цикл, определены кардинальные пункты жизненного цикла, обнаружен и описан половой процесс, дана характеристика типа полового процесса, описаны его схема и детали; изучена система скрещивания, указана степень доминирования гомо- и гетероталличного путей воспроизведения. В списке изученных видов токсикогенный представитель рода *Pseudo-nitzschia* Н. Peragallo — первый представитель рода, у которого описано половое воспроизведение.

Выявлена общая для диатомовых тенденция расположения кардинального пункта — критической границы размеров клеток, которая определяет переход от вегетативной фазы жизненного цикла к генеративной, на уровне 50% от максимального видоспецифического размера.

На основе критерия репродуктивной совместимости/изоляции установлено наличие двух комплексов криптических видов, объединенных ранее под названиями *Haslea ostrearia* и *Nitzschia longissima*.

Описан новый вид диатомовой водоросли *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget, которая способна синтезировать еще один, ранее неизвестный пигмент из группы мареннинов — уникальных водорастворимых пигментов синего цвета.

Установлена репродуктивная совместимость трансатлантических популяций *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen, *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) Williams and Round. Показаны границы репродуктивной совместимости популяций *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère, обитающих на Евразийском континенте. Обнаружена постзиготическая репродуктивная изоляция восточно- и западноевразийских популяций.

Изучены фотофизиологические реакции ауксоспорообразования у представителей родов *Nitzschia* Hassall и *Haslea* Simonsen.

Доказана схема детерминации и наследования пола у пеннатных диатомовых, предполагающая диплогенотипический характер наследования, при котором женские организмы являются гомогаметными, а мужские — гетерогаметными и гетероаллельными в отношении половых факторов.

Впервые для диатомовых установлен порядок наследования митохондрий по линии одного из полов — унипарентальное наследование.

Открыт новый механизм движения гамет, характерный не только для отдельных бесшовных пеннатных диатомовых, но и, по всей видимости, вообще не встречавшийся ранее у эукариот.

Установлен факт конвергентной эволюции, связанный с появлением у *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow – представителя полярных центрических диатомовых из семейства Toxariales – свойств, характерных для пеннатных диатомовых, таких как неоогамный половой процесс, переход от эпигенетической к генетической регуляции пола, изменение системы скрещивания (от гомоталлизма к гетероталлизму).

Теоретическая значимость полученных результатов. В настоящей работе мы соединяем воедино и систематизируем логически связанные разделы направления исследований, обозначенного как репродуктивная биология диатомовых водорослей. Введение понятия репродуктивной биологии диатомовых водорослей как самостоятельной дисциплины (направления исследований), не только задает вектор исследования, но и создает необходимые предпосылки для того, чтобы сумма накопленных знаний была представлена не простым набором фактов, а логически стройным, очерченным направлением, объединенным своими объектом, предметом, задачами, методами, подходами, терминологией.

Полученные нами результаты и обобщения о положении верхней критической границы диапазона размеров, допускающих половое воспроизведение (Davidovich, 2001), не только развивают теорию жизненного цикла, но и делают важный акцент в трактовке и использовании, прежде всего систематиками, данных о диапазоне размеров клеток у вида —

верхняя и нижняя границы диапазона размеров должны отличаться не менее чем в два раза. К сожалению, в диатомологической литературе, включая описания диагнозов видов, нередко встречаются явно зауженные диапазоны, причём без указания количества измеренных клеток.

Одним из важнейших полученных нами результатов следует считать доказательство гетерогаметности мужского пола и гомогаметности женского у пеннатных диатомовых (Давидович, 2002; Davidovich *et al.*, 2004; Давидович, Давидович, 2010). Доказательства получены при изучении потомства, появившегося вследствие внутриклонового воспроизведения генетически двудомных видов: двух из рода *Nitzschia* Hassall, двух из рода *Tabularia* (Kützing) D.M.Williams & Round, одного из рода *Ulnaria* (Kützing) Compère и одного из рода *Haslea* Simonsen, т.е. представителей как шовных, так и бесшовных пеннатных диатомей.

Принципиальным мы считаем также впервые полученное доказательство унипарентального (т.е. по линии одного пола) наследования митохондрий у диатомовых (Gastineau *et al.*, 2013), что удалось сделать благодаря изучению географически удаленных, но репродуктивно совместимых популяций *Haslea ostrearia*, накопивших устойчивые генетические различия в митохондриальных генах (Gastineau *et al.*, 2010), а также описанию гетероталлического пути в системе скрещивания вида (Davidovich *et al.*, 2009). В настоящий момент данные об унипарентальном наследовании митохондрий получены пока только для одного вида, предстоит убедиться в том, что это справедливо для всех диатомовых. Однако, установленный принцип наследования, при условии его универсальности у диатомовых, создает фундамент и открывает широкие перспективы для филогеографических исследований и реконструкций расселения и распространения раздельнополых гетероталлически воспроизводящихся видов, которые невозможно выполнить без понимания того, что определенные признаки передаются из поколения в поколение по линии только одного из полов.

Существенным феноменологическим наблюдением мы считаем открытие принципиально нового типа движения гамет, обеспечивающего их перемещение и сингамию у неподвижных бесшовных пеннатных диатомовых (Davidovich *et al.*, 2012).

Развитие методов репродуктивной биологии со всей очевидностью показало, что использование критерия скрещиваемости/нескрещиваемости, основанного на биологической концепции вида [Dobzhansky, 1935, 1937, 1950, 1970; Майр, 1942, 1963, 1969, 1974, 2000], и постановка экспериментов по скрещиванию — теоретически и практически важнейший инструмент в установлении видовой принадлежности и оценке видового единства популяций у диатомовых [Cherurnov *et al.*, 2004; Давидович, 2009, 2010; Amato, 2011]. Репродуктивный

критерий не всегда легко применить на практике, однако концептуальная значимость использования репродуктивного критерия не вызывает сомнений [Amato, 2010]. Особенно важен он в принципиальных случаях, например, для верификации расхождений между видами/популяциями, которые были установлены при помощи морфологических и молекулярно-генетических методов, но представляются спорными или сомнительными. Руководствуясь биологической концепцией, скрещиваемость/нескрещиваемость можно считать абсолютным критерием для установления видовых границ. Данные экспериментов по скрещиванию позволили нам обнаружить существование вначале двух, а впоследствии и большего количества репродуктивно изолированных видов из рода *Haslea* [Davidovich *et al.*, 2012; Gastineau *et al.*, 2012], способных синтезировать уникальные водорастворимые синие пигменты. В результате это привело к открытию комплекса видов и соответствующего комплекса мареннин-подобных пигментов [Gastineau *et al.*, 2014].

Многие научные программы посвящены изучению расселения и биогеографии видов, при этом использование репродуктивного критерия может, как показали наши исследования [Davidovich *et al.*, 2010; Podunay *et al.*, 2014], и должно служить установлению пространственных видовых границ, особенно в случае аллопатрических популяций.

Поскольку репродуктивный барьер выступает с одной стороны как критерий делимитации видов, а с другой стороны, установление биологического репродуктивного барьера само по себе является эволюционным фактором и механизмом дивергенции видов, применяемые нами подходы могут быть задействованы при изучении микроэволюционных явлений, являющихся основой видообразования, о чем свидетельствуют результаты наших работ. В этом смысле диатомовые водоросли выступают в качестве удобного объекта для экспериментальных исследований, а получаемые данные должны объяснить некоторые причины их очевидного эволюционного успеха.

Практическая значимость полученных результатов. Полученные результаты открывают перспективу их прикладного использования при поиске, выделении, выборе объектов для массового культивирования. Пользуясь установленными закономерностями, можно определять стратегию подбора видов и конкретных клонов для культивирования, экономить время, минимизировать затраты по содержанию культур. Полученными знаниями целесообразно руководствоваться при содержании клоновых культур, особенно в случае необходимости сохранения их генетической чистоты [Давидович и др., 2015].

Эффективная практическая работа по селекции штаммов невозможна без учета установленных закономерностей наследования пола, путей воспроизведения, определяющих

систему скрещивания вида. Знание системы скрещивания и умение задействовать отдельные пути воспроизведения позволяет сохранить в культуре генетическую чистоту селекционно значимых линий.

Представления о жизненном цикле дают возможность на практике манипулировать его продолжительностью, ускорять или замедлять наступление генеративной фазы, влиять на прохождение цикла [Давидович и др., 2015]. Последнее обстоятельство может быть использовано как для предсказания развития популяции (что актуально, например, для токсикогенных видов), так и для управления ее развитием (при культивировании, когда отмечается изменение в жизненном цикле физиолого-биохимических свойств клеток).

Основные положения, выносимые на защиту.

1) Репродуктивная совместимость/изоляция является эффективным критерием видовой принадлежности у диатомовых, который а) показывает существование видовых комплексов; б) позволяет выполнить делимитацию видов, в том числе при установлении пространственных границ их распространения.

2) У диатомовых схема полового воспроизведения, рассматриваемая во всей совокупности цитологических проявлений, в большинстве случаев является родоспецифичной.

3) Пол у пеннатных диатомовых детерминирован диплогенотипически и у мужских клонов является гетерогаметным, а у женских — гомогаметным в отношении половых факторов.

4) Наследование митохондрий у диатомовых (показано на примере *Haslea ostrearia*) связано с полом и носит унипарентальный характер.

5) Доставка гамет к месту сингамии у ряда бесшовных пеннатных диатомовых осуществляется за счет особого типа движения, ранее неизвестного у эукариот.

6) У полярных центрических из семейства Toxariales в ходе эволюции утрачена оогамия и возник неоогамный способ воспроизведения — пример гомоплазии с пеннгаными диатомовыми.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием соискателя, выполнявшимся более 25 лет. Выбор и обоснование темы, задач, методов, анализ материала, обобщение и изложение полученных результатов выполнены автором лично. Представленные в настоящей работе данные получены автором лично, либо при непосредственном участии в коллективных работах (сбор и обработка проб, выполнение

экспериментов). При выполнении коллективных работ, автор чаще всего выступал в качестве инициатора (генератора идей), а также одного из исполнителей, осуществлявших получение данных. Большинство клонов, задействованных в работе, были получены из проб, собранных автором лично, либо при непосредственном участии. Автором выполнялись обработка и анализ полученных данных. В части некоторых анализов (генетический анализ, Рамановская спектроскопия) автор подготавливал базу для работ, включая изучение полового воспроизведения, системы скрещивания видов, выделение и подбор клонов. Работа написана самостоятельно. При использовании в диссертации материалов, опубликованных в совместных трудах, учтены и обозначены авторские права всех соавторов. Все иллюстрации в диссертации являются оригинальными или взяты из работ, написанных автором (лично или в соавторстве).

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации были представлены на многочисленных форумах, включая международные, где заслужили высокую положительную оценку, отмечены формально (отличия, грамоты), а также опубликованы впоследствии в трудах конференций, симпозиумов, совещаний в виде полноразмерных рецензируемых статей. *Личное участие:* Совещание диатомологов стран СНГ (VI школа по диатомовым водорослям), 15–18 мая 1995 года, г. Минск, Беларусь; VIII Международная конференция по опасным водорослям, 25–29 июня 1997 года, г. Виго, Испания; 16-й Международный симпозиум по диатомовым водорослям (16th International Diatom Symposium), 25–27 августа 2000 года, г. Афины; 28 августа – 1 сентября 2000 года, острова Эгейского моря, Греция; Международный семинар по теме: "LIFENAB: Жизненные циклы микроводорослей, вызывающих опасные цветения" (The workshop "LIFENAB: Life history of microalgal species causing harmful blooms"), в рамках программы FP-5 под эгидой Комиссии Европейского Сообщества; 24–27 октября 2001 года, г. Кальвия, Мальорка, Испания; III съезд Гидроэкологического общества Украины, 23–27 сентября 2001 года, г. Тернополь, Украина; Первый (инагуральный) украинский конгресс по клеточной биологии (The First (Inaugural) Ukrainian Congress for Cell Biology), 25–28 апреля 2004 года, г. Львов, Украина; 18-й Международный симпозиум по диатомовым водорослям (18th International Diatom Symposium), 2–7 сентября 2004 года, г. Миедзиздрой, Польша; III; Международная конференция "Актуальные проблемы современной альгологии", 20–23 апреля 2005 года, г. Харьков, Украина; IV съезд Гидроэкологического общества Украины, 26–29 сентября 2005 года, Карадаг, Крым, Украина; X Международная научная конференция диатомологов стран СНГ, 9–14 сентября 2007 года, г. Минск, Беларусь; V съезд Гидроэкологического общества

Украины, 7–10 сентября 2010 года, г. Житомир, Украина; XII Международная конференция диатомологов, 19–24 сентября 2011 года, г. Звенигород, Россия; 22-й Международный симпозиум по диатомовым водорослям (22nd International Diatom Symposium), 26–31 августа 2012 года, г. Гент, Бельгия; XIII Международная научная конференция альгологов (XIII Диатомовая школа) "Диатомовые водоросли: современное состояние и перспективы исследований", 24–29 августа 2013 года, п. Борок, Ярославская область, Россия (пленарный доклад); 9-й Митинг диатомологов центральной Европы (9th Central European Diatom Meeting), 10–13 марта 2015 года, г. Бремерхавен, Германия; XIV Международная научная конференция диатомологов «Диатомовые водоросли: успехи, проблемы и перспективы исследований», посвященная 160-летию со дня рождения К.С. Мережковского 24–29 августа 2015 года, г. Звенигород, Россия; Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Морские биологические исследования: достижения и перспективы», приуроченная к 145-летию Севастопольской биологической станции – первого в России морского научного учреждения, 19–24 сентября 2016 года, г. Севастополь, Россия; 11-й Международный фикологический конгресс (11th International Phycological Congress), 13–19 августа 2017 года, г. Щецин, Польша; XIII Международная научная конференция альгологов (XIII Диатомовая школа), 24–27 августа 2017 года, п. Борок, Ярославская область, Россия; Годичное собрание Общества физиологов растений России, 18–24 сентября 2017 года, Судак, Республика Крым, Россия; 25-й Международный симпозиум по диатомовым водорослям (25th International Diatom Symposium, 25–30), июнь 2018 года, г. Берлин, Германия; IV Всероссийская научная конференция с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии, экологии и использование в мониторинге», 24–28 сентября 2018 года, г. Санкт-Петербург, Россия.

Материалы были также представлены *заочно* на следующих коллоквиумах, конференциях, симпозиумах: 25^{ème} Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), 25–28 Septembre 2006, Caen, France; Cinquantenaire de la Société Phycologique de France, 20–21 Décembre 2006, Paris, France; 27^{ème} Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), Septembre, 2008, Dijon, France ; Colloque Algimac, Société Phycologique de France, Décembre 2008, Concarneau, France ; 20th International Diatom Symposium (IDS), 7–13 September 2008, Dubrovnik, Croatia; 57th winter meeting of the British Phycological Society, 5–7 January 2009, Londres, the UK ; 28^{ème} Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), 7–10 Septembre 2009, Banyuls sur Mer, France ; 58th winter meeting of the British Phycological Society, 7–8 January 2010, Oban, the UK; 29^{ème}

Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), 2010, Québec, Canada; 59th winter meeting of the British Phycological Society, 5–7 January 2011, Cardiff, the UK; IV Международная конференция "Актуальные проблемы современной альгологии", 23–25 мая 2012 года, г. Киев, Украина; 8th Asia-Pacific Conference on Algal Biotechnology (APCAB): Algae for the Future and 1st International Conference on Coastal Biotechnology (ICCB), 9–12 July 2012, Adelaide, Australia; 31^{ème} Colloque de l'Association des Diatomistes de Langue Française (ADLaF), September, 2012, Le Mans, France; 23rd International Diatom Symposium (IDS), 07–12 September 2014, Nanjing, China; 24th International Diatom Symposium (IDS), 21–26 August 2016, Québec, Canada.

Публикации. Всего автором самостоятельно и в соавторстве опубликовано 156 научных работ общим объемом свыше 74 авторских листов, в том числе по теме диссертации 108 работ (более 55 авторских листов). Из публикаций по теме диссертации 50 статей представлены в периодических реферируемых научных журналах, в том числе 32 в изданиях, включенных в международные наукометрические базы данных (Web of Science, Scopus), из них 5 в журналах первого и второго квартилей.

Структура диссертации. Диссертация состоит из следующих разделов. Введение, в котором описывается актуальность темы, связь работы с научными программами, планами, темами, цель и задачи исследования, объект и предмет исследования, методический подход, научная новизна полученных результатов, практическая значимость полученных результатов, личный вклад соискателя, апробация результатов диссертации, количество публикаций автора, благодарности. Далее идут 12 основных разделов диссертации, выводы, заключение, список сокращений и условных обозначений, словарь терминов, список цитируемой литературы (365 источников, из них 282 на иностранных языках), список таблиц и иллюстраций, приложение. Диссертация изложена на 302 страницах, включает 81 рисунок и 16 таблиц в тексте, часть материала размещена в Приложении. Текстовая часть представлена в объеме 11 авторских листов.

Благодарности. Автор благодарен всем, принявшим прямое и косвенное участие в подготовке работы, за внимание, доброжелательные советы, помощь, отбор проб, конструктивную критику. Особая благодарность Ольге Ивановне — ассистенту, помощнику и спутнику по жизни — за неоценимую фактическую помощь в выполнении экспериментов, обсуждение результатов, поддержку и терпение. Хочу выразить глубокую признательность

зарубежным коллегам: Dr. Stephan S. Bates (Department of Fisheries and Oceans, Gulf Fisheries Centre, Canada); Prof. Irena Kaczmarska (Department of Biology, Mount Allison University, Canada); Dr. Jean-Luc Mouget (Laboratoire de Physiologie et de Biochimie Végétales, Université du Maine, France); Prof. Andrzej Witkowski, Dr. Romain Gasineua (Natural Sciences Research and Educational Center and Palaeoceanology Unit, Faculty of Geosciences, University of Szczecin, Poland).

Часть исследований поддержана грантами РФФИ, в том числе: № 14-04-90427_Укр_a (2014–2015 гг.), № 15-04-00237_a (2015–2016 гг.), № 17-44-92021 (2017–2018 гг.), № 19-04-00070_a (2019-2020 гг.).

Раздел 1

ДИАТОМОВЫЕ ВОДОРΟΣЛИ КАК ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диатомовые были открыты в начале 18 века неизвестным английским микроскопистом [Round *et al.*, 1990]. Однако они не попали в систему классификации К.Линнея, и поэтому никаких биномиальных научных названий для отдельных видов не существовало до тех пор, пока О. Мюллер (O.F. Müller) в конце 18 века не описал должным образом несколько видов [Mann, 2010]. Вплоть до середины 19 века подвижность клеток ряда диатомовых служила причиной дискуссии о возможной их принадлежности к животным, а не к растениям [Thwaites, 1847]. Безусловно, наличие хлоропластов заставляет отнести диатомовых к царству растений. Хлоропласты диатомовых водорослей имеют четырехслойную мембрану, свидетельствующую о двухэтапном симбиотическом происхождении, и оригинальный набор фотосинтетических пигментов, среди которых хлорофиллы *a* и *c*, в то же время нет хлорофилла *b*, и присутствуют каратиноиды: фукоксантин, диадиноксантин, диатоксантин. По одному из современных суждений диатомовые являются классом Bacillariophyceae Haeckel, 1878 emend D.G. Mann in Round *et al.*, 1990 в типе гетероконтных (Heterokontophyta Moestrup, 1992; синоним Ochrophyta Cavalier-Smith, 1998) царства Chromista империи Eukaryota [Round *et al.*, 1990; Карпов, 2001]. По другим представлениям диатомовых поднимают на ранг выше, до типа Bacillariophyta Engler & Gild, 1924 [Масюк, Костіков, 2002; Adl *et al.*, 2005].

Группа диатомовых водорослей эволюционно сравнительно молода, но при этом она включает порядка 100 тысяч видов и является одной из самых разнообразных не только среди водорослей, но и среди всех эукариот [Mann, 1999; Mann, Vanormelingen, 2013]. В эволюционном плане диатомовые довольно уникальны. Считается, что они произошли в результате нескольких последовательных актов симбиогенеза (эндосимбиоза) изначально гетеротрофного организма с другими водорослями [Archibald, 2009; Armbrust, 2009; Björn, Cronberg, 2009; Medlin, 2011; Mock, Medlin, 2012]. В результате в геноме диатомовых, помимо генов исходного гетеротрофного эукариота, инкорпорированы гены организмов-симбионтов — зеленой [Moustafa *et al.*, 2009] и красной водорослей [Bowler *et al.*, 2008], а за счет горизонтального переноса они получили гены бактерий и простейших. У диатомовых обнаруживается рекордное количество генов, заимствованных на разных этапах эволюции, в том числе и организмами-симбионтами, у различных прокариот: цианобактерий, протеобактерий, архей [Bowler *et al.*, 2008]. Такой политипичный генетический набор обуславливает необычные свойства и возможности диатомовых, включая нетривиальные пути биосинтеза [Armbrust, 2009; Rastogi *et al.*, 2015].

Одна из уникальных особенностей диатомовых — наличие кремнеземного панциря, расположенного поверх плазмалеммы, состоящего из двух несросшихся между собой половинок. Форма и структура панциря характеризуется высокой видовой специфичностью [Round *et al.*, 1990], благодаря чему внимание исследователей долгое время фиксировалось преимущественно на изучении разнообразия форм и деталей его строения. В течение 300 лет для многих диатомологов мертвые панцири служили едва ли не единственным предметом изучения. Неоправданно мало внимания уделялось изучению клеток в живом состоянии. Первые работы, касающиеся полового воспроизведения диатомовых, появились в середине 19 века [Thwaites, 1847; Griffith, 1855; Smith, 1856; Carter, 1856, 1865; Pritchard, 1861; Lüders, 1862]. В те времена для описания полового воспроизведения использовался термин "конъюгация".

Не останавливаясь на деталях, заострим внимание лишь на тех моментах, которые важны для последующего изложения. Во-первых, традиционное разделение диатомовых на центрических и пеннатных было вполне обосновано не только характерным строением панциря — в общем плане центрально симметричном у первых и двусторонне симметричном у вторых, — но также типом полового процесса и различающимся механизмом детерминации пола (подробнее см. раздел 8.1).

Центрические диатомовые представлены двумя группами, которые существенно различаются по морфологии, способу формирования и структуре ауксоспор. Принимая во внимание симметрию клеток, их называют радиальными и би-(мульти-)полярными, или просто полярными. Филогенетический анализ, выполненный на основании молекулярных генетических последовательностей, показывает, что обе группы центрических диатомовых образованы парафилетическими ветвями [Theriot *et al.*, 2009, 2010].

Пеннатные диатомовые являются монофилетической группой [Medlin, 2015, 2016]. Среди пеннатных можно выделить бесшовных и шовных, в зависимости от присутствия шва — либо на одной (одношовные), либо на обеих створках (двушовные). Никаких ископаемых остатков, которые бы служили ключевыми эволюционными переходами от центрических к пеннатным и от бесшовных пеннатных к шовным, пока не обнаружено [Sims *et al.*, 2006].

Недавно была предложена классификация диатомовых, принимающая во внимание не только морфологию и строение панцирей, но также типы полового процесса, типы и строение ауксоспор и молекулярно-генетические последовательности [Medlin & Kaczmarska 2004]. Эта система включает три класса: неполярные центрические (*Coscinodophyceae*), полярные центрические (*Mediophyceae*) и пеннатные (*Bacillariophyceae*). Последние получаемые молекулярно-генетические данные подтверждают правильность такого разбиения [Li *et al.*,

2015; Nakov *et al.*, 2018]. Некоторые исследователи выделяют четыре главных линии эволюции, принимая в расчет бесшовных пеннатных [Armbrust, 2009], и для этого есть серьёзные предпосылки [Nakov *et al.*, 2018].

Диатомовых относят к группе гетероконтных (Heterokonta или Stramenopiles), т.е. разножгутиковых, куда, помимо некоторых грибов и простейших, входят еще шесть отделов водорослей, таких как бурые (Phaeophyta), золотистые (Chrysophyta), желто-зеленые (Xanthophyta), евстигматофитовые (Eustigmatophyta), диктиофитовые или силикофлагеллаты (Dictyochophyta) и рафидофитовые или хлоромонады (Raphidophyta). Основным признаком гетероконтных является наличие двух жгутиков, неодинаковых по строению и длине (у диатомовых они обнаруживаются — представлены в клетке одним жгутиком — исключительно на стадии гамет у центрических видов), на поверхности которых имеются трехчленные волоски — мастигонемы (ретронемы); однако, их объединяет еще ряд признаков, в частности, вторично-симбиотический характер происхождения пластид, общность пигментов (хлорофиллы **a** и **c** и специфический набор каротиноидов), сходство строения митохондрий (трубчатые кристы) и продуктов ассимиляции (хризоламинарин). В схеме родственных связей основных групп живых организмов, базирующейся на современных молекулярных данных, водоросли вообще занимают не компактное, как в прежних схемах, а диффузное положение. Непосредственные тесные родственные связи обнаружены лишь среди указанных водорослей-страменопилов, которые представляют собой монофилетическую хромофитную линию эволюции, и группы водорослей, относящихся к Plantae — "настоящим" растениям [Масюк, Костіков, 2002].

Раздел 2

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕПРОДУКЦИИ ДИАТОМОВЫХ

Репродуктивная биология, или биология воспроизведения, — это раздел биологии, предметом изучения которого является половое воспроизведение организмов во всех аспектах. Перед репродуктивной биологией стоят проблемы, касающиеся разных уровней организации: на молекулярном уровне — это раскрытие генетических основ проявления и закономерностей наследования в поколениях пола и связанных с ним факторов; на клеточном уровне (для одноклеточных он же организменный) — изучение особенностей мейоза, типов полового процесса, изучение полового поведения; на популяционном уровне — выявление репродуктивных барьеров; на видовом уровне — изучение жизненных циклов, систем скрещивания [Давидович, 2009].

Автору известно в настоящее время более 900 печатных работ, непосредственно касающихся тех или иных вопросов репродуктивной биологии диатомовых. Анализ динамики этого, далеко не полного перечня, позволяет убедиться в экспоненциальном характере роста общего числа публикаций (рисунок 2.1). Участие отдельных, ныне работающих авторов,

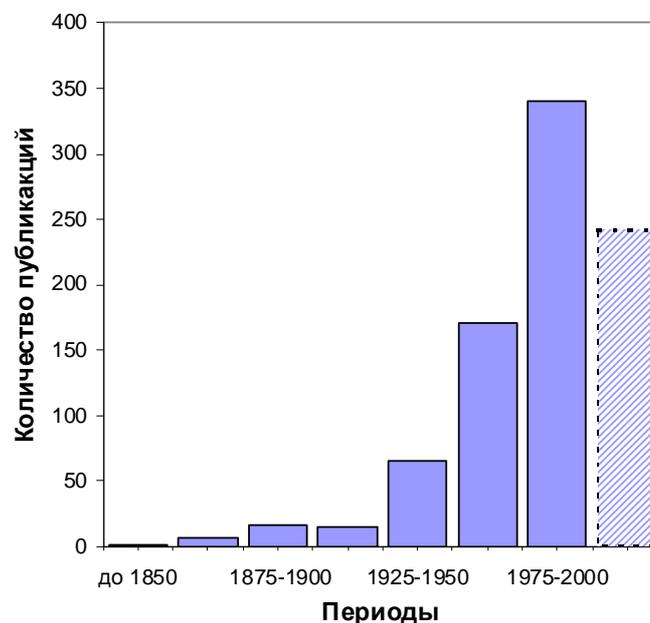


Рисунок 2.1 — Динамика количества публикаций, посвященных вопросам репродуктивной биологии диатомовых водорослей. По данным работы [Давидович, 2009], с уточнением за последний период

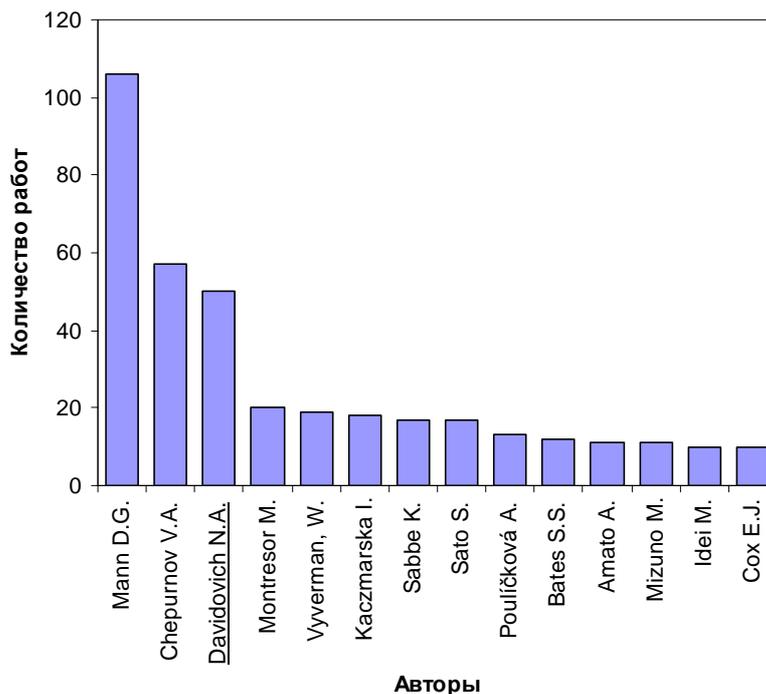


Рисунок 2.2 — Количество публикаций по репродукции диатомовых отдельных авторов, работающих в настоящее время. При обработке имеющейся базы данных, актуальной на середину 2016 года, в расчет принимались статьи, краткие сообщения (за исключением тезисов), монографии и главы монографий

неравномерное (рисунок 2.2): лидером по публикациям в этой области следует безоговорочно признать Дэвида Манна (D.G. Mann). Несмотря на большое количество опубликованных данных, приходится, однако, констатировать, что целостного понятия о репродуктивной биологии, как о самостоятельном направлении исследований, в отношении диатомовых пока еще не сложилось. Отдельные аспекты жизненных циклов, репродукции диатомовых стали изучаться с того момента, когда вскоре после изобретения микроскопа в конце 17 – начале 18 веков исследователи обнаружили [например, Leeuwenhoek, 1703, цит. по Round *et al.*, 1990], что в капле воды в изобилии встречаются одноклеточные организмы, обладающие панцирем с причудливым орнаментом, причем разные виды имеют разную форму и структуру панциря. Позднее выявилась кремнеземная природа панциря, устойчивого к щелочам и кислотам, и таким образом было заложено и впоследствии сформировалось мощное направление исследований, связанное с изучением только этой, неживой составляющей диатомовых водорослей. Со временем это направление надолго стало доминирующим в изучении диатомовых, возможно, в связи с необходимостью классификации объектов, при том, что панцири, ввиду высокой видоспецифичности их строения, на определенном этапе служили

прекрасной основой для таксономических исследований. Практически вся таксономия диатомовых водорослей была построена на основе различий в строении панцирей. С изобретением в середине 20 века электронной микроскопии разрешение, с которым стали видны детали строения панцирей, существенно возросло, и это расширило возможности по описанию и идентификации видов, однако не изменило главного принципа — исследователи продолжали иметь дело с мертвыми панцирями. В определенной мере такая особенность организации диатомовых, как наличие трудноразрушаемого кремнеземного панциря, имела весомые преимущества, ибо позволяла изучать их ископаемые остатки. Сложились школы диатомологов, прекрасно разбиравшихся в деталях строения панциря, и практически не интересовавшихся протопластом клеток.

2.1 Эволюция представлений о типах полового процесса

С самого начала истории изучения диатомовых находились, однако, исследователи, внимание которых привлекали не панцирь, а превращения и процессы, происходящие с живыми клетками. Прежде всего, обращали внимание на подвижность клеток некоторых видов, из-за чего дискуссия о принадлежности диатомовых к царству растений велась вплоть до середины 19 века [например, Thwaites, 1847, детальнее см. Round *et al.*, 1990]. Эту дискуссию можно воспринять как курьез, однако она находит свое продолжение в свете современных представлений о симбиотическом характере эволюции органического мира, когда диатомовые предстают как продукт симбиогенеза гетеротрофного и автотрофного организмов [Armbrust, 2009].

В середине 19 века появилась серия работ, описывающих половое воспроизведение диатомовых, для чего использовали термин "конъюгация" [Thwaites, 1847; Griffith, 1855; Smith, 1856; Carter, 1856, 1865; Pritchard, 1861; Lüders, 1862]. Закономерно, что, отмечая разнообразие "форм развития", авторы зачастую неполно или не вполне корректно, если судить с позиций сегодняшнего уровня знаний, интерпретировали сущность наблюдаемых процессов. Однако, поражают тщательность описания, внимание к деталям и натурализм исполнения рисунков — единственного средства документирования в то время. Предпринимались попытки классифицировать изрядное количество накопившихся наблюдений. Так, если Г. Твайтс [Thwaites, 1847], говоря о конъюгации диатомовых, отмечал лишь ее "исключительное многообразие", то уже, например, заслуга В. Смита [Smith, 1856], как отметил А. Притчард [Pritchard, 1861] состояла в том, что он привел все известные формы конъюгации к четырем главным. Чуть позже Г. Клебан [Klebahn, 1896] выделил пять типов

ауксоспоруляции [цит. по Mann, 1993a]. Дальнейшее развитие система получила благодаря трудам Г. Карстена [Karsten, von, 1898, 1899, 1900a, 1900b, 1912], затем Ф. Хустедта [Hustedt, 1930], и, наконец, последняя наиболее детальная попытка классификации типов полового процесса, с упором на пеннатных, была предложена Л. Гайтлером [Geitler, 1932, 1973]. Помимо отдельного типа полового процесса, присущего центрическим (оогамия), у пеннатных были выделены четыре основных типа. В основу классификации были положены такие признаки, как:

- количество гамет, формирующихся в каждом из гаметангиев, участвующих в половом процессе, соответственно, количество образующихся зигот и ауксоспор;
- изогамность/анизогамность;
- конфигурация гаметангиев при спаривании;
- наличие или отсутствие перегруппировки гамет внутри гаметангиев;
- взаимное расположение гаметангиев и ауксоспор;
- наличие или отсутствие выделяемой гаметангиями слизи, копуляционных каналов.

Гайтлер выделял четыре главных типа, основываясь в первую очередь на количестве гамет, порождаемых гаметангиями, и соответственно ауксоспор в парах гаметангиев. Тип I предусматривает формирование парой клеток-половых партнеров двух ауксоспор. Тип II подразумевает формирование одной ауксоспоры в гаметангиальной паре. Третьим типом является аутомиксис, который подразделяется на педогамию и аутогамию. Для диатомовых описан также апомиксис — фактически бесполое воспроизведение — включенное, однако, в систему как отдельный четвертый тип. Первый и второй типы в свою очередь разбиваются на подтипы в зависимости от изогамного или анизогамного поведения гамет. Затем, в соответствии с изложенными выше критериями, идет дальнейшая детализация подтипов.

Система классификации, предложенная Гайтлером, была представлена без принципиальных изменений в более поздних обзорных работах [Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Mann, 1993a] и используется большинством современных авторов для практического описания и сравнения типов наблюдаемого полового процесса [Chernov *et al.*, 2004; Amato, 2010]. Впрочем, новые наблюдения приносят новые данные, и возникает необходимость в дополнениях и дальнейшей модификации системы Гайтлера [Mizuno, 1994; Chernov, Mann, 2004]. Принципиальным моментом в построении системы является идея естественности, т.е. система должна отражать естественный эволюционный прогресс типов полового процесса. Поскольку система Гайтлера не в полной мере отвечает этому требованию (смотри, например, дискуссию в работах [Mann, 1993a; Chernov, Mann, 2004]), она непременно будет

подвержена ревизии, возможно даже, существенной, в зависимости от того, какие характеристики будут положены в основу классификации. Еще одним неудобством системы Гайтлера является отсутствие формальной логики в обозначении подтипов полового процесса: так анизогамия в пределах типа I обозначена буквой **A**, в то же время анизогамия в пределах типа II обозначается буквой **B** (а буква **A** служит для обозначения изогамии).

Нельзя назвать однообразными схемы оогенеза и сперматогенеза у центрических диатомовых [Drebes, 1997], их подробная классификация предложена М. Мизуно [Mizuno, 2006, 2008]. Оогенез у центрических бывает трех типов: тип 1, когда формируются две яйцеклетки, в каждой одно функциональное и одно пикнотическое ядро, тип 2 – формируются яйцеклетка, несущая функциональное и пикнотическое ядро и остаточное тело, тип 3 – только одна яйцеклетка с одним функциональным и двумя пикнотическими ядрами. При сперматогенезе вначале следует серия дифференцирующих митозов, превращающая мужские клетки в сперматогонии. После финального митоза сперматогоний становится сперматоцитом, а затем начинается собственно сперматогенез, который может быть гологенным или мерогенным [см. Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990].

Изучение полового процесса не исчерпало себя. С начала уже нынешнего века опубликовано более 30 оригинальных работ с описанием полового воспроизведения у разных видов диатомовых. Для продолжения работ по изучению типов полового процесса есть объективные причины, главная из них — сравнительно небольшое количество видов, для которых в той или иной мере изучено половое воспроизведение (таких немногим более 250), по отношению ко все возрастающему общему числу описанных видов диатомовых. При этом, исходя из представлений об устройстве панциря и закономерностях изменения его размера в жизненных циклах, можно утверждать, что половое воспроизведение присуще большинству диатомовых.

2.2 Изучение жизненных циклов диатомовых

Диатомовые являются диплоидными гапобионтами [Bold, Wynne, 1985], это означает, что в жизненном цикле доминирует только одна фаза, в которой организм диплоиден, смена поколений отсутствует. Гаметы, образующиеся в процессе полового воспроизведения, вследствие мейотической редукции, гаплоидны и существуют всего несколько минут или часов до момента слияния и формирования зиготы. Последующая кариогамия восстанавливает диплоидный набор хромосом (рисунок 2.3). В указанном смысле жизненный цикл диатомовых водорослей такой же, как у высших растений и животных (рисунок 2.4).

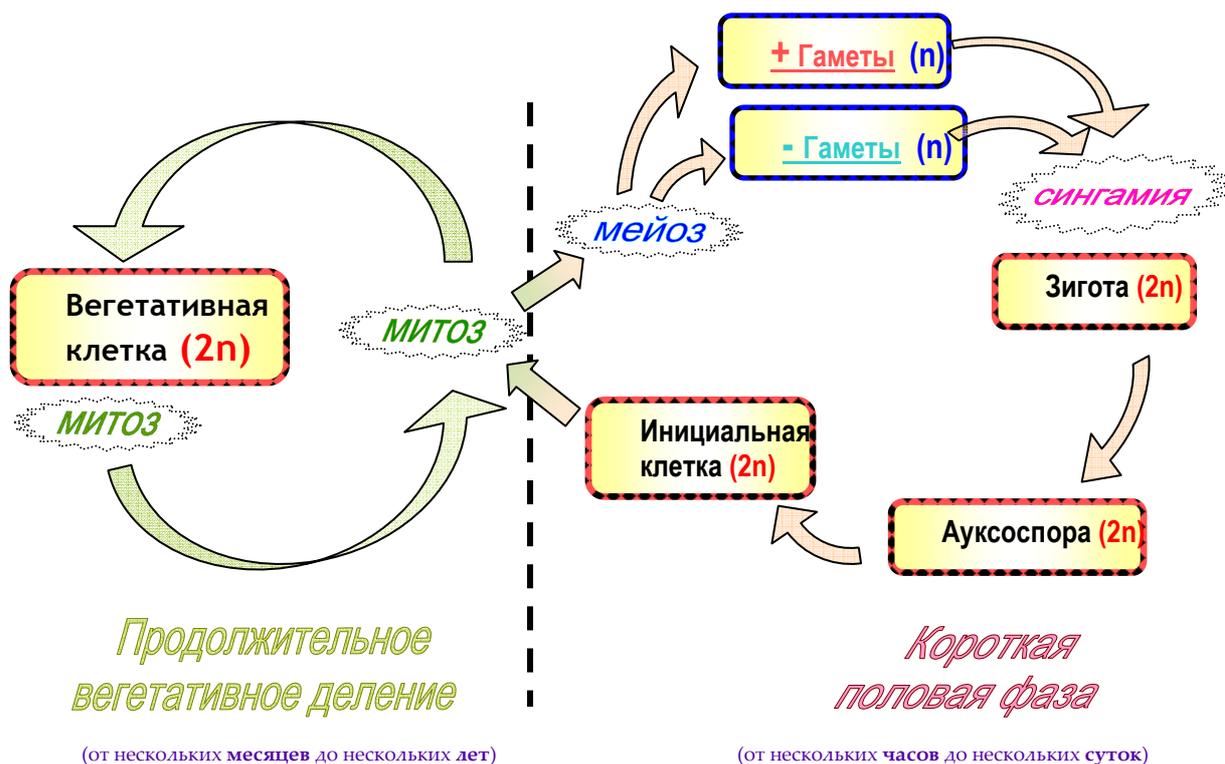


Рисунок 2.3 — Диатомовые – диплоидные гапобионты, в жизненном цикле которых присутствует продолжительный этап вегетативного размножения (в диплоидном состоянии) и короткий генеративный этап, когда в результате мейоза, происходящего в конечной фазе гаметогенеза, формируются гаплоидные гаметы; в результате их слияния образуется диплоидная зигота

В природной популяции один и тот же вид диатомовых водорослей представлен клетками разных размеров. Такое разнообразие естественно объяснить изменением клеточных размеров в течение жизни популяции. Было установлено, что по мере того, как клетки делятся вегетативным путем, их размер (вдоль апикальной оси у пеннатных или диаметр у центрических) постоянно уменьшается. При этом был раскрыт механизм уменьшения размера, связанный с особенностями построения панциря клеток диатомовых, состоящего из двух половинок (эпитеки и гипотеки, входящих друг в друга как коробка с крышкой или две половинки чашки Петри). При вегетативном делении у каждой из двух образующихся клеток достраивается внутренняя створка (гипотека), а обе створки материнской клетки становятся наружными (эпитеками). В результате одна из клеток остается такого же размера, а вторая оказывается чуть меньшей. Вследствие этого средний размер клеток в популяции в норме постоянно уменьшается. Восстановление исходных видоспецифических размеров у

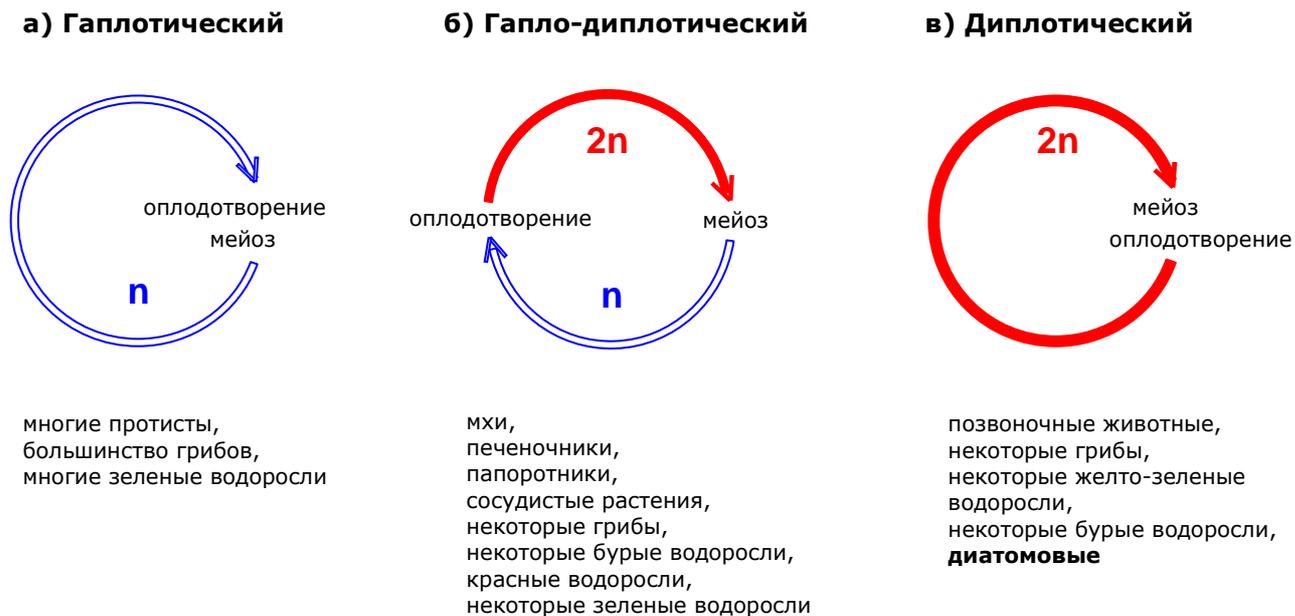


Рисунок 2.4 — Типы жизненных циклов и их распространение в природе [Gastineau *et al.*, 2014]

диатомовых осуществляется посредством формирования специфической клетки — *ауксоспоры*. Ауккоспора характерна исключительно для диатомовых, она способна сравнительно быстро (за нескольких часов) увеличиться в размерах на порядок величин. По завершении роста внутри ауксоспоры начинает формироваться инициальная клетка — первая вегетативная клетка новой генерации. При этом в результате двух последовательных ацитокинетических митозов откладывается сначала эпитека и затем гипотека. Указанная схема изменения размеров в жизненном цикле диатомовых впервые была изложена фактически одновременно Дж. МакДональдом [MacDonald, 1869] и Е. Пфитцером [Pfitzer, 1869; 1971] и сейчас носит название *правила МакДональда-Пфитцера* [Round, 1972; Chernov *et al.*, 2004].

В 20 веке исследования жизненных циклов были продолжены; особенно выразительны наблюдения и выводы Л. Гайтлера [Geitler, 1932, 1935], который установил, что к половому воспроизведению способны не все клетки в популяции, а только такие, размер которых стал меньше определенного критического ("кардинального пункта" по терминологии Гайтлера), и сохраняется эта способность до следующего кардинального пункта, ограничивающего снизу диапазон размеров, подходящих для полового воспроизведения. Верхняя граница диапазона размеров, допускающих сексуальную индукцию, в зависимости от видовой принадлежности

может находиться на уровне от 30 до 75% от максимального видоспецифического размера, однако для большинства исследованных видов лежит вблизи 50 % отметки [Davidovich, 2001b].

В теории кардинальных пунктов очень важным представляется вывод Гайтлера о том, что размерный и половой цикл взаимосвязаны, и образование аукоспор является неизменным атрибутом полового воспроизведения. Аукоспора, по сути, является результатом развития зиготы, сформировавшейся в итоге полового процесса. Следует оговориться, что известны также случаи формирования аукоспор путем апомиксиса и гаплоидного партеногенеза [Chernov *et al.*, 2004]. Аукоспора — это не просто "раздувшаяся" зигота. Формирование аукоспоры связано с разрывом оболочки зиготы и построением специфического кремнеземного "скелета". У пеннатных он устроен наиболее сложно, имеет название *перизониум* и состоит из поперечных и продольных, или только поперечных или же продольных колец и лент, придающих аукоспоре видохарактерную форму [Round *et al.*, 1990]. Инициальные клетки формируются внутри оболочек аукоспоры, как уже было сказано, путем последовательного отложения эпитеки и гипотеки. Структура и форма тек инициальной клетки слегка отличаются от обычных, характерных для вида.

Значительный вклад в развитие представлений о жизненных циклах диатомовых внес А.М. Роцин [Роцин, 1994б], работавший с клоновыми культурами водорослей. Им были описаны так называемые сложные жизненные циклы, когда в жизненном цикле встречаются несколько периодов полового воспроизведения, прерываемых периодами вегетативного размножения, а также случаи последовательного аукоспорообразования в несколько этапов, когда клетки, появившиеся из инициальных, через несколько делений опять вступают в половой процесс. Последнее, впрочем, легко объяснить тем, что размер инициальных клеток, появившихся в первом этапе, оказывается относительно небольшим и попадает в размерный диапазон, допускающий аукоспорообразование [Davidovich, 2001b].

При наличии принципиального сходства жизненный цикл у разных видов диатомовых может отличаться в деталях, иногда существенно. К таким существенным отличиям можно отнести, во-первых, отсутствие уменьшения размеров клеток у некоторых видов [Wiedling, 1943; Round, 1972], или у некоторых клонов в пределах вида, как наблюдалось, например, у *Asterionella formosa* Hassall [Давидович, 2005б]. Это приводит к продолжающемуся неопределенно долгое время бесполому размножению и ставит вопрос о наличии у этих видов полового воспроизведения вообще, что вступает в противоречие с общетеоретическим предположением о том, что оно должно присутствовать в жизненном цикле как обязательный этап.

Во-вторых, существует возможность альтернативных путей прохождения жизненного цикла, яркий пример тому — *Grammatophora marina* (Lyngbye) Kützing, у которой ауксоспоры возникают, помимо основного аллогамного полового процесса, также в результате внутриклонового ауксоспорообразования без копуляции гамет; инициальные клетки формируются как из ауксоспор, так и вегетативным путем; кроме того, существует вегетативное укрупнение и внезапное "скачкообразное" уменьшение клеток [Sato *et al.*, 2008b]. Аналогичным образом, многовариантным жизненным циклом обладает *Achnanthes longipes* C.A. Agardh [Chepurnov, Roschin, 1995; Chepurnov, Mann, 1997, 1999, 2000], и в принципе, все те виды, у которых гетероталлизм сочетается с гомоталлизмом (т.е. "однодомно-двудомные" виды по А.М. Рощину [Рощин, 1994б; Roshchin, Chepurnov, 1999]) и бесполом ауксоспорообразованием, например, в случае апомиксиса [Sabbe *et al.*, 2004]. Для диатомовых известна также гаплоидия и полиплоидия [Chepurnov, Roschin, 1995; Chepurnov *et al.*, 2004], однако при таком развитии событий жизненный цикл оказывается тупиковым. Возможность полиплоидного видообразования у диатомовых не изучалась.

В целом можно отметить, что основные черты жизненного цикла у диатомовых в высокой степени унифицированы, однако возможны вариации в деталях. Проявление потенциала, заложенного в системе воспроизведения конкретных видов диатомовых водорослей, зависит от того, с какой частотой и при каких обстоятельствах реализуется тот или иной вариант жизненного цикла в природных популяциях. Схема жизненного цикла в совокупности с системой скрещивания создают конкретные для каждого вида условия, в которых действуют механизмы изменения и сохранения генетического разнообразия, происходит эволюция видов.

2.3 Изучение систем скрещивания

Если типы полового процесса могут быть изучены в пробах, взятых из естественной среды, причем микроскопирование можно проводить вне лаборатории, непосредственно на водоеме, что и делали исследователи в 19 – начале 20 века, то изучение систем скрещивания невозможно без экспериментов с клоновыми культурами водорослей. Имея дело только с природными популяциями, легко придти к ошибочным выводам о существовании, например, определенных "рас" или "демов", которым присущи определенные типы полового процесса, хотя, на самом деле, это может быть ничем иным, как воплощением двух вариантов воспроизведения в пределах одного вида — гомоталличного *vs.* гетероталличного, что легко проверяется в экспериментах с клоновыми культурами. Клоновое культивирование, введенное

в диатомологию в конце 19 века Микелем [Miquel, 1892], явилось ключевым методическим подходом к изучению системы скрещивания

А.М. Рощин [1994б] серьезное внимание уделял поиску, в его терминологии, "однодомных" и "двудомных" поколений, поскольку считал, что у диатомовых возможно чередование поколений:

- способных исключительно к гетероталличному способу воспроизведения;
- способных к гетероталличному воспроизведению, сочетающемуся с гомоталличным.

В поисках ответа на вопрос о характере сочетания и последовательности этих поколений было изучено несколько видов, включая пеннатные и центрические, но механизм "переключения" поколений остался неясен. Следует, однако, заметить, что возможна альтернативная интерпретация данных, полученных А.М. Рощиным.

На большом количестве (около 70) клонов *Nitzschia longissima* (Brébisson) Grunow мы показали, что к внутриклоновому воспроизведению способны исключительно мужские клоны, хотя и не все они в равной мере проявляли такую способность [Давидович, 2001, 2002а; Davidovich, Bates, 2002; Davidovich *et al.*, 2006]. Принадлежность клонов к мужскому типу была установлена на морфологическом и генетическом уровнях, само явление было названо "андромиксис" [Davidovich *et al.*, 2006]. При таком подходе, исследователь, обнаруживший облигатный гетероталлизм клона, вправе предположить, что имеет дело с женским клоном, в то время как гетероталлизм, сочетающийся с гомоталлизмом, есть признак мужского клона, или, если рассматривать обобщенно, клона того пола, который допускает такое сочетание. Такая оговорка необходима, поскольку пока достоверно установленное явление андромиксиса можно отнести к небольшому количеству изученных видов, включая упомянутую *N. longissima*, а также *Tabularia tabulata* (С.А. Agardh) Snoeijс [Давидович, Давидович, 2010], *Fragilaria delicatissima* Proschkina-Lavrenko [Рощин, 1994б] и *Tabularia fasciculata* (С.А. Agardh) Williams and Round [Давидович и др., неопубл.]. Во всех случаях гомоталлизм обнаруживался в клонах мужского типа, что связано, возможно, с подвижностью гамет. Однако, если иные принципиальные ограничения для внутриклонового воспроизведения отсутствуют, то нельзя исключить гомоталлизм в клонах генетически женского типа у раздельнополых видов, как это мы наблюдали в одном случае у *Tabularia tabulata* [Давидович, Давидович, 2010]. В целом, следует, очевидно, признать раздельнополость пеннатных и способность одного из полов (или обоих) к ограниченному внутриклоновому воспроизведению. В своей работе А.М. Рощин столкнулся, скорее всего, с явлением андромиксиса.

Необходимо также упомянуть о явлении бисексуальности [Chernov, Mann, 1999], которое пока не нашло генетической трактовки в отношении клонов способных к проявлению такого полового поведения.

Очень слабо проработан вопрос о системах скрещивания центрических диатомовых. Классическое понимание — центрические являются однотипно однодомными и способны к внутриклоновому воспроизведению — становится все менее универсальным по мере накопления новых фактов [Рощин, 1994б; Чепурнов, Манн, 2001; Chernov *et al.*, 2004]. Наличие клонов, которые способны производить гаметы преимущественно (или только) одного пола предполагает более сложный, чем представлялось, механизм наследования и проявления пола у центрических.

2.4 Молекулярно-генетические исследования

Еще сравнительно недавно полагали, что большинство видов диатомовых являются однодомными, и пол у них определяется исключительно фенотипически [Wiese, 1969; Drebes, 1977]. Диплогенотипическое определение пола было найдено у представителей всего двух родов, *Rhabdonema* Kützing и *Grammatophora* Ehrenberg, и считалось на тот момент исключением из общего правила [Drebes 1977]. Ввиду отсутствия отличий на морфологическом уровне двудомность у диатомовых не предполагалась, и это не вызывало потребности в экспериментах по скрещиванию клоновых культур. По мере накопления фактических данных произошла существенная трансформация представлений о характере детерминации пола у диатомовых: стало ясно, что пол у пеннатных предопределен генетически и, в отличие от центрических, ни внешние факторы, ни размер клеток не могут изменить его проявление [Рощин, 1994б; Чепурнов, Манн 2001; Chernov *et al.*, 2004].

Достижения кариологии диатомовых [Kociolek, Stoermer, 1989; Седова, 1996] на сегодняшний день не позволяют выявить половые хромосомы, поэтому имеет смысл говорить лишь о мужском (М) и женском (F) генетических факторах, которые у пеннатных наследуются, судя по имеющимся данным [Рощин, 1994б; Давидович, 2001, 2002а, 2005а, 2007; Chernov *et al.*, 2004; Davidovich *et al.*, 2006], в соответствии с простой моделью диплогенотипической детерминации пола по типу **ММ/МF**, где мужские организмы являются гетероаллельными. К сожалению, соответствующие эксперименты, подтверждающие механизм детерминации пола, выполнены пока еще на очень небольшом количестве видов (см. раздел "Распределение полов и система скрещивания").

Многие виды демонстрируют морфологическую и физиологическую изогамия, и тогда приходится оперировать условными обозначениями пола "+" или "-", однако и в этом случае генетическая основа предопределяет возможность вступления в половой процесс только клонов противоположного знака (репродуктивно совместимых скрещивающихся типов). Гораздо более удобными для изучения закономерностей наследования пола являются виды, у которых наблюдается цис-анизогамный половой процесс (например, *Nitzschia longissima*, виды из родов *Fragilaria* Lyngbye, *Licmophora* C.Agardh, *Pseudo-nitzschia* H.Peragallo, *Tabularia* (Kützing) D.M.Williams & Round), т.е. такие, у которых гаметы, формирующиеся в мужском и женском гаметангиях морфологически и поведенчески отличаются друг от друга. Благодаря такой анизогамии удалось подтвердить гетероаллельную природу мужских клонов и связать с ней активность гамет [Давидович, 2002а, 2005а, Davidovich *et al.*, 2006].

Исследования по расшифровке генетических локусов, отвечающих за половую репродукцию диатомовых, начались сравнительно недавно и пока еще очень немногочисленны [Armbrust, 1999; Armbrust, Galindo, 2001; Patil *et al.*, 2015; Bondoc *et al.*, 2016].

В последние годы прослеживается тенденция все более широкого применения молекулярно-генетических методов для идентификации видов [Ryneron, Armbrust, 2000, Lundholm *et al.*, 2002; 2006; Behnke *et al.*, 2004, Evans *et al.*, 2004; Orsini *et al.*, 2004; Bornet *et al.*, 2005; Kaczmarska *et al.*, 2005; Lundholm *et al.*, 2006; Evans *et al.*, 2007; Kaczmarska *et al.*, 2007; Vanormelingen *et al.*, 2007; Dassow *et al.*, 2008; Kaczmarska *et al.*, 2008; Sato *et al.*, 2008]. Для этого анализируют последовательности различных участков ядерной, рибосомальной, митохондриальной или пластидной ДНК. Результаты во многих случаях позволяют разграничить виды, которые привычным способом не удастся идентифицировать, например, так называемые, "скрытые" виды, или виды-двойники. Хотя, по сути, криптические виды, не имеющие явных различий по привычным нам критериям, например, морфологическим, представляют собой всего лишь пример неполноты наших знаний. При всей корректности, поразительной чувствительности, оперативности и объективности методов молекулярного анализа остается вопрос: отражают ли найденные молекулярные различия истинную границу между видами, и как ее подтвердить? Вслед за Э. Майром [1968, 1974, Mayr, 2000] мы можем констатировать, что единственным критерием, отражающим суть видообразования и позволяющим разграничить амфимиктические виды, является наличие репродуктивной изоляции, которая вызвана биологическими причинами, находящими свое выражение в неспособности скрещиваться, нежизнеспособности потомства и прочее, т.е. в наличии генетической программы, определяющей такую изоляцию. С появлением биологической

репродуктивной изоляции, в отличие, например, от географической, группы организмов, которые теперь могут называться видами, обретают свою собственную эволюционную историю, и это расхождение становится необратимым. И наоборот, любое, даже существенное отклонение признаков, включая поведенческие, морфологические, физиологические, вплоть до генетических, не может служить критерием обособленности вида, если нет репродуктивной изоляции. В связи с вышеизложенным следует отметить, что эксперименты по скрещиванию диатомовых приобретают особую значимость, как практический метод определения видовых границ, и, несомненно, будут все более востребованы.

Внутривидовое варьирование генетических последовательностей обычно ниже, чем межвидовое [Evans *et al.*, 2007], но и оно поддается анализу благодаря высокой чувствительности молекулярно-генетических методов, и это открывает новые перспективы не только в области таксономии, но и в таком, пока еще во многом спекулятивном вопросе, как механизмы видообразования. Здесь также представляется особенно важным сочетание молекулярных методов с экспериментами по скрещиванию.

В 2004 году был опубликован первый полный геном диатомовой водоросли *Thalassiosira pseudonana* Hasle et Heimdal [Armbrust *et al.*, 2004]. Сегодня полные геномы известны для шести видов диатомей, включая двух центрических (*T. pseudonana* и *T. oceanica* Hasle), *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, холодолюбивую из Южного океана *Fragilariopsis cylindrus* (Grunow) Helmcke & Krieger, токсикогенную прибрежную *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle и богатую липидами *Fistulifera* sp. штамм JPCC DA058 [Rastogi *et al.*, 2015]. Этот несомненный успех в применении молекулярных методов требует следующего шага в познании. Совершенно очевидно, что знание нуклеотидной последовательности организма не является достаточным для понимания его биологии: необходимо представлять, как функционируют генные продукты. Эта потребность определяет новую область биологии, которая нацелена на выяснение основных отношений между генной структурой и генной функцией: так называемая функциональная геномика [Montsant *et al.*, 2004]. На этот раз уже представители молекулярной генетики делают акцент на том, что "развитие надежных протоколов для полового скрещивания — среди тем, к которым нужно наиболее срочно обратиться, чтобы расширить диапазон возможностей функциональной геномики диатомовых" [Montsant *et al.*, 2004, с.3]. Можно отметить, что диатомовые, у которых половое воспроизведение в большинстве случаев является обязательным атрибутом жизненного цикла, выступают замечательным объектом для подобных исследований.

2.5 Школа диатомологов Карадагской научной станции

Одной из первых морских биологических станций, организованных на черноморском побережье в Крыму явилась Карадагская научная станция, основанная и построенная к 1914 году приват-доцентом Московского государственного университета Т.И. Вяземским (рисунок 2.5).

В первых же трудах биостанции было уделено внимание изучению видового состава фитопланктона. Экспериментальные исследования диатомовых начались после того, как Л.А. Ланская занялась культивированием одноклеточных водорослей. В 1941 в штате биостанции уже были специалисты по изучению фитопланктона — В.Г. Стройкина и Л.А. Ланская. В работе В.Г. Стройкиной [Стройкина, 1940] можно найти первые данные о видовом составе диатомовых водорослей вблизи Карадага. Материалом для указанной работы послужили пробы, отобранные на биостанции в 1936 и 1938 гг. В результате их обработки было обнаружено 48 видов диатомовых, некоторые указывались для Черного моря впервые



Рисунок 2.5 — Карадагская научная станция [фото автора]. Основана Т.И. Вяземским в 1914 г. у подножия горного массива вулканического происхождения в юго-восточном Крыму, в 30-и км от г. Феодосия.

[Стройкина, 1940]. Эти исследования проводились при содействии крупнейшего на то время специалиста по низшим растениям, профессора И.А. Киселева (Ленинградский госуниверситет, Зоологический институт АН СССР). Позднее были представлены более подробные сведения о встречаемости и сезонной динамике нескольких десятков видов диатомовых водорослей [Стройкина, 1950]. В 1950-х годах исследованиями микроводорослей

на биостанции занимались также Л.А. Прокудина и В.В. Кошевой [Прокудина, 1952; Кошевой, 1956]. Экспериментальные исследования диатомовых начались после того, как Л.А. Ланская занялась культивированием одноклеточных водорослей. Л.А. Ланской, работавшей на Карадаге, а затем в Институте биологии южных морей (ИнБЮМ) в Севастополе, был накоплен богатый опыт содержания диатомовых в культуре [Ланская, 1971]. Кроме того, данные о морских диатомеях, обитающих в акватории Карадага, содержатся в монографиях А.И. Прошкиной-Лавренко, посвященных черноморским диатомовым планктона и бентоса [Прошкина-Лавренко, 1955, 1963]. С начала 70-х годов 20-го века на Карадаге начала формироваться уникальная научная школа. Три поколения исследователей посвятили свои усилия изучению жизненных циклов, полового воспроизведения, систем скрещивания и другим вопросам, касающимся репродуктивной биологии диатомовых водорослей [Чепурнов, Манн, 2001; Давидович, 2009]. В 1960-70-х годах диатомовыми водорослями на Карадаге активно и последовательно занимались Л.Н. Згуровская и Н.Г. Кустенко [Згуровская, Кустенко, 1968; Згуровская, 1977, 1978; Кустенко, 1971, 1978, 1979].

В 1970-х годах на Карадаге наметилось развитие принципиально нового направления в диатомологических исследованиях, проводимых в СССР — изучение жизненных циклов и репродукции диатомовых водорослей. Эти работы были начаты А.М. Роциным и Н.Г. Кустенко [Рощин, 1972; Рощин и др., 1973; Кустенко, Рощин, 1974], затем продолжены В.А. Чепурновым, Н.А. Давидовичем и О.И. Давидович. С 1980-х годов и по настоящее время данное направление стало стержневым для всех научных изысканий, выполняемых на биостанции по данной группе организмов.

К 1990-м годам были накоплены ценнейшие сведения о видовом составе, эколого-физиологических реакциях, жизненных циклах и репродукции многих видов диатомовых, опубликованы монографии и обзорные статьи [Кустенко, 1991; Рощин, 1994б, 1997; Чепурнов, 1997; Roshchin, Cherpurnov, 1999]. В середине 1990-х вначале наметилось, а впоследствии активизировалось сотрудничество с Королевским ботаническим садом в Эдинбурге (Великобритания) в лице профессора Д.Г. Манна (D.G. Mann). Изучение диатомовых в Англии имело свою историю и подходы, однако работы карадагских коллег, касающиеся изучения жизненных циклов этих организмов, вызвали немалый интерес. Совместные исследования украинских и английских коллег были поддержаны грантовой программой Европейского Союза и проводились на видах рода *Sellaphora* Mereschkowsky и *Achnanthes* Vory. В середине 1990-х профессор Д.Г. Манн дважды приезжает на Карадаг. Впоследствии В.В. Чепурнов с ответными визитами несколько раз посещает лабораторию Д.Г. Манна, а затем окончательно принимает решение продолжать свои дальнейшие

исследования в лаборатории протистологии и водной экологии (Университет г. Гент, Бельгия). В это же время на Карадаге завершаются многолетние исследования А.М. Рощина, опубликовавшего в совокупности более 30 печатных работ, включая монографию «Жизненные циклы диатомовых водорослей» [Рощин, 1994б]. В монографии А.М. Рощина рассматривается половое воспроизведение 11 видов из родов *Achnanthes*, *Fragilaria* Lyngbye, *Grammatophora*, *Haslea*, *Licmophora*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Striatella* C.Agardh, *Synedra* Ehrenberg, общие закономерности и разнообразие жизненных циклов диатомовых, вопросы скачкообразного уменьшения клеток, зависимость аукоспорообразования от освещенности, некоторые эволюционные аспекты репродукции диатомей, а также необходимые технические сведения по упрощенному препарированию панцирей и приготовлению питательной среды для содержания культур. Следует упомянуть, что жизненным циклом центральных диатомовых была посвящена вторая глава монографии Н.Г. Кустенко [Кустенко, 1991]. Обе упомянутые книги до настоящего времени являются единственными русскоязычными пособиями, посвященными жизненным циклам диатомовых.

С 1997 года устанавливаются долгосрочные связи Н.А. Давидовича и О.И. Давидович с западными коллегами из Канады, Франции, Великобритании, Польши, Швейцарии, реализовавшиеся в проведении совместных исследований, долгосрочных грантовых программах, обучении студентов на базе Карадагской научной станции, и как следствие, публикациях в рейтинговых зарубежных изданиях. В этот период в стенах биостанции проводились исследования на видах: *Asterionella formosa*, *Berkeleya micans*, *Haslea karadagensis*, *H. ostrearia*, *H. subagnita*, *Navicula pennata* var. *pontica*, *Nitzschia lanceolata*, *N. longissima*, *Pseudo-nitzschia multiseriis*, *P. pseudodelicatissima*, *Synedra ulna*, *Tabularia fasciculata* и *T. tabulata* [Давидович, 1992, 1995, 1999, 2005а; Davidovich, 1998; Давидович О.И., 2005; Kaczmarek *et al.*, 2007, 2009; Mouget *et al.*, 2009; Давидович, Давидович, 2010; Давидович и др., 2010].

В сотрудничестве с коллегами из университета города Ле Манн (Франция) был найден в акватории Карадага, изучен и в 2012 году описан новый для науки вид *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau et Mouget [Gastineau *et al.*, 2012; Davidovich *et al.*, 2012а]. Недавно был описан еще один вид, способный синтезировать мареннин-подобный пигмент, *H. provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget [Gastineau *et al.*, 2016]. В настоящее время готовится к публикации описание нескольких новых видов из родов *Haslea* и *Nitzschia*. Первоначальной причиной выделения новых видов была их репродуктивная несовместимость с похожими видами из других популяций.

Новейшая история в изучения жизненных циклов и репродукции диатомовых на Карадаге представлена работами Ю.А. Подунай [Подунай, Давидович, 2012; Podunay *et al.*, 2014] и К.И. Шоренко [Шоренко, Давидович, 2012; Шоренко и др., 2013; Шоренко и др., 2014б].

Исследования в области репродуктивной биологии диатомовых, которые ведутся на Карадаге в настоящее время, являются уникальными для всего постсоветского пространства, и пока не выполняются на систематической основе ни в одном из институтов или ВУЗов стран бывшего Советского Союза. При этом востребованность такого рода исследований постоянно растет, о чем свидетельствует возрастающее количество приглашений для участия в международных и межинститутских проектах и рейтинг публикуемых статей. Работа с культурами, начатая на Карадагской биостанции Л.А. Ланской, не теряет своей актуальности и продолжает оставаться стержневым направлением исследований. Настоящая диссертация, продолжающая и развивающая традиции карадагской школы диатомологов, отражает работу автора за 25-летний период.

Раздел 3

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Клонирование, наименование клонов

Поскольку объекты исследования имеют характерные размеры в диапазоне от нескольких микрометров до нескольких сотен микрометров (микромир), широкое применение в наших работах находят микробиологические методы и методы микроскопии. Принципиально важным в наших исследованиях является выделение клоновых культур. Клон — потомство одной клетки, полученное неполовым путем — может быть выделен микропипеточным способом (манипуляции микропипеткой при визуальном контроле под микроскопом), методом разбавления, путем микробиологического посева и др. Мы в своей работе чаще всего использовали микропипеточный способ. Стандартные стеклянные микропипетки Пастера вытягивали в пламени горелки до получения капилляра необходимого диаметра. Извлеченную из пробы клетку помещали в небольшое количество среды (объем от одной капли до 2-3 десятков мл в небольшой чашке Петри), пипетка заменялась новой и манипуляция повторялась 3-6 раз, до тех пор, пока клетка не оказывалась очищенной от посторонних объектов. Одиночную клетку оставляли в среде, наблюдая за ней ежедневно, и как только она начинала делиться, по прошествии нескольких дней осуществляли повторное клонирование из первично выделенного клона. После нескольких этапов клонирования получали "чистый" клон, которому давали наименование.

Наша лабораторная практика показала, что имя клона должно отвечать следующим критериям: оно должно быть уникальным (неповторимым), содержать в явном виде информацию о клоне (включая название вида и дату выделения), быть легко записываемым и считываемым, удобным в повседневном произношении, отвечать принципам автоматической систематизации (сортировки), быть криптографически анализируемым (должно позволять идентифицировать клон даже в случае, если будут стерты один или несколько знаков из названия). Мы разработали следующую систему наименования клонов, которая отвечает всем указанным принципам (Давидович и др., 2017). В этой системе название клона записывается так:

Gs Y.MMDD-N,

где **Gs** – первые буквы родового и видового названия водоросли, далее следует пробел и дата выделения клона (**Y** – последняя цифра года, отделяется от последующих знаков точкой, **MM** – месяц, **DD** – день), **N** – собственное "имя" клона, обычно это одна (реже две) буквы

латинского алфавита, от предыдущих знаков отделяется коротким тире. После названия вида при необходимости в скобках в сокращённой форме указываем популяцию (регион) из которой взята проба, например, **(BSea)** — Черное море. Благодаря такой системе наименований, мы получаем относительно короткую и информативную запись, включающую сведения о видовой принадлежности, месте происхождения и дате выделения клона. При визуальном просмотре коллекции культур легко ориентироваться по видовому названию, в отличие от, например, ничего не говорящего обозначения в виде порядкового номера по каталогу. Запись уникальна, поскольку для конкретной даты обычно выделяется небольшое количество клонов данного вида. Сочетание сокращенного названия вида, даты выделения и собственного имени клона представляет собой уникальную комбинацию, благодаря чему в коллекции исключены повторяющиеся наименования, к тому же она не криптоустойчива, потеря одной или даже двух букв в названии во многих случаях позволяет по журналу (каталогу имеющихся клонов) восстановить полную запись. Точка, отделяющая цифру года от цифр месяца, необходима для удобства восприятия записи, так же как и тире, стоящее за цифрами дней. Короткое собственное имя клона создается в процессе выделения клонов, обычно это одна буква латинского алфавита (в течение дня сложно выделить количество клонов большее, чем знаков латинского алфавита). Это короткое имя удобно в произношении, при устном общении и обсуждении материала. В целом название представляется относительно коротким, удобным для записи, его легко воспроизводить при частых пересевах.

Когда воспроизведение происходит в смешанных посевах двух клонов, используется следующая запись: Y.MMDD-N1 + Y.MMDD-N2, где -N1 и -N2 – два скрещивающихся клона. Случай внутриклонового воспроизведения обозначается так: Y.MMDD-N + intra. Знак "+" отражает вообще случай полового воспроизведения, он необходим для автоматической сортировки случаев воспроизведения в общем поле записей. Имя потомкам, полученным в результате межклонового и внутриклонового воспроизведения, дается по той же схеме, с указанием, если необходимо, родительских клонов (клона) в квадратных скобках: [Y.MMDD-N1 + Y.MMDD-N2] = Y.MMDD-N3 или [Y.MMDD-N1 + intra] = Y.MMDD-N3, где N3 – имя потомка.

3.2 Приготовление сред

Для содержания водорослей в культурах очень часто применяют жидкие среды, состав которых варьирует от самых простых на основе природной воды, обогащенной несколькими

элементами, до сложных, искусственно приготовленных из многих компонентов [Andersen *et al.*, 2005]. Многолетний опыт культивирования показал, что для каждой группы водорослей необходим достаточно специфический состав среды, который обеспечивал бы наилучшие показатели роста. Из сред, подходящих в силу своей универсальности или же специально разработанных для культивирования морских диатомовых водорослей можно назвать такие как "f" [Guillard, Ryther, 1962], её модификацию "f/2" [Guillard, 1975], ASW [McLachlan, 1973], ESAW [Harrison *et al.*, 1980], L1 [Guillard, 1995] и ряд других, обширный список которых можно найти в работе Р. Андерсена с коллегами [Andersen *et al.*, 2005]. В нашей лаборатории имеется опыт успешного культивирования морских диатомовых в течение длительного времени на среде в модификации А.М. Рощина [Рошин, 1994б], который отмечал, что в лабораторных условиях не удавалось культивировать диатомовые водоросли круглогодично на обычной морской воде, отбираемой в прибрежной зоне. Среда Рощина — это профильтрованная морская вода, обогащенная несколькими элементами и витаминами. Следует отметить, что с начала 1970-х по конец 1990-х эта среда с успехом использовалась, в том числе и автором настоящей работы, для культивирования разных видов диатомовых, однако впоследствии от нее пришлось отказаться. Использование морской воды, обогащенной биогенными элементами согласно рецептуре Рощина, взятой в районе Карадагской биостанции, привело в конце 90-х – начале 2000-х годов к потере многих культур водорослей, в частности из рода *Haslea* и *Pseudo-nitzschia*. При всей тщательности исполнения и соблюдении необходимых методических приемов, водоросли, пересеянные в такую среду, погибали в течение короткого времени, будучи "задавленными" ростом бактерий и мельчайших жгутиковых. Пастеризованная среда Рощина была кристально чистой и сохранялась в таком состоянии в течение нескольких месяцев, но как только осуществляли пересев в эту среду, опережающий рост бактерий и мелких жгутиковых приводил к деградации культур водорослей. Одним из вероятных объяснений является возможная существенная эвтрофикация воды в районе Карадагской биостанции.

Целесообразность использования искусственной морской воды вместо естественной, обогащенной биогенными элементами, была обусловлена целым рядом неудач, преследовавших нас в 2005-2006 годах до тех пор, пока мы не стали использовать в качестве основной для содержания культур среду ESAW, оригинальный рецепт которой был опубликован в работе [Harrison *et al.*, 1980]. В дальнейшем этот рецепт претерпел небольшие изменения [Berges *et al.*, 2001] и в последнем варианте представлен в работе [Andersen *et al.*, 2005, p.494]. Рецепт среды в том виде, в каком мы используем его в нашей лаборатории [Давидович, Давидович, 2009], приведен в Приложении А. Соли растворяются в

дистиллированной воде последовательно согласно рецепту. Дистиллированная вода готовится при помощи дистиллятора, в нашем случае ДЭ-4 (Санкт-Петербург, Россия), допускающего контакт с медными и железными поверхностями. Биогенные элементы, раствор Fe-ЭДТА, микроэлементы и витамины добавляются в указанном количестве из заранее приготовленных запасных растворов. Витамины добавляются в раствор еще до пастеризации в количестве, десятикратно превышающем указанное в оригинальном рецепте. Полученная среда разливается в герметично закрываемые емкости и пастеризуется при температуре +62...64°C трижды с суточным интервалом (тиндализация). Приготовленная по оригинальному рецепту среда имеет концентрацию солей 30 г/л (30‰), удельную плотность 1,021 при 20°C, pH должен быть 8,2. Без потери свойств среда может храниться в герметичной таре в течение нескольких месяцев. Перед употреблением среда разбавляется до нужной концентрации дистиллированной водой.

По сравнению с рецептом, изложенным в работе [Andersen *et al.*, 2005], в нашей практике [Давидович, Давидович, 2009] мы используем уменьшенное количество основных биогенных элементов, в виде NaNO_3 и $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, которых мы добавляем 75% от указанного в оригинале; и измененное количество витаминов, при исключении из их состава биотина. В состав среды в последней модификации [Полякова и др., 2018] введен тиосульфат натрия в концентрации 4 мг/л и исключён ранее добавлявшийся цитрат железа.

Применение искусственной морской воды имеет ряд серьезных преимуществ:

- отсутствие сезонных изменений ее состава;
- контролируемый состав позволяет выполнять многие эксперименты по изучению влияния веществ на рост водорослей, более корректно проводить физиологические, биохимические и прочие эксперименты;
- возможность культивирования морских водорослей в удалении от моря;
- единые ("стандартные") условия культивирования для всех лабораторий.

С началом использования состава ESAW в нашей лаборатории (с октября 2006 года) не было ни одного случая гибели культуры по причине непригодности среды при правильном ее приготовлении. В настоящее время в лаборатории одновременно поддерживается в культуре более 400 клоновых культур, пересеваемых в свежую среду с периодичностью 1–3 недели [Давидович и др., 2017]. Примечательно, что при переходе с обогащенной морской воды на искусственную среду удалось сохранить культуры, которые бы непременно погибли (проверено на субклонах), однако будучи помещенными в новый состав, клетки, сохранившие жизнеспособность, возобновили деление и дали вначале несколько пятен роста на дне чашки

Петри, а затем вернулись к обычному росту, достигая значительных плотностей при равномерном распределении по дну чашек.

Среда ESAW обеспечивает рост водорослей, измельчавших до предельных размеров, т.е. находящихся в конце жизненного цикла. В частности, клетки одного из клонов *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M.Williams & Round, отобранного на Канадском побережье Атлантики в феврале 2006 года имели апикальный размер $48,8 \pm 1,7$ мкм, $N=5$ (здесь и далее указано среднее значение \pm ошибка среднего и количество измерений N). При этом максимальный апикальный размер клеток, возникающих в данной популяции в результате полового воспроизведения, составлял около 248 мкм. К апрелю 2007 года клетки в клоне достигли размера $13,7 \pm 1,2$ мкм, $N=10$, т.е. уменьшились в 18 раз по сравнению с максимальным размером. Трансапикальный размер измельчавших клеток был ненамного меньше апикального.

Среда ESAW в указанной модификации была благоприятна для роста всех видов морских диатомовых, содержащихся в нашей лаборатории. Она обеспечивала темп деления 0,5–1,5 делений/сутки. Очевидно, что полноценная среда, особенно искусственная, должна обеспечивать возможность не только вегетативного роста, но и полового воспроизведения. Для диатомовых это особенно актуально, поскольку половое воспроизведение у большинства изученных видов является обязательным этапом жизненного цикла [Round *et al.*, 1990; Edlund, Stoermer, 1997; Cherpurnov *et al.*, 2004]. Для почти полутора десятков видов диатомовых из шести родов имеется опыт длительного культивирования (несколько лет), причем в нескольких поколениях, включая потомство второй (F2) и третьей генераций (F3). Более того, эта среда обеспечивает эффективное половое воспроизведение, по схемам характерным для конкретных видов [Давидович, Давидович, 2009]. Инициальные клетки, появляющиеся в культуре в результате полового воспроизведения, по своим размерам соответствуют максимальным, встречающимся в природной популяции. Например, наибольшая клетка из встретившихся в популяции *Haslea* sp. в период массового развития в апреле 2008 года в районе Карадага, имела размер 84,0 мкм, обработана значительная выборка, $N=1149$ [Gastineau *et al.*, 2012; рисунок 3.1]; в то же время в экспериментах по воспроизведению данного вида получены клетки размером $84,4 \pm 2,3$ мкм, $N=13$ (максимальный отмеченный размер 97,6 мкм). Таким образом, среда ESAW поддерживает существование разных видов морских диатомовых во всем диапазоне характерных размеров, т.е. во всех фазах жизненного цикла. В некоторых случаях (в частности, при изучении *Tabularia fasciculata*) была использована среда f/2 Гуилларда и Райтера (Guillard & Ryther) [Andersen *et al.* 2005, p. 507].

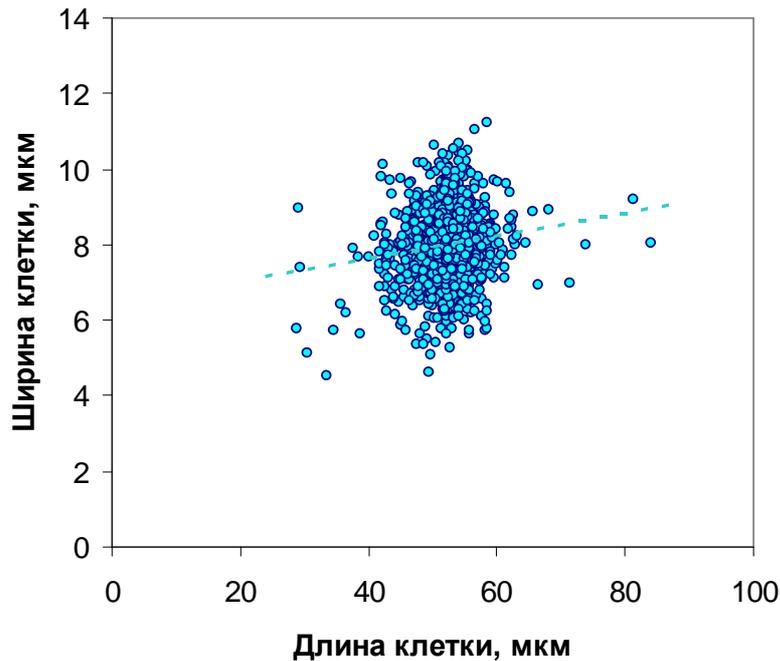


Рисунок 3.1 — Зависимость ширины клеток от их длины в природной популяции *Haslea karadagensis* в районе биостанции на Карадаге [по данным работы Gastineau *et al.*, 2012]. Пробы отбирались с 09.04 по 08.05.2008 г. Всего измерено 1149 клеток, только у двух из них длина оказалась близка к максимальной видоспецифической, установленной на инициальных клетках, полученных в экспериментах по воспроизведению

Для содержания пресноводных диатомовых наилучшей, по нашему опыту, оказалась среда DM [Beakes *et al.*, 1988; Mann, Chernov, 2004], состав которой приведен в Приложении Б.

3.3 Содержание клоновых культур

Клоновые культуры мы содержим в стеклянных чашках Петри или конических колбах Ерленмейера, размещенных в изолированной комнате с постоянно поддерживаемой температурой $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и естественным освещением со стороны окон, обращенных на север. Для большинства видов обычная периодичность пересевов в свежую среду 7–10 дней. Для обеспечения большей периодичности пересевов (до двух-трех месяцев) часть клонов находится в специально переоборудованном холодильнике-витрине со стеклянной передней дверцей при пониженной температуре ($14 \pm 2^\circ\text{C}$) и искусственном освещении с относительно коротким фотопериодом (6 часов в сутки).

Из схемы жизненного цикла, характерной для диатомовых, вытекает несколько важных для практики культивирования замечаний [Давидович и др., 2015].

1) Конкретный штамм (клон) водоросли, подверженной действию правила МакДональда–Пфитцера, невозможно культивировать бесконечно долго: продолжительность существования штамма определяется продолжительностью его жизненного цикла. Поскольку скорость прохождения жизненного цикла зависит от темпа деления клеток, этим можно воспользоваться для консервации и последующего использования части клона, например, поместив эту часть в условия низкой освещенности и пониженной температуры.

2) Культивируемый клон теряет свою генетическую однородность, как только в нем происходит процесс полового воспроизведения, в результате появляется множество новых генетических линий. Половое воспроизведение внутри клона (гомоталличное воспроизведение) возможно, но оно, являясь типичным для центрических и некоторых пеннатных диатомей (см. ниже), характерно не для всех диатомовых. Самым простым индикатором того, что в клоне произошло внутриклоновое воспроизведение, может служить появление инициальных клеток. Инициальные клетки заметно выделяются своими размерами: апикальная длина (у пеннатных) или диаметр (у центрических) в несколько раз больше соответствующего размера клеток родительского клона.

3) В тех случаях, когда важно не избежать, а, напротив, получить половое воспроизведение, например в целях селекции определенных штаммов, важно учитывать тот факт, что жизненный цикл диатомовых делится на две фазы: дорепродуктивную и репродуктивную (генеративную). В дорепродуктивной фазе клетки, начиная с инициальных, осуществляют исключительно вегетативное деление. Как уже отмечалось, одним из неизменных условий вступления в генеративную фазу является достижение клетками некой критической границы размеров — кардинального пункта в жизненном цикле по Гайтлеру [Geitler, 1935]. Критический размер для большинства видов диатомовых близок к 50% от максимального видоспецифического [Davidovich, 2001b]. Достигнув верхней критической границы диапазона размеров, допускающих воспроизведение, клетка может перейти к мейозу, если этому способствует наличие всех других необходимых условий (наличие полового партнера в случае раздельнополости, благоприятные температурные, световые условия, соленость). Переход к воспроизведению не является облигатным — часть клеток продолжает делиться митотически, уменьшаясь в размерах. Некоторые виды в онтогенезе достигают нижней пороговой границы размеров, перейдя которую клетки теряют способность к вступлению в половой процесс, однако еще могут какое-то время делиться митотически. У других видов способность к вступлению в половой процесс сохраняется вплоть до

предельного измельчания клеток. В связи с этим различают открытый и закрытый диапазоны размеров, допускающих половое воспроизведение [Рощин, 1994б].

Ускоренное достижение верхней критической границы осуществляется на практике за счет ускорения темпа деления клеток при изменении состава среды, условий освещения и температуры, либо (у тех видов, у которых это допускается) за счет искусственного уменьшения размера клеток при механическом обламывании концов или извлечении уродливых укороченных клеток, иногда возникающих в “переросшей” культуре, т.е. культуре, находящейся в стационарной или “дегенеративной” фазе. Заметим, что добиться полового воспроизведения в переросшей культуре не удастся, оно возможно только в “хорошо чувствующей” себя культуре, находящейся в экспоненциальной фазе роста.

4) Неоднократно показано [Geitler, 1935, Drebes, 1977], что никакие стимулы не могут инициировать клетки к вступлению в половой процесс, если они не достигли должных размеров, поэтому культивируемые клоны будут оставаться генетически однородными, если они находятся в дорепродуктивной фазе. Культивирование в пострепродуктивной фазе также возможно, но малопривлекательно, так как к этому времени клетки в клоне становятся очень мелкими, зачастую приобретают деформации и уродства панциря, и у них снижается темп деления.

Выше уже рассматривался вопрос о том, что центрические диатомеи являются генетически однодомными, а пеннатные — генетически двудомными (раздельнополыми). Как следствие, для центрических диатомей, содержащихся в культуре, характерно внутрикловое воспроизведение, хотя в природе, вероятно, чаще осуществляется перекрестное оплодотворение, в то время как для воспроизведения пеннатных в норме необходима встреча половых партнеров, происходящих из двух разных клонов — мужского и женского.

Раздельнополость пеннатных, к которым относится большинство ныне существующих видов диатомовых, позволяет сделать некоторые обобщения, полезные для прикладных работ и практики культивирования:

- представляется возможным содержание в культуре клонов одного пола, что позволит избежать спонтанного полового воспроизведения и потери чистой генетической линии;
- открывается перспектива направленного скрещивания и осуществления классической селекции;
- при хранении генетического материала диатомовых в коллекциях живых культур или в условиях глубокой заморозки необходимо учитывать факт генетической двудомности и сохранять в коллекциях клоны противоположного пола.

Содержание видов в лабораторной коллекции в живом состоянии и постоянная работа с культурами создает определенную историю клонов в поколениях (генеалогию), которую мы подкрепляем данными об их молекулярно-генетических последовательностях, опыте содержания, норме физиологических и адаптационных реакций.

3.4 Самоингибирование роста в пересеваемых культурах

В культурах, где среда не обновляется, и ее объем лимитирован, динамика численности диатомовых следует классической S-образной кривой (рисунок 3.2), которая близка к логистической модели, описываемой уравнением Ферхюльста [Verhulst, 1838]. У диатомовых, как можно видеть из данных, полученных для восьми видов пеннатных (таблица 3.1), константы кривой характеризуется весьма низкими значениями максимальной численности и времени ее полунасыщения. Половина максимальной численности в большинстве случаев достигается за 5-6 дней, соответственно, через 10–12 дней (в среднем) культуры приближаются к максимальной плотности и после непродолжительного периода нахождения в стационарной фазе начинают отмирать.

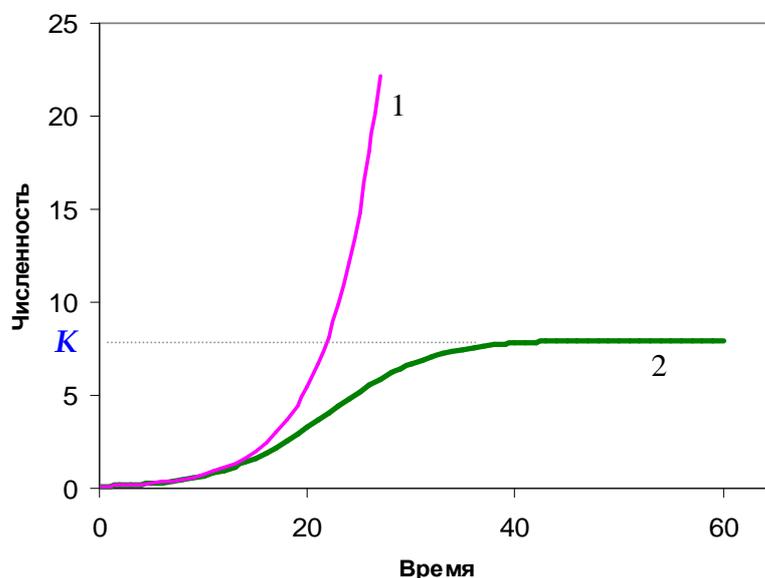


Рисунок 3.2 — Модели роста численности. 1 – ресурснезависимый (нелимитированный) рост, согласно уравнению Мальтуса: $x_t = x_0 \cdot e^{rt}$; 2 – ресурсозависимый (лимитированный), согласно уравнению Ферхюльста: $x(t) = \frac{x_0 K e^{rt}}{K - x_0 + x_0 e^{rt}}$, где x_0 – начальная численность, x_t – численность в момент времени t , r – константа скорости экспоненциального размножения, K – асимптота максимальной численности

Таблица 3.1 — Средний объем клеток, значения максимальной численности, суммарного объема клеток и времени полунасыщения численности в культурах восьми видов бентосных диатомовых водорослей

Вид	Средний объем клеток в культуре,	Максимальная численность,	Максимальный суммарный объем клеток на единицу объема среды,	Время полунасыщения численности
	мкм ³	кл./мм ³	тыс. мкм ³ /мм ³	сут
<i>Achnanthes brevipes</i> <i>var. intermedia</i>	2380	8	18	3,9
	6830	4	24	6,6
<i>Achnanthes longipes</i>	12800	5	61	4,5
	19500	3	59	4,0
	19600	3	59	4,5
	48300	2	97	4,1
<i>Fragilaria delacatissima</i>	3360	32	109	3,2
	20700	8	166	4,0
<i>Navicula pennata</i> <i>var. pontica</i>	300	357	107	6,1
	400	325	130	5,1
	1350	30	41	6,4
	1640	38	62	7,7
	1850	38	70	5,3
<i>Nitzschia tenuirostris</i>	85	812	69	3,7
<i>Pleurosigma angulatum</i>	27900	2	63	26,1
<i>P. elongatum</i>	32500	3	98	4,9
<i>Tabularia fasciculata</i>	1180	36	42	4,6
	2440	16	40	4,5
	3530	11	40	5,1
	5020	9	44	4,8
	6260	5	31	4,5

Культуры, дошедшие до IV-V фазы (рисунок 3.3) называются "переросшими", в них клетки перестают делиться, клеточный цикл останавливается на этапе цитокинеза. У ряда видов поделившиеся клетки не расходятся, что приводит иногда к появлению характерных "пакетов" из нескольких клеток; хлоропласты клеток становятся темно-бурого цвета и, если они множественные, концентрируются вокруг ядра (рисунок 3.4). Вследствие быстрого

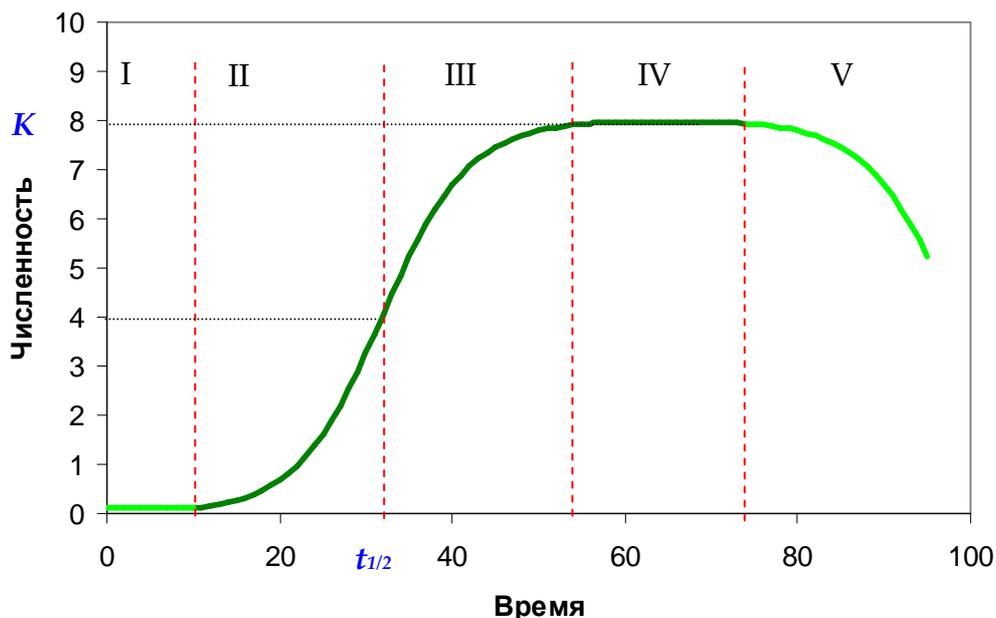


Рисунок 3.3 — Динамика численности клеток в непересеваемой культуре. I – фаза адаптации (лаг-фаза); II – фаза экспоненциального роста; III – фаза торможения; IV – стационарная фаза; V – фаза деградации. K – параметр максимальной численности, $t_{1/2}$ – константа времени полунасыщения численности. От логистической кривой Ферхюльста кривая роста численности в культуре отличается участками лаг-фазы, когда численность не меняется, и фазы деградации, когда численность убывает

насыщения численности культуры приходится часто пересевать в свежую среду, не дожидаясь, пока они окажутся в IV-V фазах. В нашей лабораторной практике при стандартных условиях содержания пересевы осуществляются каждые 7-10 дней. Создав специальные условия (пониженная температура на уровне 12-14°C, короткий фотопериод, например, 6 часов света умеренной интенсивности в сутки), удастся в 3-4 раза увеличить интервалы между пересевами.

Очевидна обратно пропорциональная зависимость между максимально достижимой в данном объеме среды численностью и объемом клеток (см. таблицу 3.1). Эта закономерность справедлива как в отношении клеток одного вида, так и при сравнении разных видов. В заданном объеме среды максимальная численность мелких и крупных клеток одного и того же вида может различаться на порядок. Если перейти к суммарному объему клеток, то различия нивелируются, причем между видами эти различия также становятся незначительными. В среднем для изученных видов максимальная достижимая биомасса (в единицах объема клеток на единицу объема среды) составила $79 \cdot 10^3 \text{ мкм}^3/\text{мм}^3$;

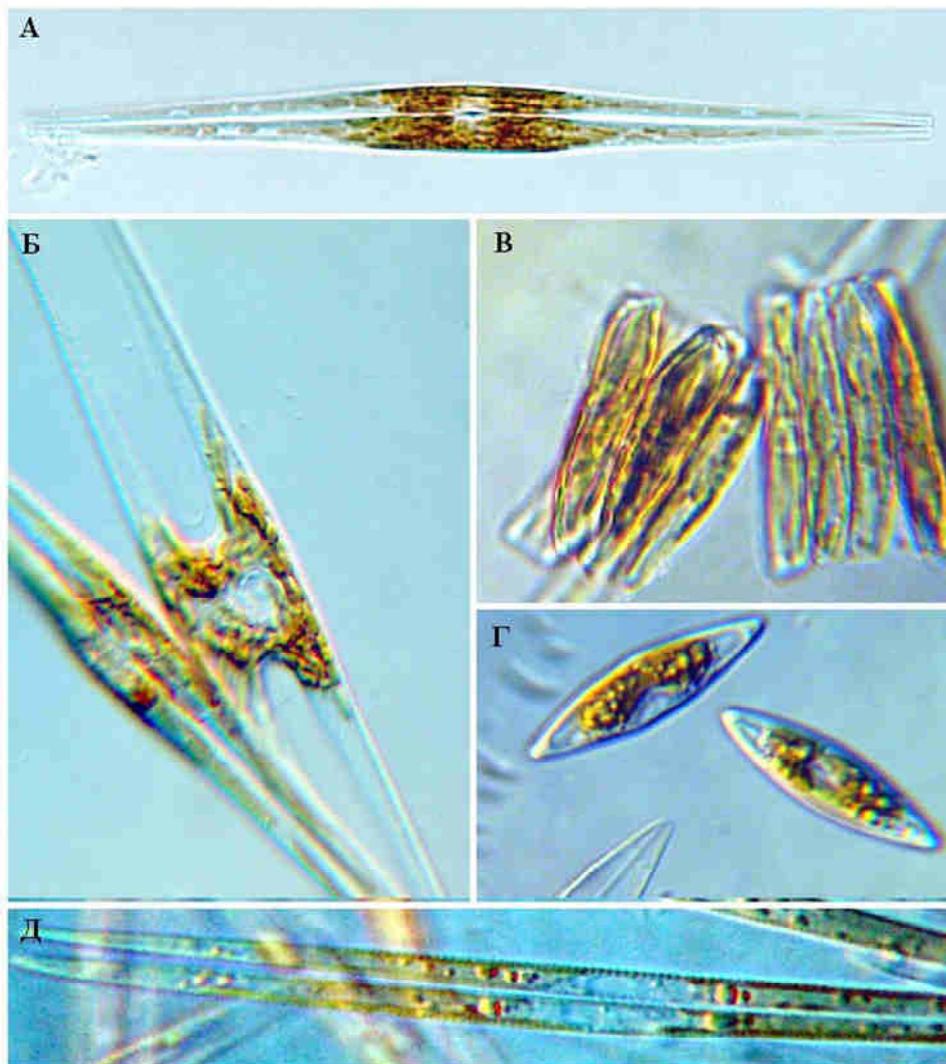


Рисунок 3.4 — В "переросших" культурах, т.е. в культурах находящихся в IV-V стадиях, нарушается нормальное деление клеток, цитокинез не завершается расхождением клеток, в результате чего они приобретают уродливую форму, которая сохраняется при последующих пересевах в свежую среду: **А, Б** – *Nitzschia longissima*; **В** – *Tabularia fasciculata*; **Г** – *Haslea karadagensis*; **Д** - *Pseudo-nitzschia calliantha*

наименьшая оказалась у *Achnanthes brevipes* var. *Intermedia* (Kützing) Cleve, а наибольшая у *Fragilaria delacatissima* Proshkina-Lavrenko.

Следует отметить, что небольшие значения максимальной численности получены в расчете на единицу объема среды, поэтому бессмысленно ожидать высоких плотностей (например, в случае промышленного выращивания), не решив проблему ресурсно-зависимого роста численности, которая как видим из результатов опытов, чрезвычайно остра у диатомовых. Решение этой проблемы можно связать с двумя аспектами: а) истощением биогенных элементов, витаминов и т.п., б) истощением пространства, куда выбрасываются

продукты метаболизма. Вопрос о недостатке энергии в отношении диатомовых не стоит, т.к. достигаемые плотности настолько низкие, что не создают проблемы плотностно-зависимого экранирования светового потока.

Для ответа на вопрос о том, что в наших условиях ограничивает рост численности — недостаток биогенов или недостаток пространства — мы провели простой эксперимент, добавляя в момент достижения максимальной численности в сосуды с культурой *Nitzschia longissima* аликвоты в одном случае изотоничного среде раствора NaCl, в другом — профильтрованной среды из переросшей культуры, обогащенной биогенными элементами. В данном эксперименте культуры выращивались на среде Рощина [Рошин, 1994б]. Как оказалось, добавление изотоничного раствора без биогенов позволяло культуре возобновить рост, численность возрастала до нового порога, причем происходило это прямо пропорционально разбавлению (рисунок 3.5). Напротив, добавление фильтрата, полученного из переросшей культуры, обогащенного дополнительным количеством биогенов, в проведенном эксперименте не позволяло увеличить численность. Таким образом, главным фактором, препятствующим росту численности культур в наших условиях следует считать недостаток "свободного" пространства. По всей видимости, в процессе роста культуры

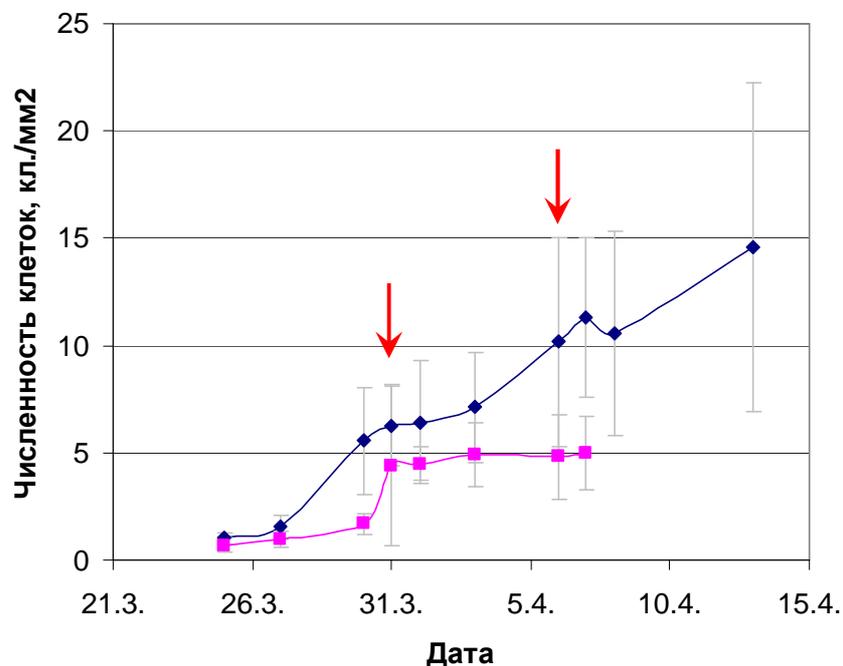


Рисунок 3.5 — Динамика численности *Nitzschia longissima* в непересеваемой культуре.

Стрелками показаны моменты добавления изотоничного среде раствора NaCl (для верхнего графика) и профильтрованной среды из переросшей культуры, обогащенной биогенными элементами (для нижнего графика)

выделяются экзометаболиты, которые оказывают ингибирующее влияние. Поэтому, при создании установок для массового выращивания диатомовых в лимитированных объемах среды, помимо вопроса исчерпания биогенных элементов, необходимо решать также проблему автоингибирования роста. К вышеизложенному остается добавить, что вопрос требует дальнейшего изучения. Нельзя сбрасывать со счетов исчерпание биогенных элементов, которое может оказаться принципиально значимым для определенных видов или для групп видов, например, для пресноводных (в отличие от морских).

3.5 Скрещивание клонов, половое воспроизведение

В случае гомоталлического воспроизведения, характерного для центрических диатомовых и встречающегося у некоторых пеннатных, выявление деталей полового процесса возможно при изучении моноклоновых культур. Однако, в случае раздельнополых видов, к которым относится абсолютное большинство пеннатных диатомовых, изучение полового процесса, а также изучение системы скрещивания вида наиболее эффективно в экспериментах по скрещиванию сексуально совместимых клонов. Подготовка и выполнение одного эксперимента по скрещиванию занимает 7-14 дней, если не принимать в расчет время, потраченное на получение клоновых культур, которое составляет обычно 1,5-2 месяца. Необходимо, чтобы размер клеток, используемых в экспериментах, находился в диапазоне, пригодном для воспроизведения; если критическая граница неизвестна, приходится дожидаться соответствующего уменьшения размеров клеток. Количество клеток, вступающих в половой процесс в условиях культуры, как и в природной популяции, может быть различным, в лучшем случае это несколько процентов или несколько десятков процентов от общего количества клеток, но чаще — всего несколько клеток/десятков клеток. По этой причине фотофиксация должным образом всех этапов процесса осуществляется в ходе нескольких экспериментов, надо заметить, не всегда успешных. Половое воспроизведение не происходит «по заказу», даже создание условий в протокольном порядке может не привести к положительному результату. Такого рода исследования выполняются за счет многократно повторяемых экспериментов, поэтому общую их продолжительность трудно оценить, в большинстве случаев для полноценного изучения жизненного цикла, полового воспроизведения и системы скрещивания конкретного вида водоросли требуется около 1,5 лет содержания и экспериментов с культурами, начиная с момента выделения клонов.

Скрещивание клонов (смешанные посеы) осуществлялось преимущественно в стеклянных чашках Петри, реже в пластиковых чашках Петри или планшетах (24 лунки).

Стеклянная посуда обеспечивает лучшие условия наблюдения в случае использования методов дифференциально-интерференционного и фазового контраста; кроме того, с поверхности стекла удобнее и эффективнее изолировать одиночные клетки при помощи микропипетки (например, при выделении субклонов или клонов новой генерации).

3.6 Влияние плотности посева на результативность полового воспроизведения

В экспериментах по скрещиванию нередко приходится сталкиваться с ситуацией, когда в смешанном посеве не удается получить половое воспроизведение пары клонов, которая успешно воспроизводилась в серии предыдущих опытов. Одной из главных причин, объясняющих такое поведение клонов, является вышеописанное ингибирование в переросшей культуре, только в данном случае не деления клеток, а эффективности их полового воспроизведения. В сравнении с митозом, процесс мейотического деления более чувствителен к воздействию различных факторов, в том числе к "отравляющему" действию продуктов метаболизма. При аллогамном воспроизведении взаимодействие клеток-половых партнеров начинается задолго до того, как клетки приступят к гаметогенезу. Было показано [Sato *et al.*, 2011; Gillard *et al.*, 2012; Bondoc *et al.*, 2016], что у шовных пеннатных, у которых — ввиду подвижности — основную функцию доставки гамет к месту сингамии выполняют сами родительские клетки, их взаимодействие обусловлено сигналами, посылаемыми феромонами. Обмен феромонами носит сложный каскадный характер, и как можно предположить, необходимая для эффективного взаимодействия концентрация феромонов может быть создана на сравнительно небольшом удалении клеток друг от друга. Таким образом, существует, очевидно, оптимум концентрации клеток, при котором наибольшее их количество вступает в процесс полового воспроизведения. О химической природе взаимодействия свидетельствуют результаты экспериментов со многими видами. Рассмотрим один из них, выполненный нами с *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow [Подунай и др., 2016]. Репродуктивно совместимая пара родительских клонов заседалась таким образом, чтобы на начальном этапе роста клетки не входили в соприкосновение (рисунок 3.6). Ввиду ограниченной подвижности клетки *A. crystallina* не могут равномерно распределяться по дну чашки, так как это происходит у шовных пеннатных. Через несколько дней за счет вегетативного деления клетки клонов достигают зоны контакта посередине чашки Петри. Выяснилось, что чем дальше от границы соприкосновения клонов расположены клетки, тем интенсивность полового процесса оказывается меньшей. Здесь уместно вспомнить о влиянии феромонов на половую активность клеток. При межклоновом воспроизведении *A. crystallina*

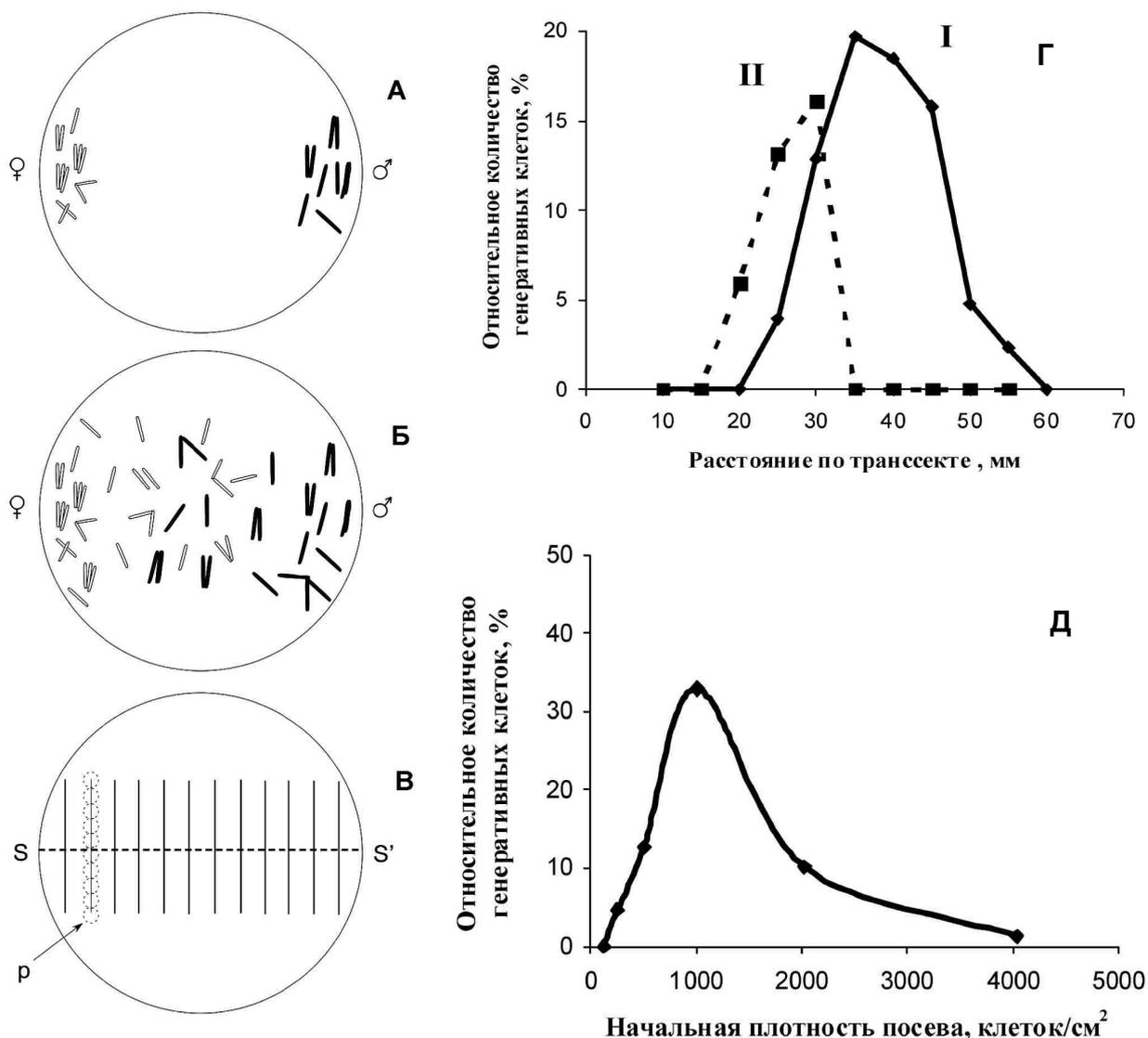


Рисунок 3.6 — Влияние плотности посева и взаимного расположения клеток половых партнеров на эффективность полового воспроизведения [из работы Подунай и др., 2016]. **А** — по схеме эксперимента клоны засеивали у противоположных бортов чашки Петри; **Б** — через несколько дней по центру возможен непосредственный контакт клеток; **В** — подсчет вегетативных и генеративных клеток в 10 полях зрения (Р) на поперечных отрезках вдоль транссекты S–S' (на рисунке поля показаны только для одного из отрезков). **Г** — в условиях эксперимента оптимальная плотность посева составила порядка 1000 кл./см². **Д** — количество клеток, вступивших в половой процесс, при пространственном разделении мужского и женского клонов в чашке: **И** — при гетероталлическом воспроизведении клонов 3.0726-D и 3.0711-C; **II** — при гомоталлическом воспроизведении женского клона 3.0722-A в присутствии мужского клона 3.0722-E

максимальное количество половых клеток, обнаруженное на границе встречи двух клонов, обусловлено не только увеличившейся вероятностью встречи родительских клеток, но и, очевидно, большей доступностью выделяемых феромонов. Чем дальше от границы соприкосновения клонов расположены клетки, тем интенсивность полового процесса оказывается меньшей. В связи с этим очень показательно внутриклоновое воспроизведение женского клона при пространственно разделенном посеве (см. рисунок 3.6 Г). Если бы внутриклоновое воспроизведение происходило без воздействия феромонов мужского клона, то его интенсивность была бы равномерной по всей площади распространения женского клона. Мы же наблюдаем картину, когда максимальное количество половых клеток отмечено вблизи границы встречи двух клонов. У стенки чашки на стороне женского клона половых клеток не было вовсе. Единственной причиной этого могут быть выделяемые клетками мужского клона феромоны, концентрация которых уменьшается с удалением от границы расположения мужского клона.

Для конкретных условий (объем среды, размер клеток и проч.) наибольшее количество клеток, вступивших в половой процесс, наблюдается при некоторой начальной концентрации посева (см. рисунок 3.6 Д), ее можно считать оптимальной для данных условий.

Еще одно практическое замечание касается плана постановки экспериментов. Ввиду вышеописанного ингибирования процесса полового воспроизведения в переросшей культуре необходимо всякий раз в экспериментах по скрещиванию закладывать контрольную пару. С уверенностью говорить об отсутствии полового воспроизведения в испытываемой паре клонов можно только в случае, если воспроизведение в контрольной паре происходит как обычно.

3.7 Световая и электронная микроскопия

Основной используемый нами метод исследования — наблюдение за процессами при помощи световых микроскопов. Были задействованы такие методы световой микроскопии (СМ), как светлое поле, темное поле, фазовый контраст, поляризация, дифференциально-интерференционный контраст. В процессе выполнения работы использованы микроскопы Biolar-PI (Польша), Nf (Германия), МБИ-6 (СССР), МБИ-9 (Россия), Zeiss Axiostar plus (Германия), Nikon Eclipse TS100 (Япония), Olympus CX31 (Япония). Фотографирование осуществляли при помощи цифровых камер Canon PowerShot A-95, Canon PowerShot A-640, а также при помощи специализированных камер типа Zeiss Axiacam 1Сс, установленных на микроскопе при помощи механических и оптических адаптеров.

Наблюдения за половым процессом осуществляется непосредственно в культурах, находящихся в живом, активном состоянии, и требует очень бережных манипуляций с культурами при работе с микроскопом. При этом, по возможности, должны быть исключены резкие перепады температуры, освещенности, вибрация, прочие факторы, которые могут нарушить естественный ход полового процесса. Одним из важнейших приемов было использование водоиммерсионного объектива, погружаемого непосредственно в чашку Петри с культурами (смешанный посев или индивидуально растущие клоны). Это позволяло выполнять наблюдения и фотографирование, исключив механическое воздействие на клетки водорослей.

Постоянные препараты для СМ готовились по широко распространенной методике [см, например, Роцин, 1994б]. Клетки диатомовых водорослей отмывали от растворимых солей дистиллированной водой, 7–10 раз осаждая центрифугированием со скоростью около 2000 об. мин⁻¹. Окисление органического вещества клеток осуществляли путем кипячения в течение 4–5 часов в 20–35% растворе перекиси водорода, иногда с добавлением перманганата калия, с последующей промывкой дистиллированной водой. Постоянные препараты монтировались на предметных стеклах, обезжиренных спиртом (размер 75 × 25 мм, толщина не более 1,5 мм) в высокопреломляющих средах (смола Эльяшева либо Naphrax®) и покрывались покровными стеклами (размер 18 × 18 или 22 × 22 мм, толщина не более 0,20 мм). При этом каплю водной суспензии очищенных панцирей диатомовых наносили на покровное стекло, равномерно распределяли по поверхности и подсушивали над пламенем спиртовой горелки. На предметное стекло помещали смолу Эльяшева либо Naphrax и подогревали до расплавления. Покровное стекло с осадком переворачивали, помещали на каплю подогретой среды и плотно прижимали к ней. Препарат охлаждали на каменной пластине.

Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) пробы обрабатывались так же, как и для световой, за исключением заключительных этапов, когда клетки, освобожденные от органических веществ, наносились в капле водной суспензии на алюминиевые предметные столики, иногда с использованием подложки-фильтра, который накладывается на предметный столик, подсушивались, и покрывались золотом. Микроскопирование осуществляли на сканирующих электронных микроскопах фирм Jeol (JEOL JSM-5600, JEOL 7600F, Япония) и Hitachi (HITACHI SU8000, Япония).

Измерения клеток диатомовых выполнены по их изображениям на фотографиях с помощью программ ImageJ v1.49 (<https://imagej.nih.gov/ij/index.html>) и AxioVision (Carl Zeiss Microscopy GmbH), либо непосредственно под микроскопом при помощи окулярной линейки, калиброванной по объект-микрометру.

Для идентификации видов использованы определители и атласы [Диатомовый анализ, 1950; Прошкина-Лавренко, 1955, 1963; Гусяков и др., 1992; Диатомовые водоросли СССР, 1992; Hustedt, 1961-1966; Round *et al.*, 1990; Witkowski *et al.*, 2000; Al-Yamani, Saburova, 2011 и др.].

3.8 Математическая обработка

Математическая обработка материала производилась в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководствах [Рокицкий, 1973; Зайцев, 1984]. На графиках, если не указано иное, в качестве доверительных интервалов представлены ошибки среднего, рассчитанные для 95% вероятности без учета объема выборки.

Скорость вегетативного размножения (темп деления) оценивали, рассчитывая по методу наименьших квадратов коэффициенты уравнений, описывающих динамику численности клеток, приведенных к линейному виду. В частности, для модели экспоненциального роста численности скорость вегетативного размножения (v , делений/сут) рассчитывали по формуле

$$v = (\ln N_2 - \ln N_1) / (\ln 2 \Delta t), \quad (3.1)$$

где N_1 и N_2 – численность клеток в культуре в моменты времени t_1 и t_2 , Δt – промежуток времени между t_1 и t_2 , $\ln 2$ – коэффициент, позволяющий привести расчеты к единицам "делений/сутки".

Относительное количество генеративных клеток, частота половой репродукции, количество случаев аукоспоробразования, доля (процент) генеративных клеток — синонимические понятия, которые определяют количество генеративных клеток (в долях единицы или в процентах) по отношению к общему числу клеток в выборке, т.е. сумме генеративных и вегетативных клеток. К генеративным клеткам относили гаметы, зиготы, аукоспоры и инициальные клетки на этапе формирования. Поскольку одна гамета обычно производит две гаметы (среди изученных пенициллиных таких видов большинство), которые затем попарно сливаются с другими гаметами из соседних гаметагигиев, то при подсчете количества генеративных клеток две встретившиеся в поле зрения гаметы просчитывались как одна клетка. У тех видов, у которых в процессе полового воспроизведения формируется одна гамета, она просчитывалась как одна генеративная клетка.

3.9 Дополнительные сведения

В процессе исследований биоэтические нормы нарушены не были.

Список названий видов диатомовых водорослей (включая синонимы), встречающихся в тексте диссертации, представлен в Приложении **В**.

Раздел 4

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

4.1 Общие закономерности

Несмотря на то, что диатомовые являются одноклеточными организмами и рассматриваются иногда как "низшие" растения, они весьма высоко организованы в отношении полового воспроизведения, которое, будучи разнообразным в деталях, характеризуется общей схемой, хорошо описанной в литературе [Geitler, 1935,1973; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Mann, 1993a; Edlund and Stoermer, 1997; Chepurnov *et al.*, 2004; Amato, 2010; Gastineau *et al.*, 2014a и др.].

Диатомовые, как уже отмечалось, — диплонты с мейозом в конечной фазе гаметогенеза (см. рисунок 2.3). Гаплоидная фаза очень короткая, ее продолжительность не превышает нескольких часов, в диплоидном состоянии водоросль может находиться от нескольких месяцев до нескольких лет в зависимости от вида и внешних условий. Жизненный цикл диатомовых, таким образом, состоит из двух последовательных фаз — продолжительного периода вегетативного деления (диплоидное состояние) и очень короткого периода полового воспроизведения, когда формируются гаплоидные гаметы. Диатомовые размножаются вегетативно путем простого митотического деления. Половое воспроизведение нельзя считать размножением по определению, поскольку в результате полового воспроизведения число дочерних клеток равно или меньше числа родительских клеток, участвовавших в процессе. Сами же родительские клетки, в которых формируются гаметы, прекращают существование. Поэтому мы считаем, наряду с другими авторами, [например, Батыгина, 2000], что наиболее адекватным, отражающим суть процесса, будет употребление термина "половое воспроизведение"

Диатомовых традиционно делили на две группы: центрических и пеннатных. Панцири центрических радиально симметричны, панцири пеннатных имеют билатеральную симметрию. Жизненный цикл центрических диатомовых (рисунок 4.1) принципиально ничем не отличается от жизненного цикла пеннатных (рисунок 4.2). Главное различие центрических и пеннатных с точки зрения биологии воспроизведения состоит в способах детерминации пола и типах полового процесса. Центрическим присуща оогамия, при которой формируются яйцеклетки и подвижные жгутиковые сперматозоиды. Однако пол у центрических генетически не predetermined, его проявление может быть модифицировано факторами среды и зависит от фазы жизненного цикла (размера клеток).

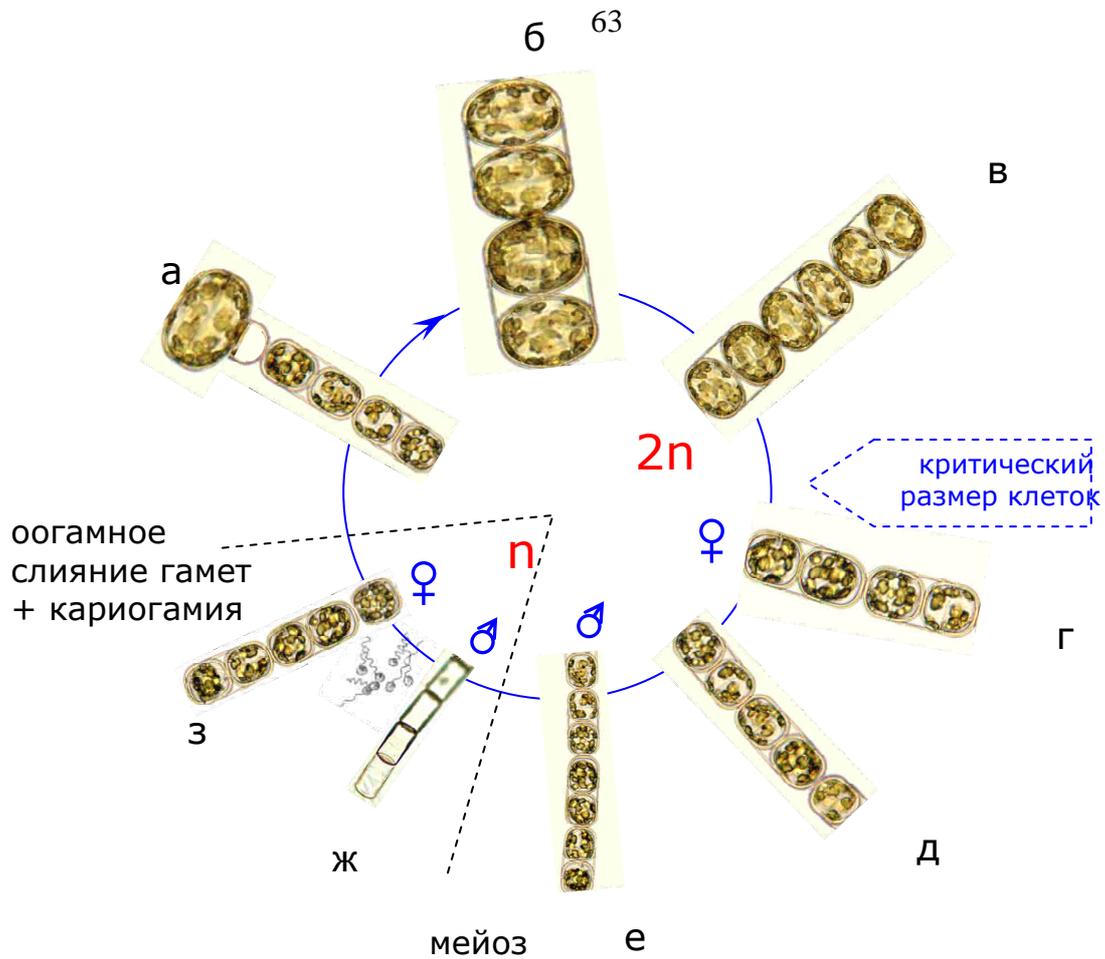


Рисунок 4.1 — Диаграмма, представляющая жизненный цикл центрической диатомовой водоросли, на примере *Melosira moniliformis* [Gastineau et al., 2014]. Инициальная клетка на конце материнской колонии (а); вегетативные клетки, уменьшающиеся в ходе митотических делений (б-е); по достижении критического размера клетки становятся способными к гаметогенезу, преимущественно в форме оогенеза (г); еще более мелкие клетки дают преимущественно сперматогенез (е); воспроизведение может происходить в одном клоне либо с участием разных клонов – перекрестное оплодотворение (ж, з); n и $2n$ – гаплотическая и диплотическая фазы

У пеннатных никаких жгутиковых клеток, подобных сперматозоидам, не было обнаружено, их гаметы более-менее изогамны. Пол у пеннатных детерминирован генетически.

В целом, если сравнивать с другими группами водорослей, с протистами, грибами, низшими растениями, высшими растениями и позвоночными животными, диатомовые имеют жизненный цикл, который относит их к эволюционно наиболее продвинутым организмам (см. рисунок 2.4). В отличие от многих других водорослей, у которых

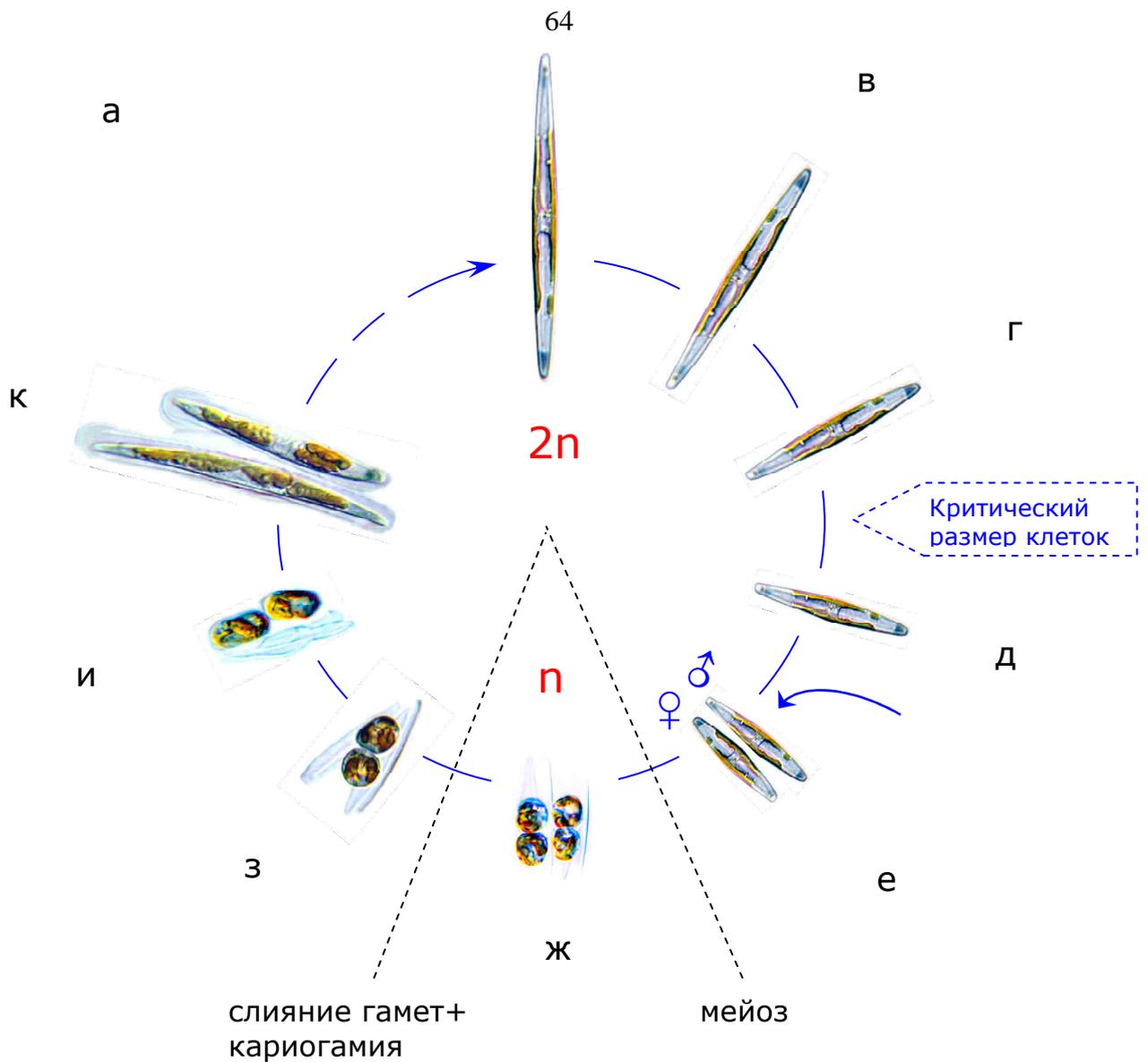


Рисунок 4.2 — Диаграмма, представляющая жизненный цикл пеннатной диатомовой водоросли, на примере *Haslea karadagensis* [по Gastineau et al., 2014]. Инициальная клетка (а); вегетативные клетки, уменьшающиеся в ходе митотических делений (б-д); спаривание родительских клеток-гаметангиев (е); гаметы, готовые к аллогамному слиянию (ж); зиготы (з); растущие ауксоспоры (и-к); n и $2n$ – гаплотическая и диплотическая фазы

близкородственные виды могут демонстрировать сильно отличающиеся варианты жизненного цикла в отношении продолжительности гаплоидной и диплоидной фаз, жизненная стратегия диатомовых более постоянна и однотипна.

Нормально протекающий половой процесс всегда заканчивается формированием ауксоспор. Однако, связь между половым воспроизведением и ауксоспорообразованием не является абсолютной: иногда ауксоспоры формируются асексуально. В любом случае

половое воспроизведение и аукоспорообразование наблюдается в условиях, благоприятных для вегетативного роста. При совпадении всех факторов, а именно, соответствующего размера клеток, наличия (если необходимо) полового партнера, подходящих внешних условий (световой, температурный режим и др.), клетки могут реализовать свою сексуальную программу, следуя по пути мейотических превращений. Клетки, приступившие к половому воспроизведению (их можно назвать *гаметангиями*) продуцируют гаметы, — процесс, сопровождаемый редукцией числа хромосом. Гаметы несут гаплоидный набор хромосом. Слияние гамет дает начало зиготе и восстанавливает число хромосом до двойного набора. Обычно без какого либо периода покоя зигота трогается в рост, с этого момента клетку следует называть аукоспорой. Аукоспоры, не имеющие твердого силикатного панциря, такого, как у вегетативных клеток, способны очень быстро, в течение нескольких часов, увеличиваться в разы, достигая максимального или близкого к максимальному видоспецифического размера. Не следует, однако, понимать, что рост аукоспоры — это простое "раздувание" клетки. В качестве наружного скелета формируется более или менее сложная структура, состоящая у центрических диатомовых из силикатных чешуек (проперизониум), а у пеннатных из колец и пластинок (перизониум), которые придают растущей аукоспоре определенную форму. У пеннатных начало отложения перизониальных колец сопряжено с разрывом первичных оболочек зиготы (*инкунабулы*), окружающей зиготу, чьи остатки у некоторых видов могут быть хорошо различимы в виде колпачков на концах растущей аукоспоры. После слияния гамет кариогамия наступает не сразу, у некоторых видов ядра сливаются незадолго до того, как аукоспора завершит свой рост. В полностью выросшей аукоспоре начинает откладываться панцирь — сначала формируется эпитека, а затем гипотека. Формирование половинок панциря сопровождается ацитокINETическим митозом. В итоге внутри оболочек аукоспор оказывается инициальная клетка, имеющая максимальный размер, дающая начало генетически обновленному клону новой генерации. Инициальные клетки в большей или меньшей степени отличаются своими морфологическими признаками от родительских клеток; только спустя несколько делений клетки приобретут типичный для вида габитус. Тесная связь размера клеток с половым воспроизведением является интригующей чертой жизненного цикла диатомовых. В качестве исключения можно привести примеры, когда клетки делились, не уменьшаясь в размерах, либо после уменьшения слегка увеличивались в процессе митотических делений [см., например, Geitler, 1932]. У небольшого числа видов наблюдалось вегетативное укрупнение [Gallagher, 1983; Nagai, 1995; Cherpurnov *et al.*, 2004]. Прохождение жизненного цикла

может быть ускорено за счет скачкообразного уменьшения размеров — явления хорошо известного для ряда диатомовых [Locker, 1950; Roessler, 1988; Kling, 1993; Рошин, 1994б; Chernikov *et al.*, 2004; Давидович, Давидович, 2010].

Некоторые диатомовые, как центрические, так и пеннатные могут формировать покоящиеся споры в ответ на внешний стресс [более подробно см. Round *et al.*, 1990]. Тем не менее, в большинстве случаев переход в покоящееся состояние, формирование покоящихся спор, клеток или зимних форм не является типичным для жизненного цикла диатомовых. Покоящиеся стадии в большей мере характерны для центрических видов диатомовых, но и у них покоящееся состояние было установлено как облигатное звено в жизненном цикле лишь у нескольких видов, например, *Leptocylindrus danicus* Cleve [French, Hargraves, 1985]. Прошкина-Лавренко отмечала покоящиеся споры *L. danicus* в большом количестве в планктоне Черного моря [Прошкина-Лавренко, 1955]. В жизненном цикле изучавшихся нами диатомовых не выявлено этапов, связанных с образованием покоящихся спор или клеток.

В литературе чаще встречается описание отдельных этапов жизненного цикла и очень мало исследований, содержащих полный набор характеристик, включая максимальный и минимальный видоспецифический размеры, кардинальные размеры, при которых клетки становятся сексуально индуцибельными, и те, при которых они теряют способность к вступлению в половой процесс; диапазон размеров инициальных клеток; характер зависимости размеров инициальных клеток от размера родительских клеток; коэффициенты восстановления размеров; скорость уменьшения размеров клеток при некоторых стандартных условиях роста или в расчете на одно деление и т.д. Примером наиболее полного исследования жизненных циклов некоторых диатомовых может служить монография А.М.Рошина "Жизненные циклы диатомовых водорослей" [Рошин, 1994б].

4.2 Фактор изменения размера клеток

Для большинства диатомовых характерно постоянное уменьшение размеров панциря в ходе митотических делений. Это связано с весьма специфической конструкцией силикатного панциря, состоящего из двух половинок: меньшей — *гипотеки*, и накрывающей ее большей половинки — *эпитеки*. Детально иллюстрированное описание строения панциря диатомовых можно найти в литературе [например, Round *et al.*, 1990]. Для нас важно то, что при митотическом делении каждая из вновь образующихся клеток достраивает гипотеку, в результате в популяции может сохраниться только одна клетка

исходного размера, а все остальные будут меньше, вследствие чего средний размер клеток в популяции постоянно уменьшается. Восстановление исходных размеров связано с половым процессом, в результате которого формируются специфические, характерные только для диатомовых клетки — *ауксоспоры*, способные быстро расти, достигая максимального видоспецифического размера. Описанное постепенное уменьшение и быстрое, связанное с половым процессом, увеличение размеров клеток в жизненном цикле происходит в связи с уже упоминавшимся *принципом* или *правилом МакДональда-Пфитцера*.

У диатомовых водорослей переход от вегетативной к генеративной фазе жизненного цикла размерно-зависим [Geitler, 1932, 1935]. Неоднократно было показано, что ни при каких обстоятельствах крупные клетки не могут воспроизводиться половым путем [Drebes, 1977]. Однако, при достижении видоспецифического критического размера, названного Гайтлером *кардинальным пунктом* в жизненном цикле, клетки становятся сексуально индуцибельными и могут приступить к половой репродукции. Это не означает, что все клетки, достигшие критической границы, вступают в половой процесс, для них лишь открывается такая возможность. Большинство клеток продолжают вегетативное деление, которое при неблагоприятных условиях может продолжаться вплоть до полного измельчания и гибели клеток данной генерации.

Диапазоны размеров клеток, характерные для вида, широко используются, в частности, в таксономических целях, в гидробиологических исследованиях при расчетах биомассы, построении размерно-возрастной структуры популяции и пр. Наш опыт изучения изменения размеров клеток в жизненном цикле показывает, что в подавляющем большинстве случаев указанные в литературе диапазоны размеров клеток оказываются существенно зауженными. Например, у такого важного с экологической точки зрения вида, как *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle длина клеток, согласно литературным данным [Hasle, Fryxell, 1995; Hasle *et al.*, 1996], изменяется в диапазоне 68–140 мкм. Благодаря содержанию вида в культуре и изучению полового воспроизведения, приводящего к формированию инициальных клеток, мы расширили этот диапазон сначала до 43–170 мкм [Davidovich, Bates, 1998a, b], а затем до 28–190 мкм [Bates, Davidovich, 2002], т.е. более чем в два раза. Аналогичная ситуация характерна для всех других изученных нами видов: указанный в диагнозе диапазон размеров в большей или меньшей степени оказывался недооцененным. Причина этого кроется, очевидно, в том, что, работая с природными популяциями, авторы не имеют возможности проследить изменение размеров в полном диапазоне, а находки инициальных клеток в природных популяциях

вообще редки. Хотя, надо отметить, массовые случаи аукоспорудии также регистрировались [например, Holtermann *et al.*, 2010; Sarno *et al.*, 2010; Nesterovich, 2012], но таких случаев немного.

Анализ полученных нами данных (рисунок 4.3) позволил выявить некоторые общие закономерности изменения размеров клеток при прохождении соответствующих фаз жизненного цикла:

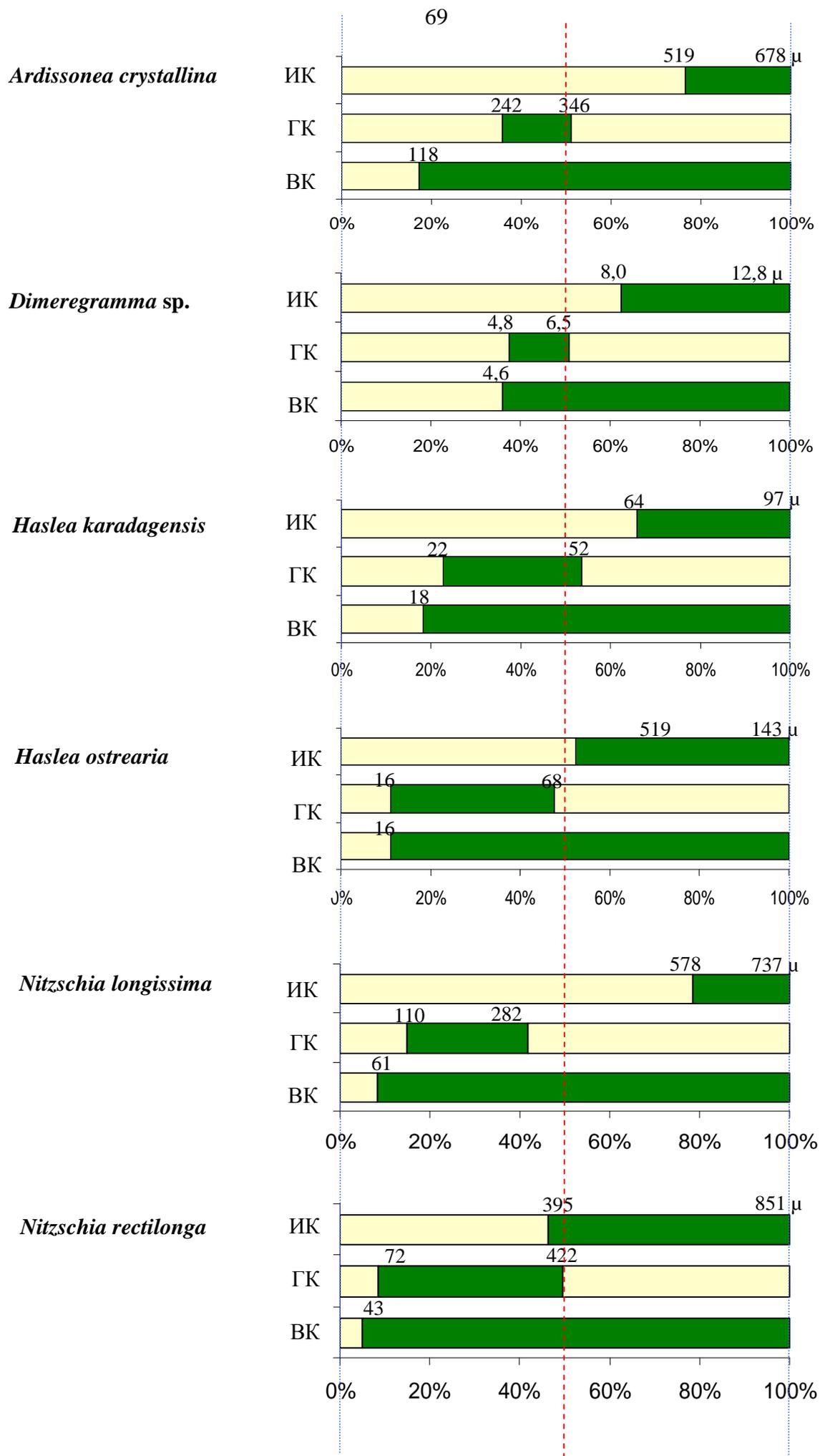
1). Размеры клеток в жизненном цикле изменяются в 2 и более раз: более, чем 10-кратное изменение размеров было отмечено у *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga*, 40-кратное у *Ulnaria ulna*, 58-кратное у *Tabularia tabulata*.

2). Верхнее пороговое значение диапазона размеров, пригодных для полового воспроизведения, для большинства видов близко к 50% от максимального видоспецифического размера.

3). Диапазоны размеров гаметангиальных клеток, равно как и инициальных клеток, довольно широкие и могут составлять до половины от общего диапазона размеров, характерных для вида, но обычно несколько уже (30–40 %).

Дискуссионным оказался вопрос о том, насколько вариабельны размеры инициальных клеток у диатомовых [Давидович, 1994; Davidovich, 1994; Edlund, Stoermer, 1997; Davidovich, 2001b; Edlund, Vixby, 2001]. Если размеры инициальных клеток находятся в узком диапазоне, как это предполагал Geitler [1932], то их можно рассматривать в качестве кардинального пункта. Если размер инициальных клеток сильно варьирует, то он не может служить видоспецифической характеристикой. В результате компиляции собственных и литературных данных (таблица 4.1) установлено, что в среднем для 63 изученных таксонов гаметангиальные клетки покрывают 33 % от общего диапазона размеров, а инициальные клетки даже более одной трети (36 %). Разумеется, при столь широких диапазонах, размер конкретной инициальной клетки не может служить надежным диагностическим признаком.

Полученные данные еще раз, уже на большем числе видов, подтверждают отмеченную тенденцию, согласно которой вступление в генеративную фазу происходит при достижении размеров, соответствующих 50 % от максимального видоспецифического размера. Более, чем у половины из 63 изученных видов критическая граница



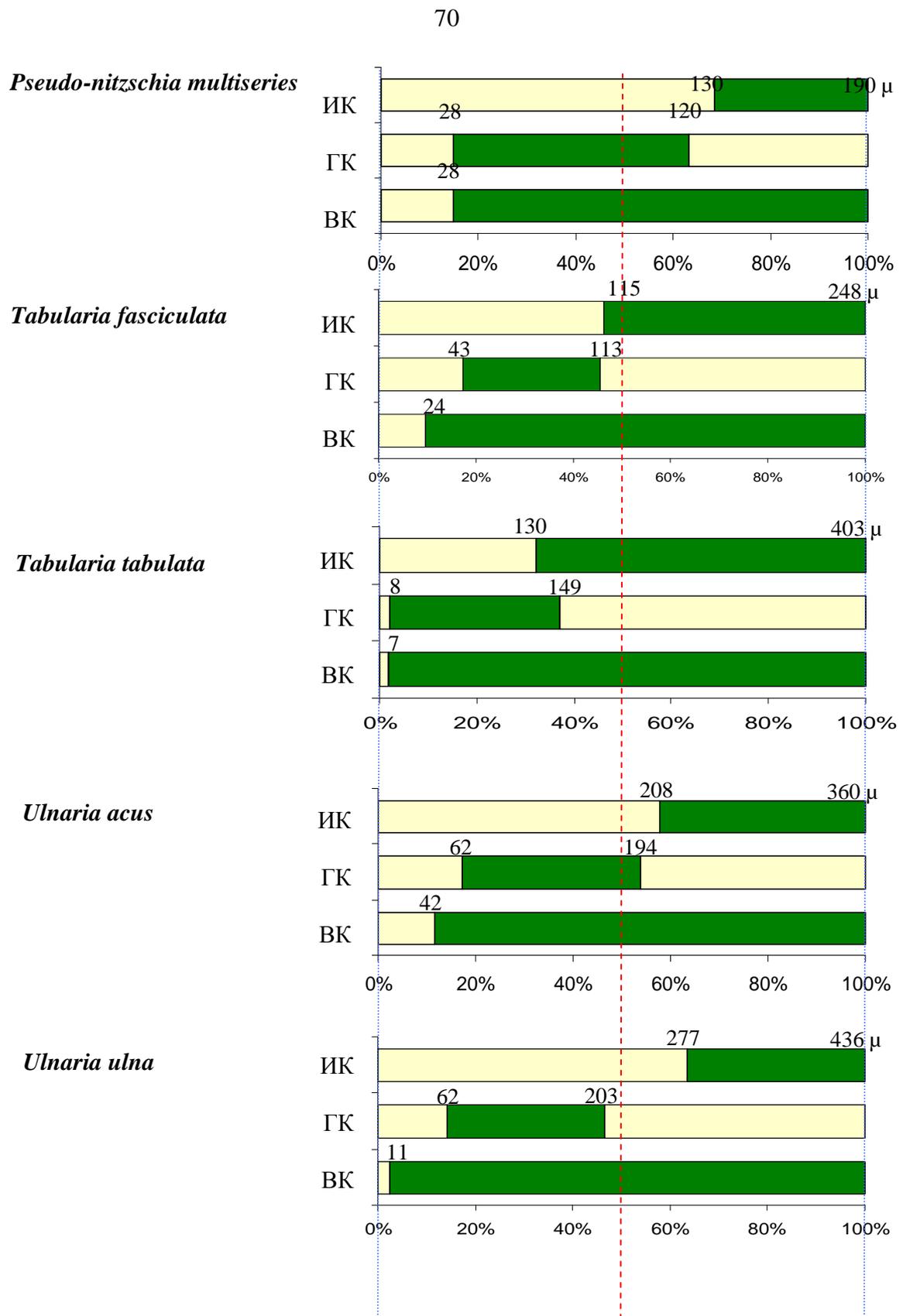


Рисунок 4.3 — Диаграммы, отображающие размеры клеток в соответствующих фазах жизненного цикла отдельных видов диатомовых. ИК – инициальные клетки, ГК – гаметангиальные клетки, ВК – вегетативные клетки. По оси абсцисс указан размер клеток в мкм, соответствующий кардинальным пунктам жизненного цикла, и в % от максимального видоспецифического размера

Таблица 4.1 — Диапазоны и соотношения размеров клеток на разных этапах жизненного цикла

Вид	Характерный тип воспроизведения ¹⁾	Ссылка	Диапазон размеров клеток ²⁾ (мкм)		Коэффициент восстановления размеров ³⁾		Верхняя граница полового размера-ного диапазона, В*100/А (%)	Диапазон размеров гаметангиев в общем диапазоне (%), (В-С)*100/(А-С)	Диапазон размеров инициальных клеток в общем диапазоне (%), (А-Е)*100/(А-С)
			Гаметангии, ⁴⁾ [С...В]	Инициальные клетки, [Е...А]	Для наименьших гаметангиев, Е/С	Для наибольших гаметангиев, А/В			
<i>Achnanthes longipes</i>	IC (обычен) или ПА ⁵⁾	Roshchin, 1994; Chepurnov & Mann, 1997	18-96	100-178	5,56	1,85	54	49	49
<i>Achnanthes javanica</i> f. <i>subconstricta</i>	?	Mizuno, 1998	18-35	76-102	4,22	2,91	34	20	31
<i>Amphora arcus</i>	IV	Mann, 1994b	48-60	94-113	1,96	1,88	53	18	29
<i>Aulacoseira ambigua</i>	Oogamy	Bethge, 1925 [in Edlund & Bixby, 2001]	4.1-14.1	16.7-42.6	4,07	3,02	33	26	67
<i>Aulacoseira baicalensis</i>	Oogamy	Skabitschewsky, 1929 [in Edlund & Bixby, 2001]	9.6-14.4	25.6-36.8	2,67	2,56	39	18	41
<i>Aulacoseira granulata</i>	Oogamy	Bethge, 1925 [in Edlund & Bixby, 2001]	9.3-16.7	29.6-35.2	3,18	2,11	47	29	22

Продолжение таблицы 4.1

<i>Aulacoseira islandica</i> <i>ssp. helvetica</i>	Oogamy	Bethge, 1925 [in Edlund & Bixby, 2001], Plöner Sea	7.0-12.2	18.5-30.7	2,64	2,52	40	22	51
		<i>Ibid</i> , Havel	4.8-10.8	14.1-30.4	2,94	2,81	36	23	64
<i>Aulacoseira herzogii</i>	Oogamy	Jewson <i>et al.</i> , 1993	4.1-5.6	13.1-18.2	3,20	3,25	31	11	36
<i>Aulacoseira subarctica</i>	Oogamy	Jewson, 1992 <i>b</i>	2.5-9.5	12.0-19.0	4,80	2,00	50	42	42
<i>Berkeleya micans</i>	IB	Davidovich, 1999	30-(~70) ⁶⁾	95-145	3,17	2,07	48	35	43
<i>B. rutilans</i>	IB	Tschermak-Woess, 1973	8-21	31-40	3,88	1,90	53	41	28
<i>Biddulphia granulata</i>	Oogamy	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	49-73	(?)-197	?	2,70	37	16	?
<i>B. rhombus</i>	Oogamy	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	34-81	(?)-168	?	2,07	48	35	?
<i>B. mobiliensis</i>	Oogamy	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	51-94	(?)-234	?	2,49	40	23	?
<i>Caloneis silicula</i>	IC	Mann, 1989	32-62	100-120	3,13	1,94	52	34	23
		Mann, 1989 <i>b</i> , “minor” deme	22-38	68-84	3,09	2,21	45	26	26
		<i>Ibid</i> , “major” deme	29-68	92-127	3,17	1,87	54	40	36
<i>Campylopyxis germainii</i>	IC	Mann, 1990	10-15	~30	3,00	2,00	50	25	?
<i>Chaetoceros diadema</i>	Oogamy	French & Hargraves, 1985	6-20	39-42	6,50	2,10	48	39	8
<i>Cocconeis pellucida</i>	IIB	Mizuno, 1998	19.5-26.5	52.5-67.8	2,69	2,56	39	14	32
<i>C. placentula</i>	IIB	Edlund & Bixby, 2001	14.9-23.2	32.9-50.6	2,21	2,18	46	23	50

Продолжение таблицы 4.1

	Partheno- genesis	Edlund & Bixby, 2001	14.6-21.7	32.6-50.0	2,23	2,30	43	20	49
<i>C. scutellum</i> var. <i>ornata</i>	IIB	Mizuno & Okuda, 1985	15.2-21.4	44-49	2,89	2,29	44	18	15
<i>C. scutellum</i> var. <i>scutellum</i>	IIA	Mizuno, 1987	17.8-28.9	43.3-59.5	2,43	2,06	49	27	39
<i>Corethron</i> <i>criophilum</i>	Oogamy	Crawford, 1995	12-(~40)	65-80	5,42	2,00	50	41	22
<i>Coscinodiscus granii</i>	Oogamy, sometimes non-oogamy	Roshchin, 1973	38-188	127-248	3,34	1,32	76	71	58
		Schmid, 1994a	130-300	220-400	1,69	1,33	75	63	67
<i>C. wailesii</i>	Oogamy	Nagai <i>et al.</i> , 1995	90-350	300-485	3,33	1,39	72	66	47
		Schmid, 1990	280-350	(~460)-550	1,64	1,57	64	26	33
<i>Cyclotella</i> <i>meneghiniana</i>	Oogamy	Ermolaeva, 1953	10-16	32-40	3,20	2,50	40	20	27
		Rao, 1971	4.5-19.5 7)	21-37.5	4,67	1,92	52	45	50
<i>C. ocellata</i>	Oogamy	Pérez-Martínez <i>et al.</i> , 1992	4.5-9.5	14-27	3,11	2,84	35	22	58
<i>Cymatopleura solea</i>	IA	Mann, 1989b, "major" deme	84-135	226-279	2,69	2,07	48	26	27
<i>Cymbella cistula</i>	IA	Edlund & Bixby, 2001, Hell Creek, Michigan	32.9-51.7	88.0-105.1	2,67	2,03	49	26	24
		Lake Hovsgol, Mongolia	53.1-73.1	110-138	2,07	1,89	53	24	33

Продолжение таблицы 4.1

<i>Cymbellonitzschia diluviana</i>	?	Jewson & Lowry, 1993	6-13	31-42	5,17	3,23	31	19	31
<i>Eunotia bilunaris</i>	IIA	Mann <i>et al.</i> , 2003	11-50	100-135	9,09	2,70	37	31	28
<i>Fragilaria delicatissima</i>	IA	Roshchin, 1994	12-59	64-149	5,33	2,53	40	34	62
<i>Gomphoneis mesta</i>	IA	Passy-Tolar & Lowe, 1995	26.5-(?)	56-81.6	2,11	?	?	?	46
<i>Gomphonema parvulum</i>	IA	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	11-18	(?)-40	?	2,22	45	24	?
	IA	Edlund & Bixby, 2001	15.5-28.4	38.6-52.8	2,49	1,86	54	35	38
<i>Haslea subagnita</i>	IB	Chepurnov, 1993; Roshchin, 1994	16-36	72-75	4,50	2,08	48	35	14
<i>Leptocylindrus danicus</i>	Oogamy	French & Hargraves, 1985	3-8	(?)-14	?	1,75	57	45	?
<i>Licmophora abbreviata</i>	IA	Roshchin, 1994	25-65	101-119	4,04	1,83	55	43	19
<i>L. ehrenbergii</i>	IA	Roshchin, 1994	15-(~70)	156-171	10,40	2,44	41	35	10
<i>L. gracilis</i> var. <i>anglica</i>	IA	Mann, 1982	15-23	~ 50	3,33	2,17	46	23	?
<i>Mastogloia smithii</i>	IA	Stickle, 1986	48-60	(~100)-120	2,08	2,00	50	17	28
<i>Melosira moniliformis</i>	Oogamy	Migita, 1967	5-20	22-38	4,40	1,40	71	65	26
<i>M. varians</i>	Oogamy	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	13-20	(?)-47	?	2,35	43	21	?
		Jewson, 1993	13-21	(?)-40	?	1,90	53	30	?

Продолжение таблицы 4.1

<i>Navicula cuspidata</i>	IB	Cohn <i>et al.</i> , 1989	87-103 ⁸⁾	154-218 ⁸⁾	1,77	2,12	47	12	49
<i>N. oblonga</i>	IB	Mann & Stickle, 1989	70-118.5	(~210)-220	3,00	1,86	54	32	7
<i>N. protracta</i>	IC	Mann, 1988a	24.0-33.5	48-57	2,00	1,70	59	29	27
<i>N. seminulum</i>	?	von Stosch, 1956 [in Wiese, 1969]	5.4-8.6	(?)-18	?	2,09	48	25	?
<i>Neidium affine</i>	IA	Mann, 1984a	39-66	94-108	2,41	1,64	61	39	20
		Mann, 1989b, “minor” deme	34-66	93-111	2,74	1,68	59	42	23
		<i>Ibid</i> , “major” deme	62-84	135-148	2,18	1,76	57	26	15
<i>Nitzschia lanceolata</i>	IA	Roshchin, 1990; 1994	18-87	97-168	5,39	1,93	52	46	47
<i>N. longissima</i>	IA	Roshchin, 1994;	174-469	650-750	3,74	1,60	63	51	17
		Davidovich, unpublished	51-425	380-851	7,45	2,00	50	47	59
<i>N. recta</i>	IA	Mann, 1986; Clever-Euler, 1952	60-80	135-167	2,25	2,09	48	19	30
<i>N. sigmoidea</i>	IA	Mann, 1988b	133-312	(?)-460	?	1,47	68	55	?
<i>Placoneis gastrum</i>	IA	Mann & Stickle, 1995a	28-41	57-68	2,04	1,66	60	33	28
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i>	IA	Chepurnov <i>et al.</i> , 2004	(?)-106	(?)-122	?	1,15	87	?	?
<i>P. multiseriis</i>	IA	Bates, Davidovich, 2002	33-120	130-190	3,94	1,58	63	55	38
<i>P. pungens</i>	IA	Chepurnov <i>et al.</i> , 2004	25-115	(?)-175	?	1,52	66	60	?
<i>Rhoicosphenia curvata</i>	IB	Mann, 1984b	10-32	39-76	3,90	2,38	42	33	56
<i>Skeletonema costatum</i>	Oogamy	Migita, 1967	2.5-9	15.2-26	6,08	2,89	35	28	46
<i>Sellaphora pupula</i>	IIB	Mann, 1989b, “small” deme	15.5-23	30-35	1,94	1,52	66	38	26

Окончание таблицы 4.1

		<i>Ibid</i> , “capitate” deme	19-35	34-43	1,79	1,23	81	67	38
		<i>Ibid</i> , “rectangular” deme	19.5-36	45-57	2,31	1,58	63	44	32
		Mann <i>et al.</i> , 1999	12.2-27.5	31-44	2,54	1,60	63	48	41
<i>Stauroneis anceps</i> var. <i>siberica</i>	IC	Mann, 1996	20-59	81-130	4,05	2,20	45	35	45
<i>S. phoenicenteron</i>	IC	Mann & Stickle, 1995b	109-162	(~258)-380	2,37	2,35	43	20	45
<i>Stephanodiscus</i> <i>neoastraea</i>	Oogamy	Jewson, 1992a	20-34	53-70	2,65	2,06	49	28	34
<i>Stephanopyxis</i> <i>palmeriana</i>	Oogamy	Drebes, 1966	19-60	(?)-156	?	2,60	38	30	?
<i>Tabellaria fenestrata</i>	?	Mann, 1988b	30-45	50-85	1,67	1,89	53	27	64
<i>Tabularia tabulata</i>	IA	Roshchin, 1987	14-120	116-258	8,29	2,15	47	43	58
Среднее ±					3,54 ±	2,07 ±	51 ±		
стандартное					1,78	0,46	12	33 ± 14	36 ± 16
отклонение									

Примечание. ¹⁾ – неоогамные типы воспроизведения обозначены согласно классификации Гайтлера [Geitler, 1932]; оогамия центрических не во всех случаях подтверждена в цитируемой оригинальной работе (отсутствует наблюдение сперматогенеза); ²⁾ – буквенные обозначения соответствуют границам фаз жизненного цикла так, как указано на рисунках 4.10 и 4.11; ³⁾ – коэффициент восстановления размеров клеток (соотношение между размером родительских клеток и размером образующихся инициальных клеток); принято допущение, что меньшие гаметангии дают инициальные клетки меньшего размера и наоборот; ⁴⁾ – у центрических был измерен размер оогониев; ⁵⁾ – инбредные клоны обнаруживали иные типы (детали см. в работе [Chernov, Mann, 1997]; ⁶⁾ – приблизительные границы показаны в скобках; ⁷⁾ – Rao [1971] привел другой диапазон размеров, но здесь мы используем размеры, представленные в таблице в цитируемой статье; ⁸⁾ – диапазон размеров был рассчитан как среднее ± 2 стандартных отклонения

располагалась в узком диапазоне от 45 до 55 %. Тем самым подчеркивается факт, не всегда принимаемый во внимание диатомологами, особенно теми, кто занимается таксономией диатомовых: полный диапазон размеров клеток должен быть таким, чтобы крайние значения различались, как минимум вдвое. В противном случае, когда приводится недостаточно широкий диапазон, а таких примеров в литературе достаточно, отрицается вышеуказанная закономерность, и диатомовым "не оставляют шансов" вступить в репродуктивную фазу жизненного цикла. Диапазоны размеров, верхняя и нижняя границы которых, отличаются меньше, чем в два раза, следует признать зауженными, а виды, для которых описаны такие диапазоны, недоисследованными. Такие диапазоны нельзя представлять и использовать как видоспецифические при установлении диагноза вида.

В среднем для представленных в таблице видов коэффициент восстановления размеров для меньших гаметангиев, т.е. находящихся в конце жизненного цикла, оказывается большим, чем для более крупных гаметангиев того же вида водоросли.

Для каждого из изученных нами видов мы определили скорость уменьшения размеров клеток в стандартных условиях содержания: квазипостоянная температура $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в помещении с естественным освещением со стороны северного окна, содержание

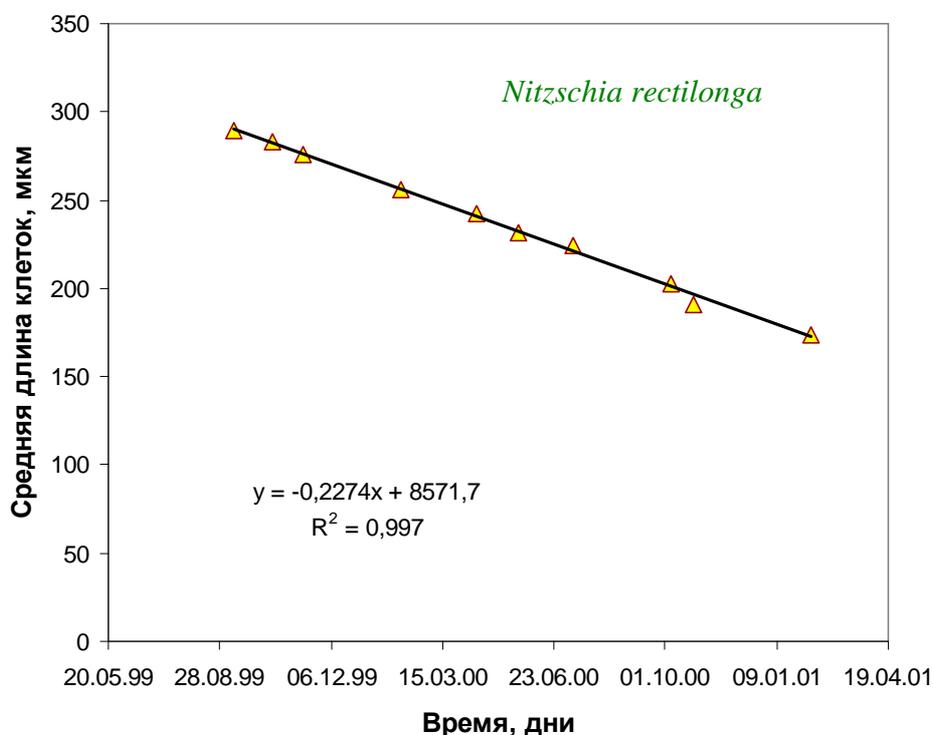


Рисунок 4.4 — Изменение длины клеток у *Nitzschia rectilonga* при содержании в течение полутора лет в регулярно (еженедельно) пересеваемой культуре при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и естественном рассеянном освещении

морских видов в модифицированной среде ESAW (см. раздел "Методы исследования"), пресноводных в среде Dm, с еженедельными пересевами (в ряде случаев пересевы осуществлялись с десятидневным и двухнедельным интервалами). Было установлено, что в течение года, несмотря на то, что условия освещения менялись, скорость уменьшения размеров в указанных условиях оставалась относительно постоянной (рисунок 4.4), своей для каждого конкретного вида, благодаря чему оказалось возможным аппроксимировать зависимость линейным уравнением и рассчитать среднюю скорость уменьшения размеров клеток. Скорость уменьшения размеров в абсолютном выражении существенно зависела от видовой принадлежности, наибольшей она была у крупноклеточных видов, с "массивным" панцирем, таких, как *Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow, *N. rectilonga* Takano или *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow, соответственно 11,7; 9,1 и 8,6 мкм/месяц (таблица 4.2). У самой мелкоклеточной из исследованных диатомей, *Dimeregramma* sp. скорость уменьшения размеров была 0,4 мкм/месяц, т.е. в абсолютных значениях в 30 раз меньшей по сравнению с *N. longissima*. Однако, если рассчитать относительную скорость уменьшения клеток, то получим совсем другую картину. Наибольшей оказалась скорость уменьшения размеров у *Dimeregramma* sp., ежемесячно размер убывал на 4,0% от общего диапазона размеров, в то время как, например, у *N. rectilonga* всего на 1,1%. В результате продолжительность жизненной истории оказалась наибольшей у *N. rectilonga* и наименьшей у *Dimeregramma* sp., соответственно 89 и 25 месяцев. Разумеется, полученные значения нельзя в полной мере отнести к природным популяциям, однако полученные данные дают весьма любопытную картину в оценочном и сравнительном планах. Так, продолжительность жизненной истории у изученных видов составляет от двух до семи с половиной лет, в среднем 4,9 года, а для достижения генеративной фазы в жизненном цикле должно пройти от 1,3 до 3,9 лет, в среднем 2,9 года. Как видно, при очень больших различиях в максимальных размерах клеток (по этому показателю виды различались в 80 раз), абсолютной скорости уменьшения размеров (различие 32-х кратное), относительной скорости уменьшения размеров (различались в 3,6 раза), продолжительность дорепродуктивной фазы оказалась наиболее выровненной — всего трехкратное различие между видами.

Межклоновые различия в скорости уменьшения размеров клеток были в общем незначительными, обычно не более, чем полтора-двакратными (рисунок 4.5), но в отдельных случаях оказывались существенными, двух-трехкратными. Любопытное исключение

Таблица 4.2 — Скорость уменьшения апикального размера клеток и расчетная продолжительность фаз жизненного цикла некоторых видов диатомовых при содержании в культуре в стандартных условиях ^{а)}

Вид	Количество исследо- ванных клонов	Средняя скорость уменьшения размеров и ошибка среднего, мкм/месяц	Известный диапазон размеров, мкм	Максималь- ный размер гаметангиев, мкм	Средняя скорость уменьшения размеров по отношению к общему диапазону размеров, % месяц ⁻¹	Расчетная продолжи- тельность всей жизненной истории, лет	Расчетная продолжительность дорепродуктивной (вегетативной) фазы, лет
<i>Ardissonaea crystallina</i>	11	8,6 ± 0,3	118–678	346	1,5	5,4	3,2
<i>Asterionella formosa</i>	10	0,4 ± 0,2	8–42	нд ^{б)}	1,1	нд	нд
<i>Dimeregramma sp.</i>	3	0,4 ± 0,04	3,2–12,8	5,3	4,0	2,1	1,6
<i>Haslea karadagensis</i>	13	2,9 ± 0,4	18–97	52	3,6	2,3	1,3
<i>Haslea ostrearia</i>	35	2,0 ± 0,2	16–143	68	1,6	5,3	3,1
<i>Nitzschia longissima</i>	11	11,7 ± 1,2	61–737	307	1,7	4,8	3,1
<i>Nitzschia rectilonga</i>	11	9,1 ± 0,7	43–851	422	1,1	7,4	3,9
<i>Tabularia fasciculata</i>	2	3,3 ± 0,2	24–248	113	1,5	5,6	3,4
<i>Tabularia tabulata</i>	8	6,1 ± 1,6	7–403	149	1,5	5,4	3,5
<i>Ulnaria acus</i>	5	5,7 ± 1,1	42–360	194	1,8	4,6	2,4
<i>Ulnaria ulna</i>	32	5,5 ± 0,8	11–436	203	1,3	6,4	3,5
Соотношение максимального и минимального значений ^{в)}		31,6	84,2 ^{г)}	79,6	3,6	3,5	3,0

Примечание. ^{а)} стандартные условия содержания культур в лаборатории: среда ESAW или Dm, температура 20±2°C, освещение со стороны северного окна; ^{б)} у этого вида половое воспроизведение не обнаружено; ^{в)} в целом для всех видов; ^{г)} соотношение максимальной и минимальной ширины диапазонов

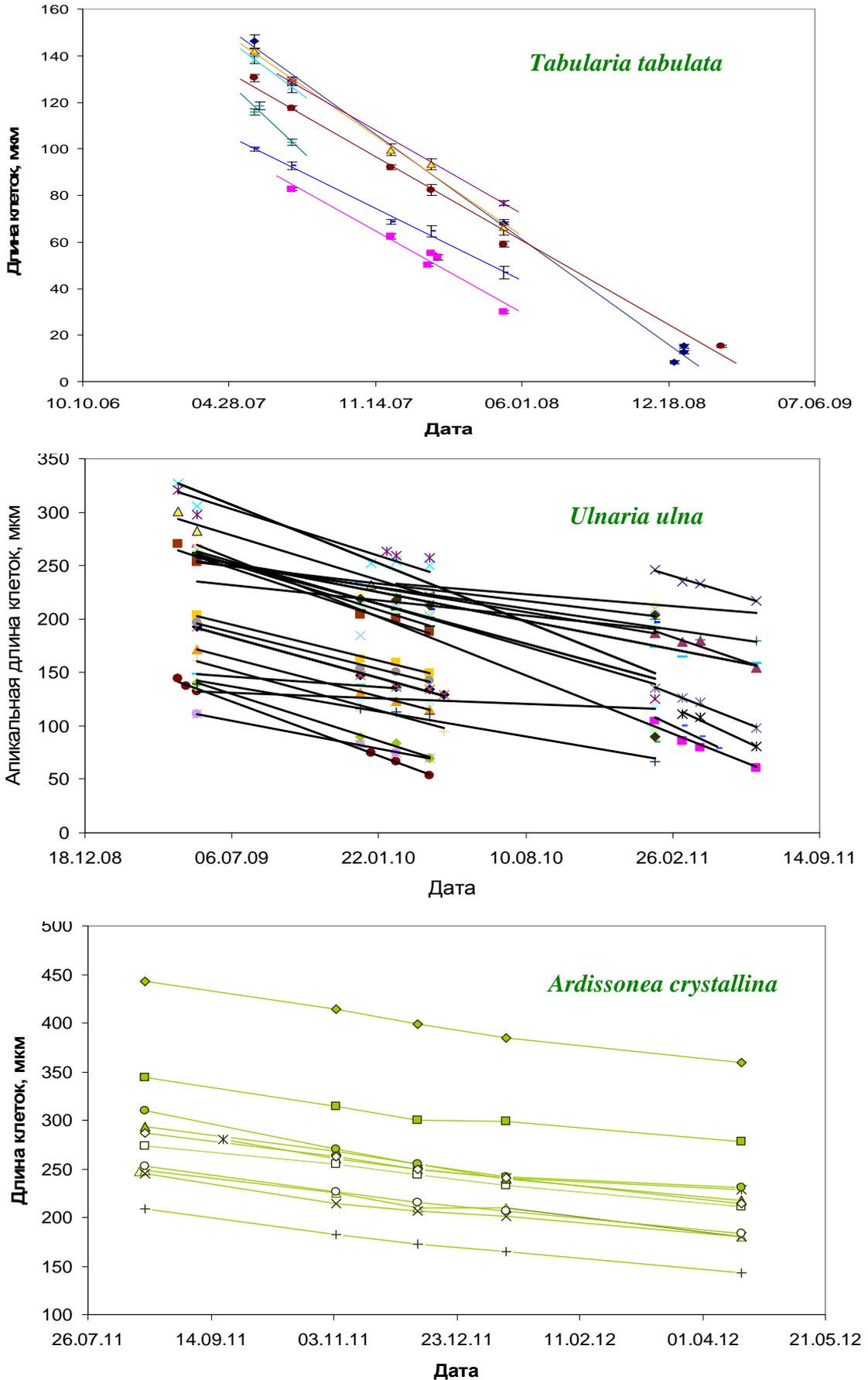


Рисунок 4.5 — Уменьшение длины клеток в клонах двух видов бесшовных пеннатных диатомовых (*Tabularia tabulata*, *Ulnaria ulna*) и одного представителя биполярных центрических (*Ardissonaea crystallina*) при содержании в культуре

продемонстрировала *Asterionella formosa* Hassall [Давидович, 2005б]. Из десяти клонов, содержащихся в культуре в течение 250 дней, только у трех наблюдалось уменьшение средних размеров клеток, а у остальных статистически значимых изменений размеров не выявлено. Следует отметить, что у этого вида половое воспроизведение не было обнаружено, несмотря на многочисленные предпринимавшиеся попытки [Lund, 1961; Mann, 1988; de Bruin *et al.*, 2004]. Для *Asterionella* описано скачкообразное уменьшения размеров [Kling, 1993], и остается непонятным, как оно компенсируется в жизненном цикле.

Еще одно важное свойство, которое следует отметить при изучении жизненных циклов — изменение формы клеток. У некоторых видов наблюдается более-менее пропорциональное уменьшение апикального, трансапикального и первальварного размеров, что ведет к формированию уменьшенных "копий" клеток. У других видов эти размеры в жизненном цикле изменяются в разной степени (непропорционально) и даже разнонаправленно (см. Приложение Д), в результате форма клеток существенно меняется. В качестве примера можно привести *Haslea ostrearia*, у которой уменьшение апикального размера сопровождается пропорциональным уменьшением трансапикального размера, и *H. karadagensis*, у которой при уменьшении апикальной длины трансапикальный размер (ширина) клеток, напротив, слегка увеличивается (рисунок 4.6). Клетки *H. karadagensis* в конце жизненного цикла выглядят относительно более широкими (рисунок 4.7).

У некоторых видов в течение жизненного цикла может увеличиваться первальварный размер, причем очень существенно, как, например, у *Dimeregramma* sp. (см рисунок 4.7). По-видимому, достигается это за счет формирования дополнительных вставочных ободков. Биологический смысл такого изменения размеров может состоять в том, чтобы при неизбежном уменьшении длины как можно дольше сохранять неизменным или уменьшить скорость изменения объема протопласта клеток. Благодаря этому жизненный цикл не будет слишком коротким, и каждый конкретный клон в таком случае получит возможность увеличить свою численность и "растянуть" генеративный период на более продолжительный срок, что повысит шанс оставить потомство (например, при необходимости встречи половых партнеров). Эта гипотеза обсуждалась исчерпывающе [Mann, 1988]. Одним из основополагающих элементов дискуссии было представление о продолжительности жизненного цикла. У диатомовых "цена" или "стоимость" полового воспроизведения достаточно высока [Lewis, 1983, 1984], т.к. при воспроизведении родительские клетки перестают существовать, количество дочерних клеток новой генерации равно, а у некоторых видов вдвое меньше количества родительских клеток,

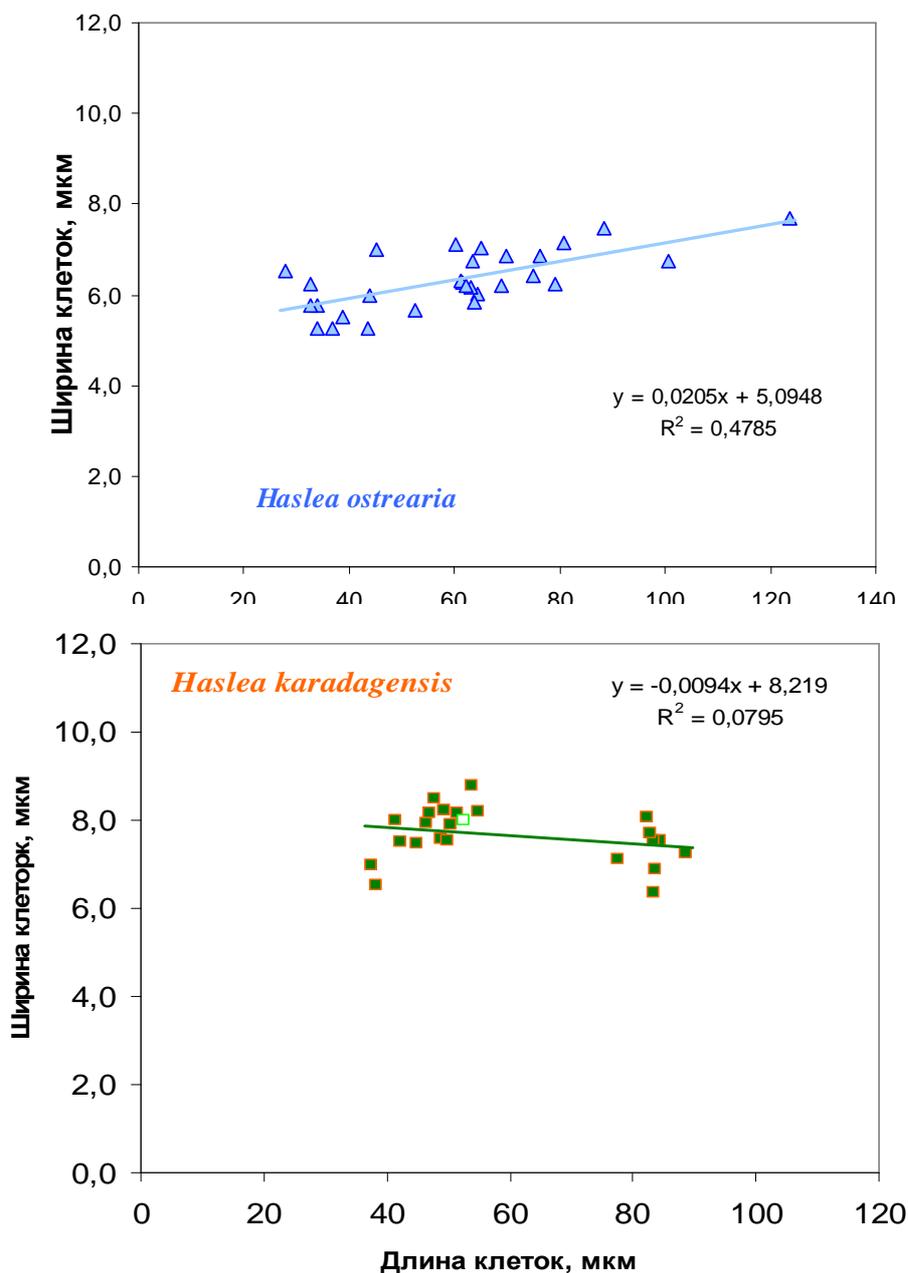


Рисунок 4.6 — Зависимость между длиной (апикальный размер) и шириной клеток (трансапикальный размер) у *Haslea ostrearia* и *H. karadagensis*. Незаштрихованный значок – среднее значение для природной популяции (одноразовая съемка)

участвующих в воспроизведении. Очевидно, что в таком случае использование ресурса (родительских клеток) не может быть расточительным. Логически, и вероятно, биологически оправдано накопление достаточного количества клеток в популяции (что происходит за счет вегетативного деления) для участия их в последующем процессе полового воспроизведения. Lewis [1984] предположил поэтому, что у диатомовых цикл редукции-восстановления размеров выполняет роль "часового механизма", который

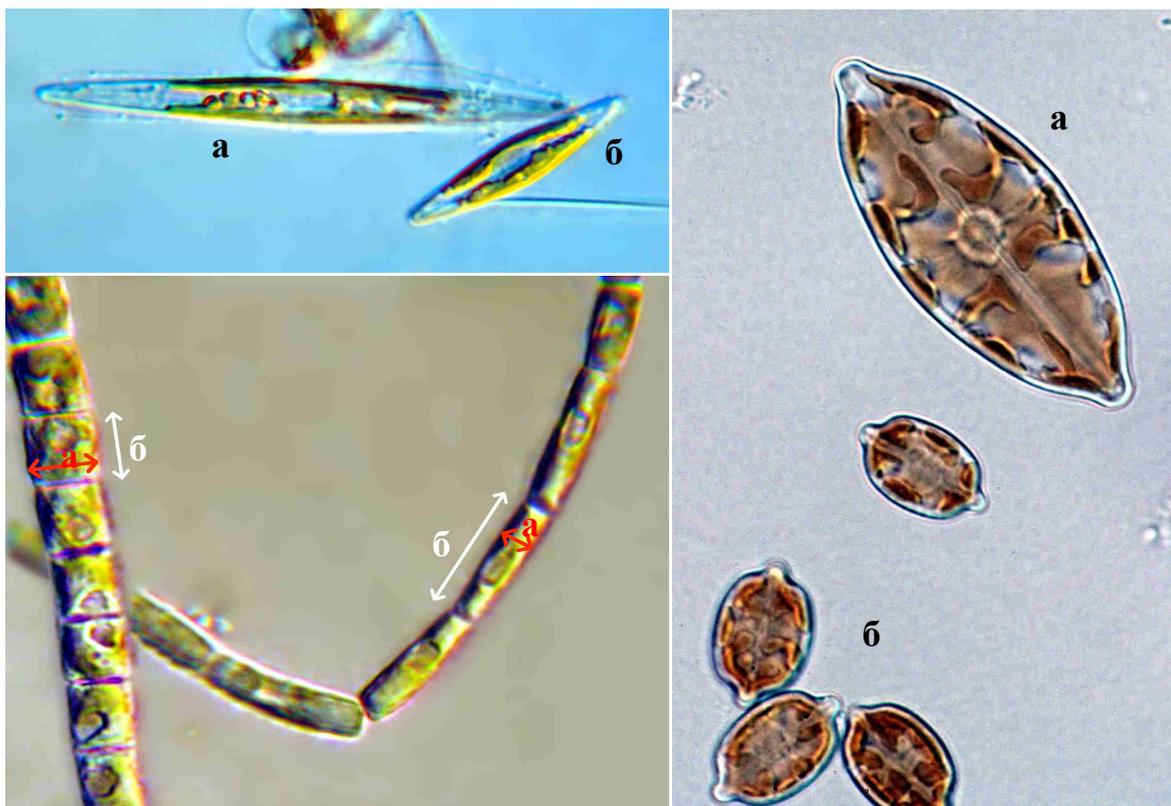


Рисунок 4.7 — Различия формы клеток в начале и конце жизненного цикла. *Haslea karadagensis* (вверху слева), инициальная клетка (а) в сравнении с клеткой родительского клона (б): при существенном различии апикального размера (длины), трансапикальный размер (ширина) клеток практически не отличается. Клетки в конце жизненного цикла часто приобретают деформации, особенно при содержании в культуре в неподходящих условиях. У *Dimeregramma* sp. (внизу слева) при уменьшении апикального размера (а) первальварный размер (высота) клетки (б) в конце жизненного цикла существенно возрастает. У *Schizostauron* sp. (справа) постинициальные клетки (а) удлиненные, широко ланцетные, апикальный размер почти вдвое больше трансапикального, у клеток в конце жизненного цикла (б) длина и ширина практически равны, форма становится близка к шаровидной

препятствует преждевременному наступлению генеративной фазы. Этот механизм позволяет диатомовым отсрочить наступление генеративной фазы в интервале большем, чем годовой цикл, при этом частично или полностью не завися от изменений продолжительности светового периода, температуры, обеспеченности биогенными элементами и проч. Очевидно, что продолжительность дорепродуктивной фазы жизненного цикла в таком случае должна быть больше одного года. Полученные данные

(см. таблицу 4.1) достаточно хорошо согласуются с этими теоретическими представлениями.

Основываясь на вышеизложенных закономерностях можно проиллюстрировать возможные варианты изменения размеров клеток в жизненном цикле и вероятную продолжительность жизненного цикла (рисунок 4.8). Инициальные клетки, появившиеся в результате полового воспроизведения, имеют размеры близкие к максимальным видоспецифическим. Крупные клетки ни при каких внешних условиях не вступают в половой процесс. Уменьшение размеров клеток в жизненном цикле ведет к изменению их физиологического статуса. Клетки, уменьшившиеся до определенного порогового размера (кардинальный пункт по Гайтлеру), приобретают способность к половому воспроизведению. Механизм этого явления остается пока неизученным. Переход в генеративную фазу по факту достижения размеров, допускающих половое воспроизведение, не означает, что оно непременно состоится. Для этого необходимо совпадение и других условий: наличие полового партнера (если вид является раздельнополым), благоприятные физические и химические условия среды. Если эти условия не выполняются, клетки, оставаясь сексуально индуцибельными, продолжают делиться вегетативно в ожидании стечения благоприятных обстоятельств. В результате,

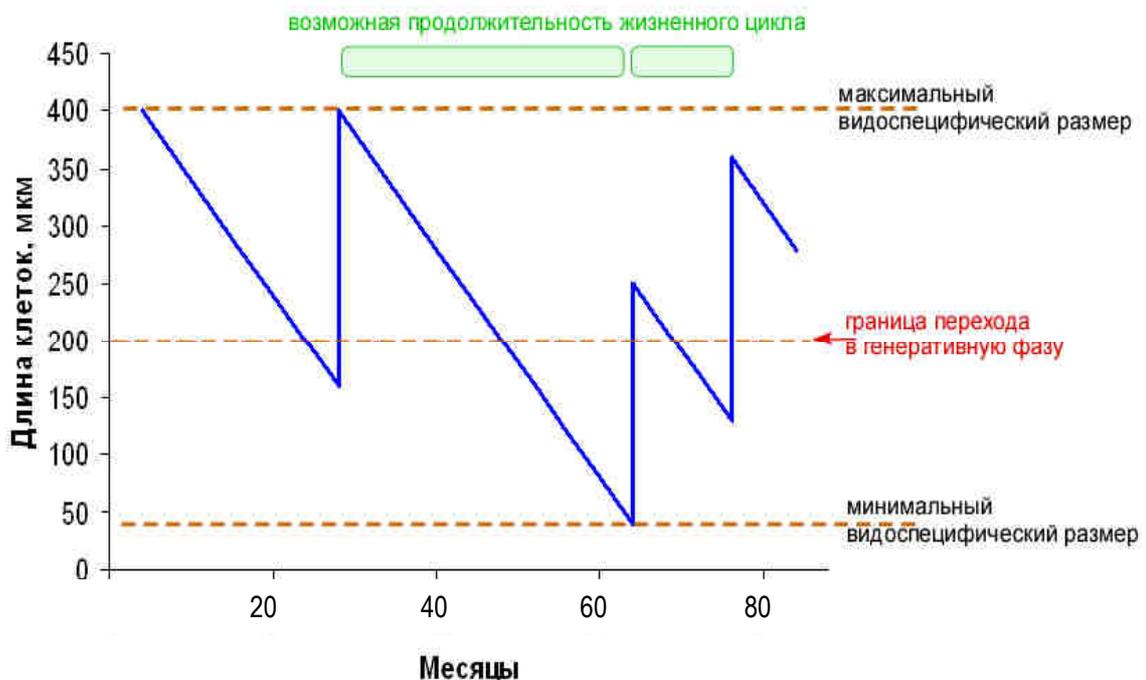


Рисунок 4.8 — Условная схема изменения размера клетки в жизненных циклах.

Вступление в половой процесс размернозависимо, однако носит вероятностный характер, т.к. определяется многими факторами, поэтому возможная продолжительность жизненных циклов может существенно различаться

учитывая вероятностный характер перехода к процессу полового воспроизведения, продолжительность жизненного цикла для каждого клона оказывается различной. Размер инициальных клеток рассматривается как одна из кардинальных точек в жизненном цикле [Chernov et al, 2004] и считается максимальным для данного вида [Round *et al.*, 1990]. Этот постулат нуждается в уточнении. Известна установленная для ряда видов прямо пропорциональная зависимость размера дочерних (инициальных) клеток от размера родительских (гаметангиальных) клеток [Рощин, 1973; Давидович, 1994; Edlund, Vixby, 2001]. В то же время у других видов эта зависимость отсутствует. Это различие может проявляться даже у близкородственных видов (рисунок 4.9). Наличие или отсутствие зависимости размера дочерних клеток от размера родительских клеток будет существенным образом сказываться на потенциальной продолжительности жизненной истории клонов, полученных от инициальных клеток. В случае отсутствия указанной зависимости диапазон размеров формирующихся инициальных клеток будет очень узким, и как следствие, все появившиеся клоны потенциально будут иметь равную продолжительность жизненного цикла (рисунок 4.10). Напротив, у видов с явно выраженной зависимостью длины инициальных клеток от длины родительских клеток диапазон варьирования длины сформировавшихся при половом воспроизведении инициальных клеток довольно широк, его никак нельзя назвать кардинальным пунктом (рисунок 4.11). При этом потенциальная продолжительность жизненной истории клонов, создаваемых каждой инициальной клетки, будет различной.

4.3 Жизненные циклы отдельных видов

Мы в своей работе всегда уделяли пристальное внимание изучению жизненных циклов исследуемых видов. На сегодняшний день автором самостоятельно и в соавторстве описаны впервые и внесены дополнения к описанию жизненных циклов 17 видов диатомовых, включая *Haslea subagnita* (Proshkina-Lavrenko) Makarova et Karaeva [Давидович, 1991, 1992, Davidovich, 1992], *Nitzschia lanceolata* W.Smith [Давидович, 1995, Davidovich, 1998], *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle и *P. calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle под именем *P. pseudodelicatissima* (Hasle) Hasle [Davidovich and Bates, 1998a, b, 2002], *Berkeleya micans* (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck [Давидович, 1999; Davidovich, 2001a], *Nitzschia longissima* (Brébisson) Grunow [Давидович, 2002a], *N. rectilonga* Takano [Шоренко и др., 2014a], *Asterionella formosa* Hassall [Давидович, 2005b],

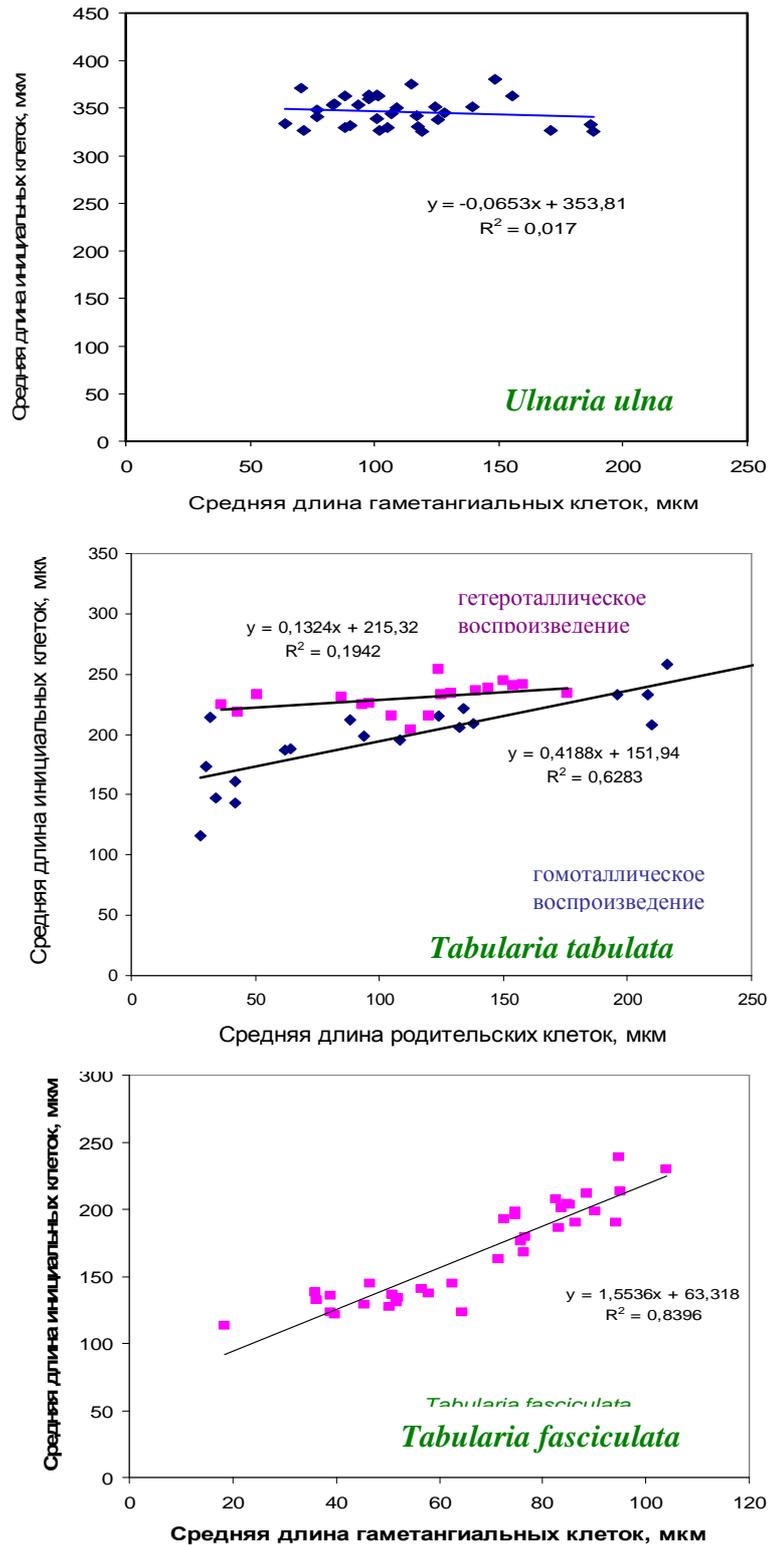


Рисунок 4.9 — Зависимость средней длины дочерних (инициальных) клеток от средней длины родительских (гаметаангиальных) клеток у трех близкородственных видов

Tabularia fasciculata (C.Agardh) D.M.Williams & Round [Kaczmarska *et al.*, 2009], *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen [Davidovich *et al.*, 2009], *T. tabulata* (C. Agardh) Snoeijs [Давидович, Давидович, 2010; Davidovich, Davidovich, 2011], *H. karadagensis* Davidovich,

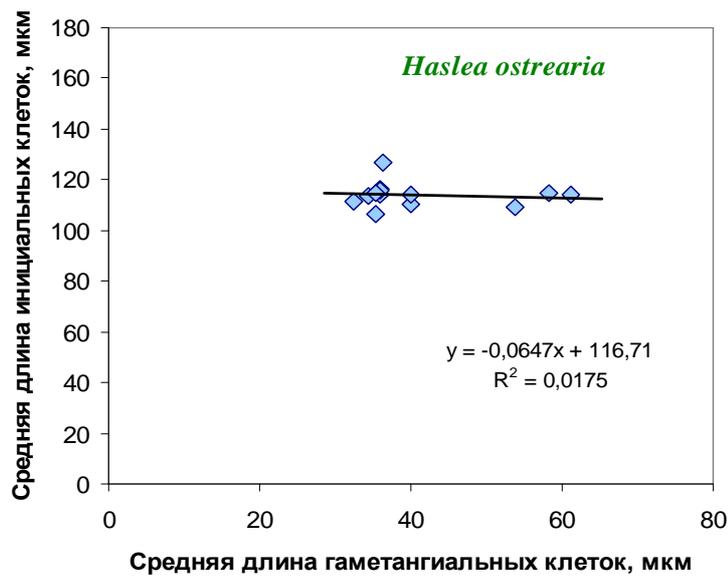
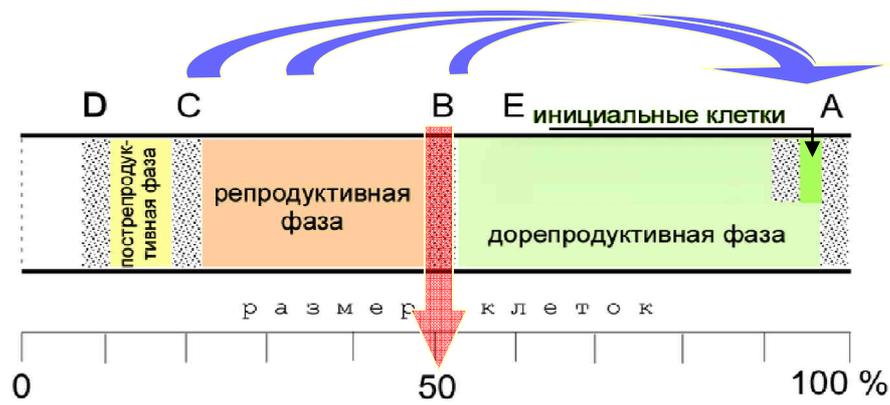


Рисунок 4.10 — У тех видов, у которых длина инициальных клеток не зависит от длины родительских клеток, диапазон варьирования инициальных клеток сравнительно небольшой, формально его можно считать кардинальным пунктом. Потенциальная продолжительность жизненной истории у всех клонов, полученных из сформировавшихся инициальных клеток, в таком случае одинакова

Gastineau & Mouget [Davidovich *et al.*, 2012a], *Ulnaria ulna* P.Compère [Podunay *et al.*, 2014], *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow [Davidovich *et al.*, 2016], *H. provincialis* Gastineau, Hansen & Mouget [Gastineau *et al.*, 2016], *Schizostauron* sp. [Davidovich *et al.*, 2017], *U. acus* (Kützing) M. Aboal [Подунай и др., 2017].

У всех названных видов жизненный цикл протекает по общей схеме, связанной с изменением размеров, и состоит из следующих фаз: дорепродуктивной, репродуктивной и пострепродуктивной. Выделение последней фазы в достаточной степени условно, поскольку потеря способности к половому воспроизведению объясняется, скорее всего, не

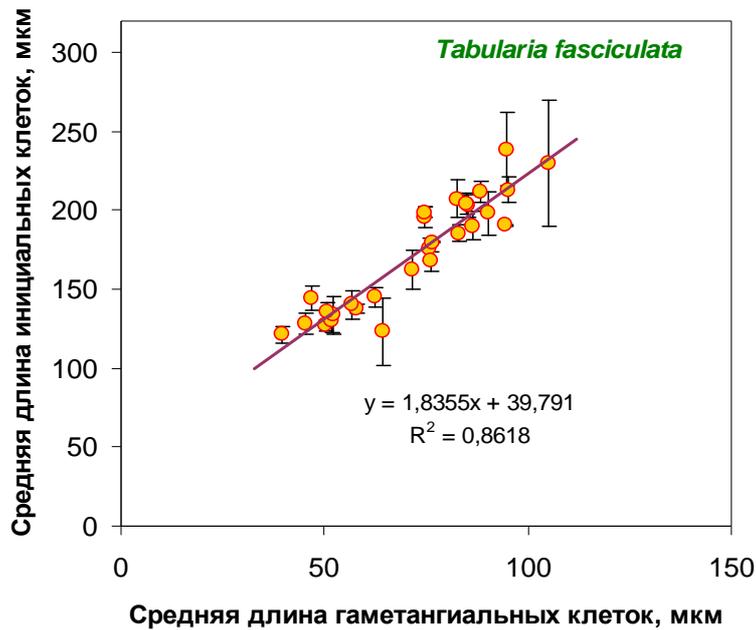
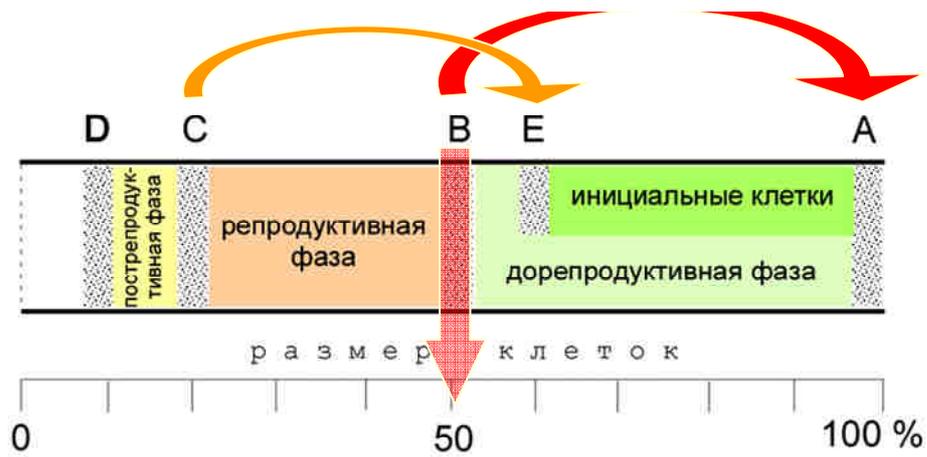


Рисунок 4.11 — У видов с явно выраженной зависимостью длины инициальных клеток от длины родительских клеток диапазон варьирования сформированных при половом воспроизведении инициальных клеток широк, его нельзя назвать кардинальным пунктом. Потенциальная продолжительность жизненной истории клонов, полученных от каждой инициальной клетки, при этом будет сильно различаться

внутренними причинами, как это происходит при пересечении верхней критической границы размеров репродуктивной фазы, а обусловлена постепенной потерей подвижности, способности без нарушений делиться вегетативно (нерасхождение клеток), появлением уродств и деформаций клеток и т.п. Обращает на себя внимание отсутствие полового процесса и незакономерное изменение размеров у *Asterionella formosa* [Давидович, 2005б].

4.4 Размеры клеток в природных популяциях

Изучение размеров клеток в природных популяциях дает обширную информацию не только о видовых характеристиках, например, о диапазоне размеров клеток, наблюдаемых для вида, но и о динамике популяций и жизненном цикле водорослей.

Анализ размерного распределения клеток по частоте встречаемости в популяциях нескольких видов бентосных диатомовых в районе Карадага показал (Приложение Г), что чаще всего в популяции присутствует несколько размерных групп, по этой причине мы наблюдаем полимодальное распределение (рисунок 4.12). Можно предположить, и для этого имеются веские основания [Mann, 1988; 2011], что каждый пик мультимодального распределения соответствует когорте клеток, появившихся в результате полового воспроизведения. Особенно ярко это проявляется у тех видов, для которых типична синхронная сексуальность. Как известно [Edlund, Stoermer, 1997], виды диатомовых, более или менее четко различаются по степени синхронности воспроизведения в природных популяциях. У видов с синхронной сексуальностью период полового воспроизведения в популяции ограничен обычно несколькими днями или неделями, вслед за ним наступает продолжительный — от нескольких месяцев до нескольких лет — период, когда клетки

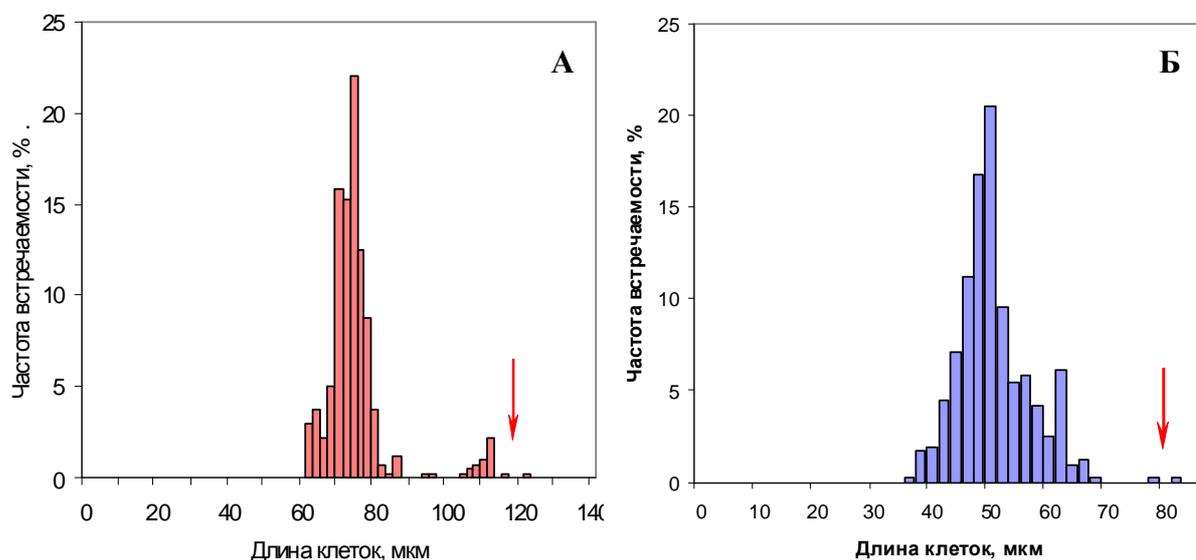


Рисунок 4.12 — Распределение апикального размера клеток по частоте встречаемости в природных популяциях *Berkeleya micans* (А, 12.02.1999, объем выборки $N=400$) и *Striatella unipunctata* (Б, 10.01.1999, $N=411$). Стрелкой помечены размеры клеток, появившихся в популяции недавно в результате аукоспороборазования

делятся исключительно вегетативным способом. Случаи краткосрочного массового полового воспроизведения наблюдались в популяциях как морских, *Corethron criophilum* Castracane [Crawford 1995], так и пресноводных, *Stephanodiscus* sp. [Jewson, 1992] диатомей. В таких ситуациях значительная часть клеток популяции становится сексуально индуцибельной. К этому следует добавить, что синхронность воспроизведения может быть как периодической, обусловленной сменой сезонных факторов [Jewson, 1992], так и непериодической, например, связанной с апвеллингами, изменениями солености и тому подобными явлениями. У "асинхронных" видов, напротив, ауксоспоруляция растянута на длительный период, иногда на весь год; при этом в каждый конкретный момент весьма незначительная часть популяции участвует в половом воспроизведении. Можно отметить, что даже у синхронно воспроизводящихся видов количество клеток, вступивших в половой процесс, редко превышает 1% [Jewson, 1992].

По нашим данным в пробах из природных популяций случаи обнаружения клеток, имеющих максимальные видоспецифические размеры, очень редки. Лишь при измерении количества клеток, которое превышает несколько сот или даже тысячу, появляется вероятность встретить одну-две клетки с размерами, соответствующими или близкими к максимальному видоспецифическому размеру (см. рисунок 3.1). Есть ряд причин, объясняющих редкие случаи обнаружения полового воспроизведения в природных популяциях [Mann, 1988]. Прежде всего, отметим, что к половому процессу клетки оказываются способными по достижении критических размеров, на что могут потребоваться месяцы и даже годы существования в дорепродуктивной фазе. Для вступления в половой процесс необходимо, помимо всего прочего, стечение благоприятных внешних факторов (необходимые условия освещения, температуры, солености и проч.), наличие полового партнера, если этого требует схема воспроизведения. Обычно лишь небольшая часть клеток в популяции вступает в половой процесс, остальные продолжают делиться вегетативно. В популяции половое воспроизведение продолжается недолго, от нескольких дней, до нескольких недель, хотя у некоторых видов оно может осуществляться на протяжении всего года, но тогда его рекуррентность очень небольшая. Митотический цикл в отличие от мейоза и последующего ауксоспорообразования, заканчивающегося формированием инициальной клетки, в два-четыре раза короче по продолжительности. Половое воспроизведение, от подготовительных этапов до формирования инициальных клеток, занимает сутки-трое. За это время клетки, не участвующие в половом воспроизведении, но делящиеся один раз в сутки, успевают нарастить численность в два-восемь раз. При половом воспроизведении численность

клеток не возрастает, а у некоторых пеннатных даже убывает — пара гаметангиев формирует только одну инициальную клетку. Половые клетки, в отличие от вегетативно делящихся, высвободившись из панциря, существуют недолго и легко разрушаются, поэтому в пробах редко сохраняются, а сам процесс полового воспроизведения в неблагоприятных условиях (в частности, в пробах) не осуществляется. В итоге вероятность обнаружения половых клеток в природных популяциях оказывается очень низкой. Однако о произошедшем воспроизведении можно судить по появлению в популяции крупных клеток, соответствующих своими размерами инициальному и первому постинициальному. Постоянный мониторинг размерного распределения клеток в природных популяциях дает ценную информацию о времени таких событий. Появление новых когорт в размерном распределении клеток и их продвижение в сторону уменьшения размеров, вплоть до критической границы перехода в репродуктивную фазу, свидетельствует о появлении новой генерации и прохождении ею жизненного цикла (рисунок 4.13). У изученных нами видов пеннатных диатомовых наблюдалось полимодальное распределение длины клеток. Несмотря на наличие нескольких когорт, являющихся результатом событий полового воспроизведения в популяции, только одна из них или несколько соседних доминировали по численности. Как правило, доминировали классы со средними размерами, соответствующими репродуктивной фазе жизненного цикла. Вопрос о том, почему в популяциях практически очень редко наблюдается доминирование клеток, находящихся в дорепродуктивной фазе, остается открытым.

Завершая данный раздел, хотелось бы обратить внимание на то, что выполнить анализ распределения размеров клеток в природных популяциях можно только при наличии данных о кардинальных пунктах жизненного цикла. Получить последние можно в лабораторных условиях, экспериментируя с культурами; эти данные практически недоступны при наблюдении за природными популяциями.

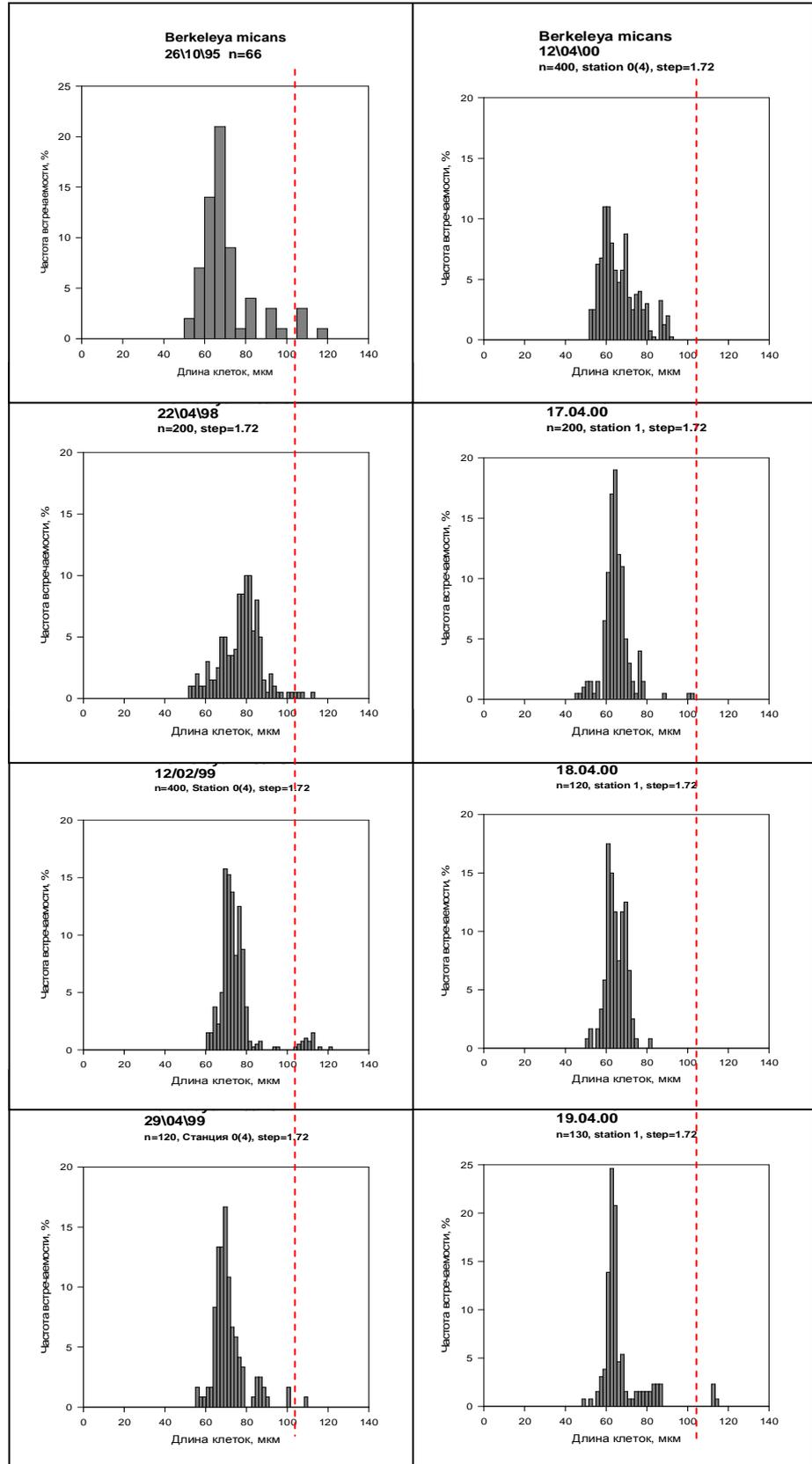
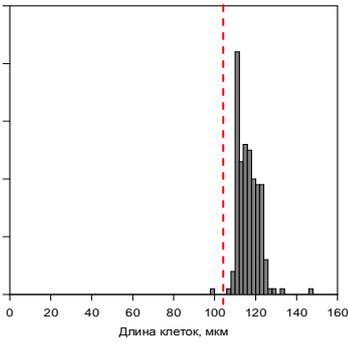
Berkeleya micansinitial cells in a culture from Nov.,95 to June,96
n=190

Рисунок 4.13 — Гистограммы распределения размеров клеток *Berkeleya micans* по частоте встречаемости. В природной популяции (справа) можно встретить клетки, размеры которых соответствуют инициальным, полученные в культурах (вверху слева). Пунктирной линией обозначен минимальный размер инициальных клеток

Раздел 5

ПОЛОВОЙ ПРОЦЕСС У ДИАТОМОВЫХ

Случаи наблюдения полового воспроизведения диатомовых в пробах, взятых непосредственно из природных популяций, очень редки и не дают полного представления о протекающем процессе. Более детально процесс полового воспроизведения можно изучить, работая с культурами. Однако, при этом приходится сталкиваться с трудностями содержания диатомовых в культуре, весьма продолжительным (от нескольких месяцев до нескольких лет) жизненным циклом, необходимостью владения методами инициирования полового воспроизведения, навыками и умениями по выделению клоновых культур и другими методическими проблемами. Видимо, по этим причинам, количество видов, у которых половой процесс изучен в той или иной мере, поразительно мало в сравнении с общим количеством диатомовых: менее 300 из порядка 100 тысяч [Mann, Vanormelingen, 2013].

Нам удалось впервые проследить и описать половой процесс у следующих видов диатомовых: *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle, *P. calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle (как "*P. pseudodelicatissima*"); *Berkeleya micans* (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck; *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen (гетероталличный путь воспроизведения); *H. karadagensis* Davidovich, Gastineau et Mouget; *H. provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget; *Nitzschia longissima* (Brébisson) Grunow (судя по имеющимся оригинальным слайдам, половой процесс, описанный А.М.Поциным, 1994б для "*N. longissima*", на самом деле, относится к другому виду); *N. rectilonga* Takano; *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) D.M. Williams & Round; *T. tabulata* (C. Agardh) Snoeijs; *Schizostauron* sp.; *Ardissonaea crystallina* (C.Agardh) Grunow.

5.1 *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle

Токсикогенная диатомовая водоросль *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle при массовом развитии вызывает отравления птиц, водных млекопитающих и человека путем передачи и накопления в пищевых цепях продуцируемой ею домоевой кислоты. В 1984 году в Канаде было зарегистрировано более 400 случаев госпитализации пациентов, в том числе три с летальным исходом [Bates *et al.*, 1989; Todd, 1993]. Несмотря на значительные прилагаемые усилия, жизненный цикл этого вида долгое время оставался непознанным, о типе его полового воспроизведения велись жаркие дискуссии [Subba Rao *et al.*, 1991, 1992;

Gryxell *et al.*, 1991, Rosowski *et al.*, 1992; Mann, 1993a, 1993b]. Мы впервые получили и описали половое воспроизведение *P. multiseries* в смешанных посевах репродуктивно совместимых клонов [Davidovich, Bates, 1998a, 1998b; 2002]. Половое воспроизведение этого вида характеризуется следующими чертами (рисунок 5.1). Вначале благодаря активному движению происходит спаривание двух родительских клеток, контактирующих поясковыми зонами; никаких слизистых капсул или копуляционных каналов при этом не образуется. Следующий этап — гаметогенез: в каждой родительской клетке-гаметангии формируется по две гаметы. В формировании гамет участвует весь протопласт клетки. Гаметы, как внутри одного гаметангия, так и в сравнении с гаметами другого гаметангия морфологически и по размеру похожи. Можно вести речь о размерной изогамии. Однако, по поведению гаметы различаются. Обе гаметы одного гаметангия активны, они перемещаются, хотя и на незначительное расстояние, в направлении пассивных гамет другого гаметангия, где осуществляется сингамия. В физиологическом плане гаметы анизогамны. Анизогамия такого типа носит название *цис*-анизогамия [Stickle, 1986; Mann 1982, 1993a]. Причем у всех клеток конкретного клона, участвующих в половом процессе, формируются либо активные, либо пассивные гаметы. Можно на этом основании предположить генетическую предопределенность проявления пола. Створки гаметангиев полностью раскрываются, и гаметы получают возможность перемещаться, по-видимому, амебоидным путем, по направлению друг к другу. В результате слияния гамет формируются зиготы, которые без заметной задержки трогаются в рост. При этом оболочки зигот разрываются, взамен них формируются оболочки ауксоспор, включая жесткий скелет — перизониум [об устройстве перизониума см. Round *et al.*, 1990]. Ауксоспора увеличивается в размерах очень быстро, в течение нескольких часов достигая максимального размера. На концах ауксоспор видны остатки оболочек зигот (инкунабулы) в виде колпачков. После того, как ауксоспора завершит свой рост, внутри последовательно начинают откладываться эпитека и гипотека первой дочерней (инициальной) клетки. После слияния гамет сразу или с некоторой задержкой происходит слияние их ядер — кариогамия. При нормальном течении событий в каждой паре гаметангиев формируются две ауксоспоры и две инициальные клетки соответственно. В некоторых случаях развитие одной ауксоспоры abortируется. Пара ауксоспор обычно остается прикрепленной к створкам того из родительских гаметангиев, в котором формировались пассивные гаметы. Апикальные оси ауксоспор перпендикулярны продольным осям створок материнской клетки. Нередко связь с материнской створкой

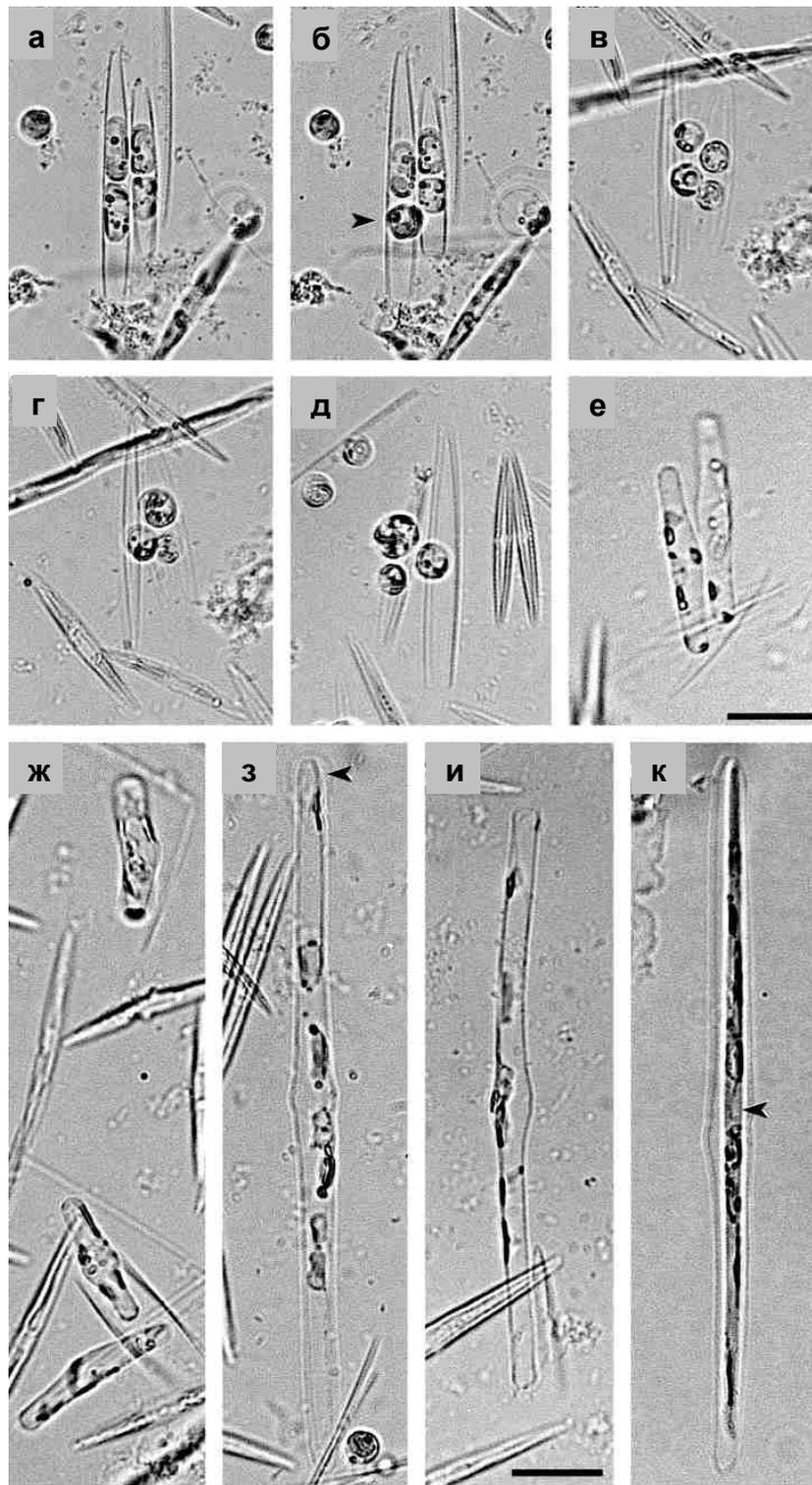


Рисунок 5.1 — Половое воспроизведение *Pseudo-nitzschia multiseries*, световая микроскопия [Davidovich, Bates, 1998]: **а** - в каждом из двух спарившихся гаметангиев формируется по две гаметы, которые затем округляются (**б**, **в**) и попарно сливаются (**г**, **д**); образуются зиготы, которые "прорастают", на этом этапе клетки именуется аукоспорами, растущие аукоспоры чаще всего остаются прикрепленными к створкам материнской клетки, располагаясь перпендикулярно к ним и параллельно друг к другу (**е**), или реже в беспорядке (**ж**); на концах растущих аукоспор сохраняются в виде "колпачков" половинки оболочек зигот (**з**, показано стрелкой); внутри полностью выросшей аукоспоры (**и**) последовательно формируются створки инициальной клетки (**к**, показано стрелкой). Масштабный отрезок 20 мкм

теряется, и тогда растущие ауксоспоры оказываются беспорядочно расположенными по отношению к створкам.

Первым видом из рода *Pseudo-nitzschia* Н. Peragallo, у которого в полевых пробах были замечены ауксоспоры [Fryxell *et al.*, 1991], была *Nitzschia subcurvata* Hasle (ныне *Pseudo-nitzschia subcurvata* (Hasle) G.A. Fryxell); тип и схема полового процесса при этом оставались неизвестными. В случае с *Pseudo-nitzschia multiseriis* половое воспроизведение и жизненный цикл впервые были изучены во всех деталях. В последующие годы половое воспроизведение, происходящее по той же схеме, что у *P. multiseriis*, было описано еще у нескольких видов из этого рода [Amato *et al.*, 2005; Cherpurnov *et al.*, 2005; Amato, Montresor, 2008; D'Alelio *et al.*, 2009; Quijano-Scheggia *et al.*, 2009; Holtermann *et al.*, 2010; Sarno *et al.*, 2010].

5.2 *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup et Hasle

Воспроизведение было описано у этого вида под именем *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* [Davidovich, Bates, 1998a, b]. Только спустя пять лет этому виду был придан отдельный таксономический статус *Pseudo-nitzschia calliantha* [Lundholm *et al.*, 2003]. При описании нового вида были использованы, помимо прочих, наши клоны (обозначение **ND**), задействованные при изучении полового воспроизведения. Эти клоны были выделены из проб, собранных в районе Карадага. Мы обнаружили нескрещиваемость черноморских клонов *P. "pseudodelicatissima"* с клонами *P. pseudodelicatissima* из коллекции культур ССМР (the national culture collection of marine phytoplankton for the USA), что послужило дополнительным аргументом для описания нового вида. Гетероталличное половое воспроизведение *P. calliantha* (рисунок 5.2) повторяет практически во всех деталях схему воспроизведения *P. multiseriis*.

5.3 *Berkeleya micans* (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck

Пеннатная диатомовая водоросль *Berkeleya micans* (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck (Synonym: *Amphipleura micans* (Lyngbye) Cleve) часто встречается по всему побережью Черного моря [Прошкина-Лавренко, 1963], в том числе и в районе Карадага [Рощин и др., 1988]. Жизненная форма представлена одиночными клетками и колониями с общей трубчатой слизистой оболочкой (рисунок 5.3). При гетероталличном воспроизведении спаривание родительских клеток осуществляется благодаря их подвижности [Давидович, 1999; Davidovich, 2001a]. Не было отмечено случаев, чтобы клетки спаривались внутри

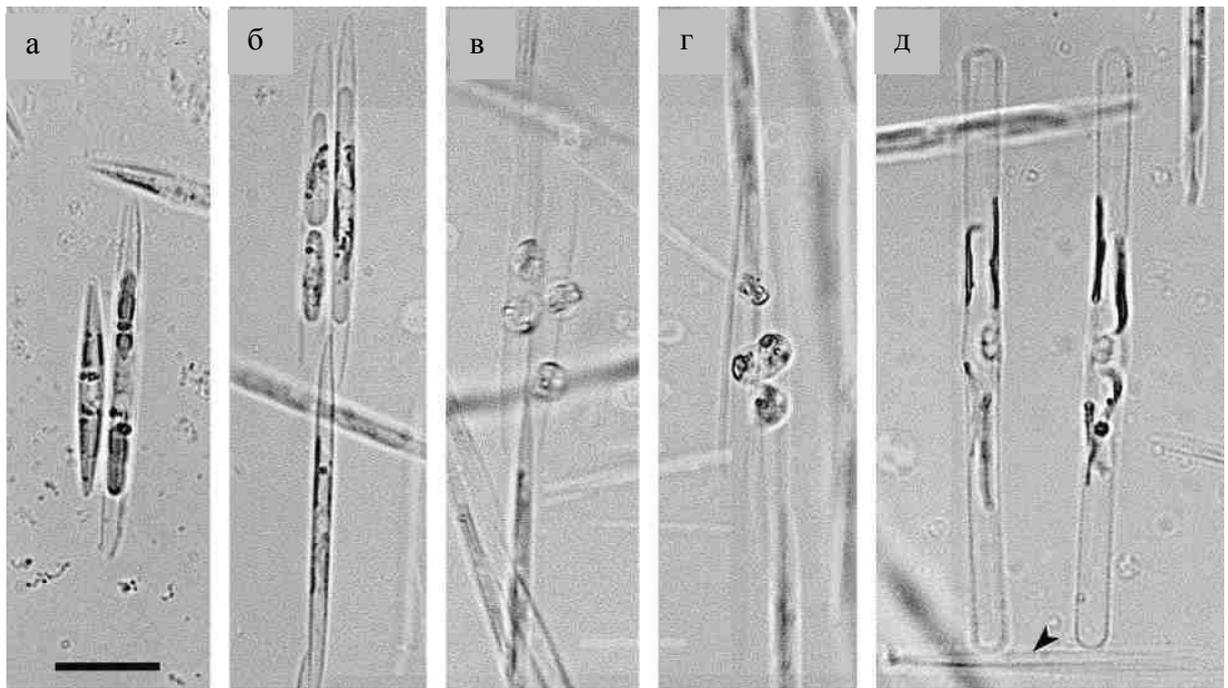


Рисунок 5.2 — Половое воспроизведение *Pseudo-nitzschia callianta* (как *P. pseudodelicatissima*, ND - clones) [Davidovich, Bates, 1998]. Отдельная пара родительских клеток, которых следует считать гаметангиями по факту формирования в них гамет (а); та же стадия, но одна из родительских клеток находится в цепи колонии, формирование гамет не вполне синхронное и может начаться раньше в любом из гаметангиев (б); четыре гаметы непосредственно перед слиянием (в); плазмोगамия двух ближе всего расположенных гамет из противоположных по полу гаметангиев (г); две крупные почти полностью сформировавшиеся ауксоспоры сохраняют связь со створкой материнской клетки (показана стрелкой), ауксоспоры расположены параллельно друг другу и перпендикулярно створке материнской клетки (д). Масштабный отрезок 20 мкм

слизистых оболочек трубчатой колонии. Спарившиеся клетки располагаются параллельно, касаясь друг друга поясками, не образуя заметного слизистого окружения. Иногда взаимное расположение гаметангиев было нетипичным, что не являлось, однако, принципиальным препятствием для полового воспроизведения. В каждом из гаметангиев содержимое делилось в апикальном плане на две части, полученные гаметы, округлившись, располагались одна за другой вдоль апикальной оси. По мере того, как гаметы принимали все более округлую форму, теки гаметангиев раздвигались, и вскоре гаметы из соседних гаметангиев оказывались уже в непосредственной близости друг к другу, не имея каких-либо препятствий для контакта. В момент плазмогамии гаметы вели

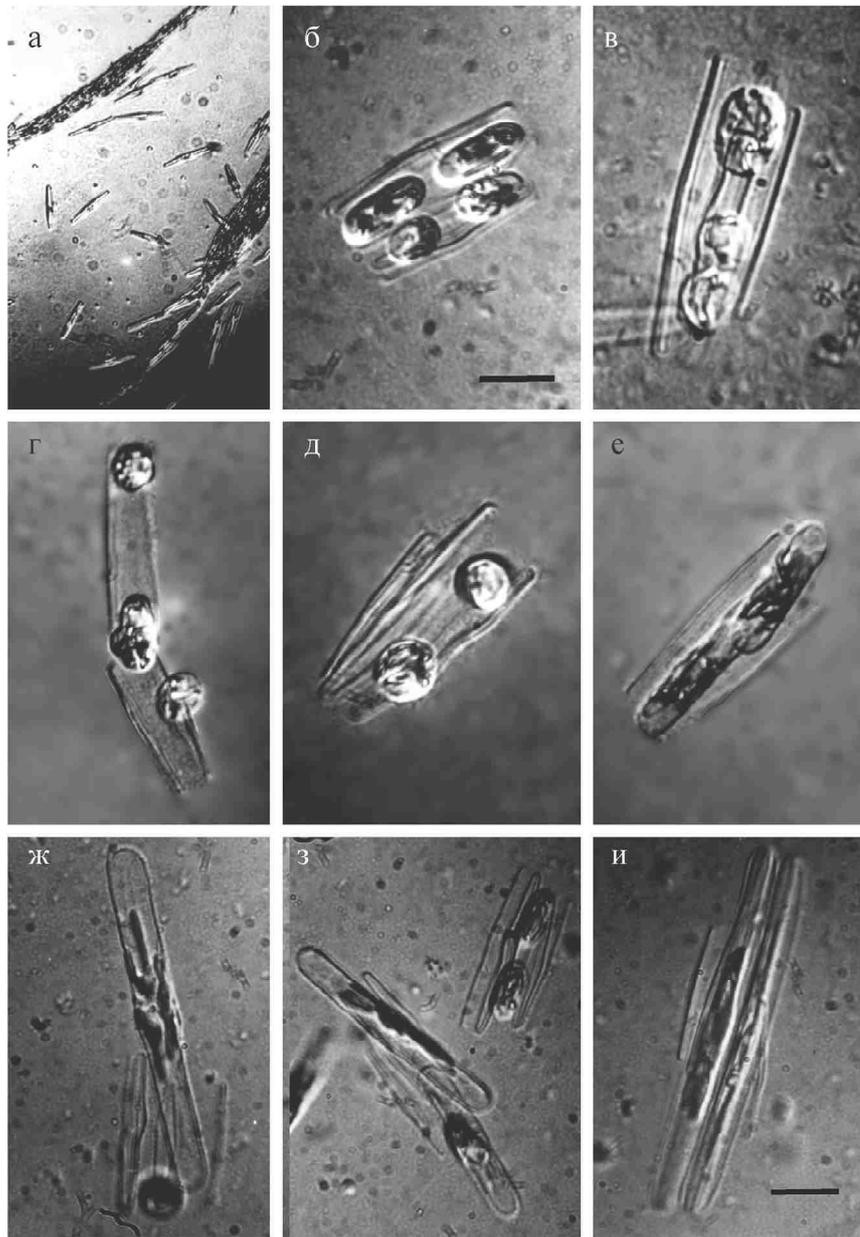


Рисунок 5.3 — *Berkelelya micans*, прижизненные наблюдения с использованием водоиммерсионного объектива и дифракционно-интерференционного контраста [Давидович, 1999]: **а** - трубчатые колонии и одиночные вегетативные клетки. **б** - пара родительских клеток (гаметангиев), с двумя гаметами в каждой. **в** – зигота, образовавшаяся после плазмогамии верхней пары, слияние нижней пары произойдет спустя некоторое время. **г** – поведение гамет при "неудачном" взаимном расположении гаметангиев. **д** – расположение зигот перед началом роста. **е** – расположение ауксоспор во время роста. **ж** - ауксоспора, достигшая максимального размера, и ауксоспора (слева, не в фокусе), развитие которой по каким-то причинам остановилось. **з** – ауксоспоры в начале своего развития (слева) и в процессе роста (справа). **и** - полностью сформировавшиеся ауксоспоры с инициальными клетками внутри. Длина масштабного отрезка 20 мкм

себя идентичным образом, демонстрируя тем самым не только морфологическую, но и физиологическую изогамиию. При неправильном расположении гаметангиев сливались только ближайшие гаметы. Округлившись зиготы по размеру приблизительно вдвое крупнее гамет. Зиготы округлой формы располагались друг за другом вдоль апикальной оси гаметангиев и в этом же направлении начинали свой биполярный рост. По мере роста происходило изменение расположения ауксоспор, вначале они лежали слегка наискосок, а к концу развития оказывались параллельными и на одной высоте по отношению друг к другу. Диаметр ауксоспор одинаковый по всей длине и немного меньше диаметра зигот. После того, как ауксоспоры полностью завершали свой рост, внутри оболочек ауксоспор формировались инициальные клетки. Сначала возникала одна тека, причем протопласт слегка отодвигался от оболочки ауксоспоры, затем достраивалась вторая тека. После окончательного формирования инициальные клетки разрывали оболочку ауксоспоры и выползали наружу. Через 1-2 суток инициальные клетки приступали к вегетативному делению и давали начало независимым от родительских трубчатым колониям.

5.4 *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen

Этот вид, интересный с точки зрения специфической голубой окраски, имеет важное практическое значение. Вот уже несколько веков фермеры на европейском побережье Атлантики окрашивают устриц в голубовато-зеленый цвет, выращивая их в специальных выростных прудах, в которых присутствует диатомовая водоросль *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen [Sprat, 1669; Gaillon, 1820], известная своей способностью синтезировать специфический синий пигмент — мареннин. В процессе фильтрационного питания происходит окрашивание устриц. Несмотря на пристальное внимание к феномену окрашивания и вызывающей его диатомовой водоросли, долгое время у нее было известно только внутрикловное (гомоталличное) половое воспроизведение, обнаруженное в 70-е годы прошлого века (Neuville, Daste¹ 1975; 1979). Предпринятые нами усилия позволили описать гетероталличный способ воспроизведения, и показать, что он является базовым для данного вида, в то время как проявление гомоталлизма факультативно [Davidovich *et al.*, 2008; 2009]. Гетероталличное воспроизведение *H. ostrearia* аллогамное, т.е. происходит с участием двух клеток — половых партнеров; по форме и поведению гамет — полностью изогамное (рисунок 5.4). Формирующаяся зигота по диаметру не отличается от гамет. Слизь, окружающая гаметангиальную пару,

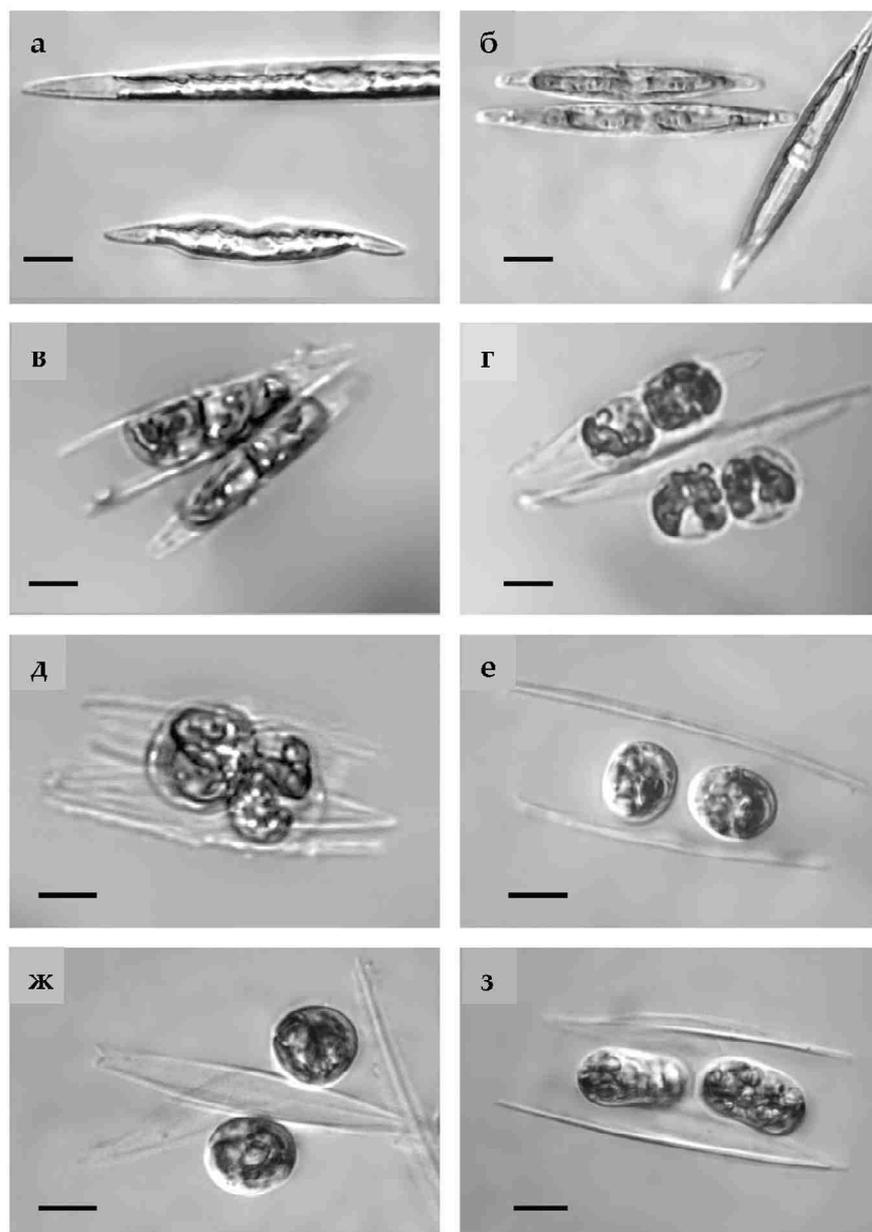


Рисунок 5.4 — *Haslea ostrearia*, ранние стадии репродукции в смесях клонов **Е1** x **С90**, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст [Davidovich et al., 2009]: **а** – при длительном содержании в культуре клетки, уменьшающиеся в размерах в жизненном цикле, нередко приобретают деформации; **б** – спаривание поясок к пояску, при этом хлоропласты в ранней профазе мейоза сдвигаются из поясковой зоны к створкам (у пары клеток слева), в интерфазной клетке (справа) хлоропласты лежат у пояска; **в** – две гаметы формируются внутри каждого гаметангия; **г** – гаметы имеют одинаковый размер и морфологически идентичны (изогамия); **д** – аллогамное слияние гамет осуществляется благодаря их "разбуханию", поведение гамет также изогамно; **е** – зиготы слегка сокращаются после сингамии и лежат между створками родительских клеток; можно обратить внимание на разный размер панцирей родительских клеток; **ж** – зиготы могут лежать также беспорядочно по отношению к гаметангиальным текам; **з** – ауксоспоры, тронувшиеся в рос. Масштабный отрезок 10 мкм

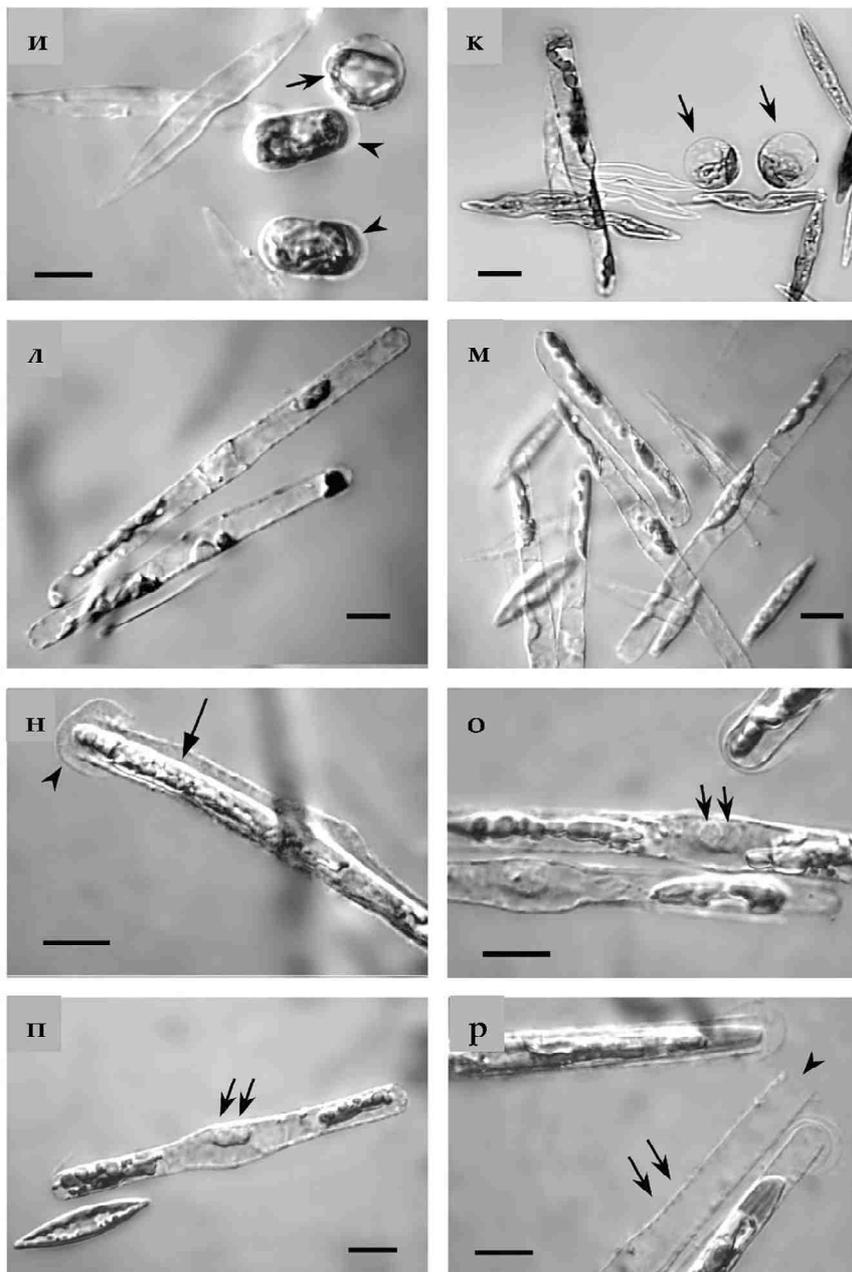


Рисунок 5.4. (продолжение) — Развитие аукоспор: **и** – аукоспоры на ранних этапах роста, окружены тонкой слабо различимой нецельной оболочкой (короткие стрелки), которая представляет собой разорванную первичную оболочку зиготы; **к** – сферические клетки (стрелки), погибшие и раздувшиеся под действием осмотического давления, наполнены голубым пигментом и хлоропластами, лежащими парietально, эти клетки могут соответствовать абортировавшим зиготам, гаметам или остаткам протопластов; **л** – растущие аукоспоры, хлоропласты расположены апикально по обе стороны от ядра; растущие аукоспоры более-менее параллельны друг другу и створкам родительских гаметангиев; **м** – иногда аукоспоры лежат беспорядочно по отношению к родительским гаметангиям; **н** – разорванные половинки оболочек зигот видны на концах растущих аукоспор как колпачки (короткая стрелка); между эпитекой/гипотекой и перизониумом имеется промежуток (стрелка); **о** – в процессе развития аукоспор два ядра, еще не слившиеся, расположены в центре клетки (стрелки, то же на следующем фото); **п** – встречаются одиночные аукоспоры, потерявшие контакт с материнской створкой; **р** – перизониум имеет четко различимые поперечные кольца (стрелки), короткой стрелкой показано отверстие, через которое инициальная клетка покидает перизониум. Масштабный отрезок 10 мкм

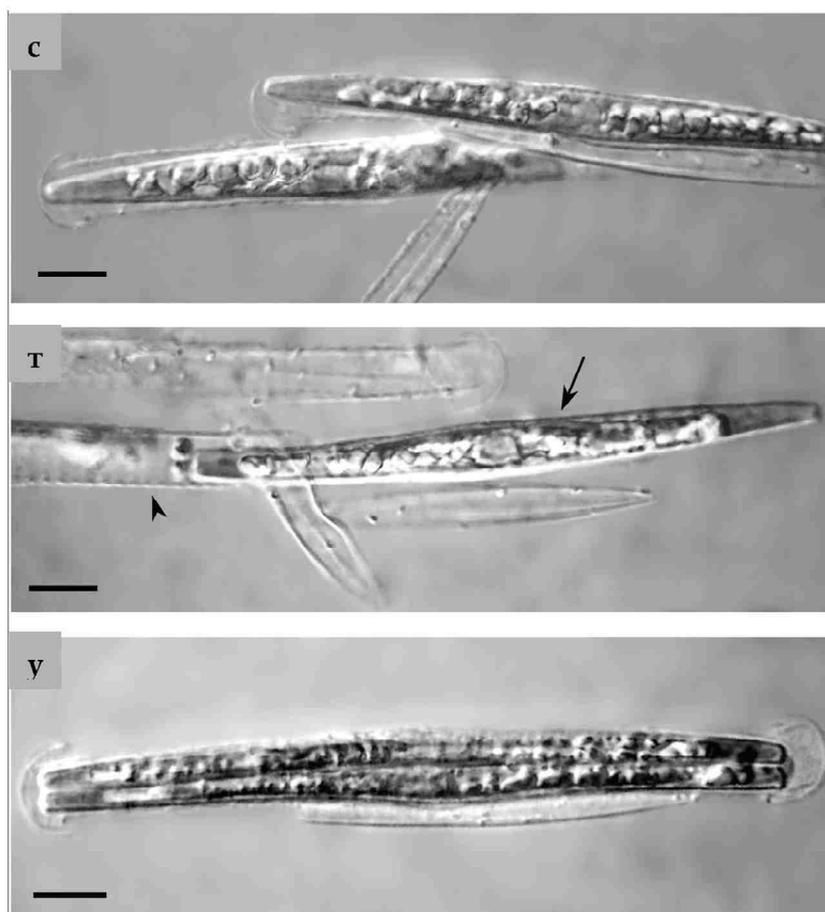


Рисунок 5.4. (окончание). — Инициальные клетки: с – инициальные клетки, сформировавшиеся внутри перизониума; т – инициальная клетка (стрелка), выползающая из перизониума (короткая стрелка); у – в редких случаях, если инициальная клетка не смогла покинуть перизониум, первое деление осуществляется внутри него. Масштабный отрезок 10 мкм

отсутствует. Растущие ауксоспоры располагаются более-менее параллельно по отношению друг к другу. Теки родительских клеток разбросаны хаотично поблизости ауксоспор. Инициальная клетка выползает из перизониума, отталкивая половинку инкунабулы, прикрывающей его апикальный конец.

5.5 *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget

До недавнего времени считалось, что *Haslea ostrearia* — единственная диатомовая водоросль, обладающая специфической синей окраской. Мы описали, используя в первую очередь данные о репродуктивной изоляции, еще один вид из рода *Haslea* — *H. karadagensis* Davidovich, Gastineau et Mouget [Gastineau *et al.*, 2012], которая имеет подобную окраску. Изучено половое воспроизведение этого черноморского вида

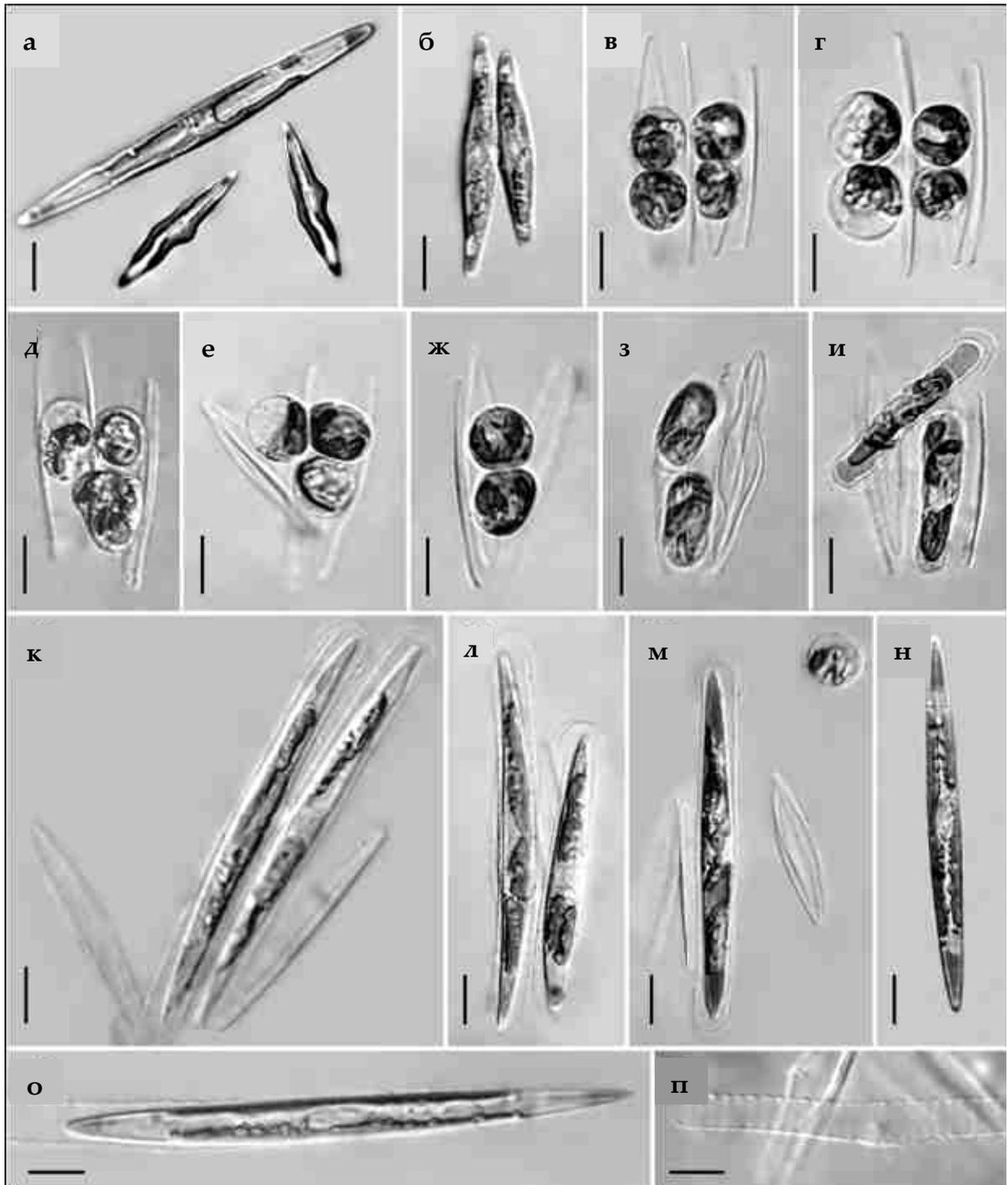


Рисунок 5.5. *Haslea karadagensis*, вегетативные и генеративные клетки, световой микроскоп, дифференциально-интерференционный контраст [Davidovich et al., 2012]: **а** – в жизненном цикле апикальный размер клеток может уменьшиться четырехкратно, при этом ширина клеток меняется мало; мелкие клетки могут приобрести деформации; **б** – спарившиеся клетки – первый видимый признак полового процесса, можно обратить внимание на разный размер клеток в паре, они принадлежат разным противоположным по полу клонам; **в** – каждый гаметангий в паре продуцирует по две гаметы; **г** – иногда гаметы в одном из гаметангиев, вероятно раньше приступившего к гаметогенезу, слегка

раздуваются, это способствует сингамии; д – момент сингамии (нижняя пара гамет); е – две оставшиеся гаметы непосредственно перед слиянием и молодая зигота (внизу); ж – две появившиеся зиготы окружены гаметангиальными теками, но не прикреплены к ним; з – зиготы трогаются в рост, с этого момента они могут именоваться ауксоспорами; и – половинки первичных оболочек зигот остаются на концах растущих ауксоспор в виде колпачков; к – инициальные клетки, сформировавшиеся внутри полностью выросших ауксоспор; л – процесс роста ауксоспор несинхронизирован, одна из ауксоспор может прекратить рост раньше, и в ней сформируется более короткая инициальная клетка; м – только одна зигота в гаметангиальной паре развилась в ауксоспору, вторая abortировала на ранней стадии; н – концы инициальных клеток типично окрашены мареннином; о – инициальная клетка, выползающая из перизониума; п – в структуре перизониума хорошо различимы поперечные кольца. Масштабный отрезок 10 мкм.



[Davidovich *et al.*, 2012a], которое во всех деталях повторяет схему, уже известную для *H. ostrearia* (рисунок 5.5), доказывая тем самым их принадлежность к одному роду. Эти данные подтверждают тезис о том, что схема полового воспроизведения является родоспецифической характеристикой [см. также Mann, 1986a], и если какие-то виды существенно различаются по типу полового процесса, то это говорит скорее об их отдаленном родстве и принадлежности к разным родам, нежели о том, что род полиморфен по этому признаку. Аналогичное заключение было сделано в свое время К. Мережковским в отношении хлоропластов диатомовых [Мережковский, 1903].

5.6 *Haslea provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget

К уникальной группе диатомовых, способных синтезировать мареннин-подобный пигмент, принадлежит еще один вид, *Haslea provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget, который был описан недавно [Gastineau *et al.*, 2016]. Любопытно, что по ряду генетических последовательностей генетическое родство этого вида оказалось более тесным с *H. karadagensis* (рисунок 5.6), в то время как пигмент по характеристикам ближе к мареннину *H. ostrearia*. Мы изучили половой процесс у этого вида, который оказался таким же, как и у других вышеназванных представителей группы (рисунок 5.7). Попытки скрестить клоны *H. provincialis* с клонами *H. ostrearia* и *H. karadagensis* оказались безуспешными. Как очень редкий для диатомовых случай, у этого вида отмечено образование трехлучевой ауксоспоры, произошедшей, вероятно, от слияния трех гамет; такая ауксоспора оказалась

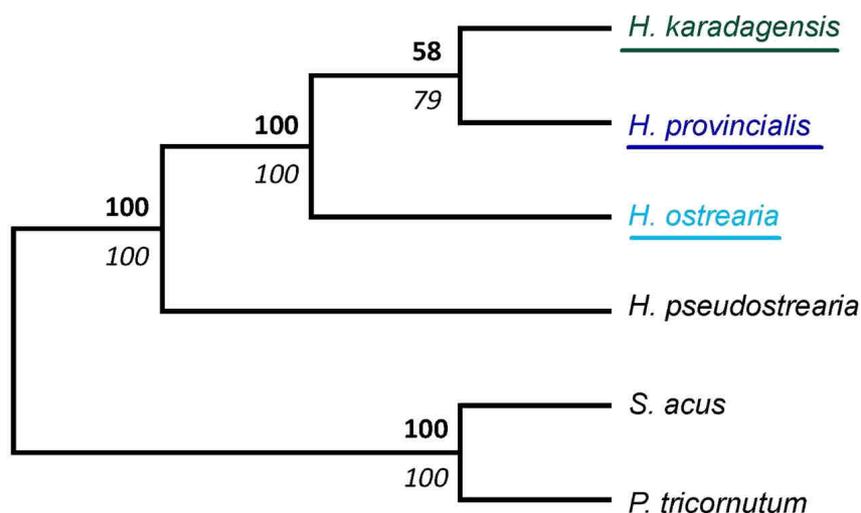


Рисунок 5.6 — Филогенетическое дерево, построенное на основе трех генов (V4-cox1-*rbcL*) по методу консенсуса поддержек максимального правдоподобия (ML, Maximum Likelihood)/максимальной экономии (MP, Maximum parsimony), для видов *Haslea* [Gastineau et al., 2016]. Дерево построено при 1000 повторах и укоренено, используя *Phaeodactylum tricornutum* и *Synedra acus* как внешнюю группу. Значения поддержек показаны жирным шрифтом (ML) и косым шрифтом (MP)

неспособной породить инициальную клетку. Факт слияния трех гамет подтверждается наличием трех хлоропластов, находящихся в ауксоспоре.

Трехрадиальность известна как среди центрических (например, у представителей родов *Bellerocha* Van Heurck, *Hemidiscus* Wallich, *Lampriscus* A.Schmidt, *Sheshukovia* Z.I.Glezer, *Stictodiscus* Greville, *Triceratium* Ehrenberg и др.), так и пеннатных диатомовых, включая бесшовных (*Fragilaria* Lyngbye, *Staurosira* Ehrenberg, *Tabellaria* Ehrenberg ex Kützing), двушовных (*Denticula* Kützing) и одношовных (*Achnanthes* Bory). Природа возникновения трехлучевой симметрии неизвестна. Трехлучевые клетки могут появиться как в клоновой культуре, так и в популяции. Обсуждалась причина возникновения трехрадиальной симметрии, связанная с нарушением работы микротрубочек, функционально участвующих в построении панциря [Schmid, 1997]. Трехлучевые ауксоспоры были отмечены также при изучении жизненных циклов и полового воспроизведения *Synedra ulna* [Geitler, 1939a], при этом трехлучевых инициальных и постинициальных клеток не было обнаружено. Трехрадиальные ауксоспоры отмечены также при изучении воспроизведения *Achnanthes longipes* C.Agardh [Chepurnov, Roschin, 1995], *Achnanthes* cf. *subsessilis* Kützing [Sabbe et al., 2004] *Licmophora communis* (Heiberg)

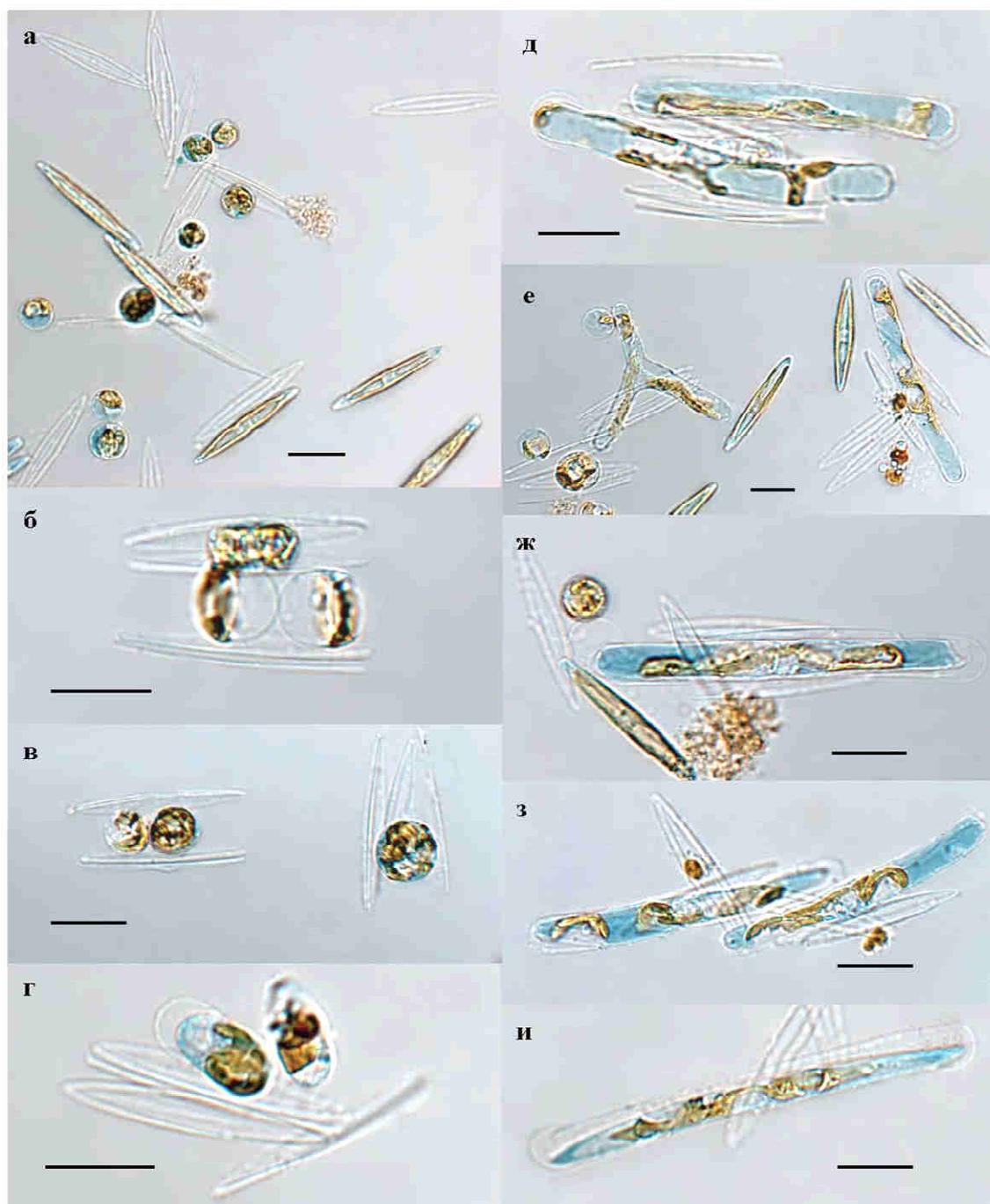


Рисунок 5.7 — *Haslea provincialis*, процесс полового воспроизведения, световая микроскопия [Gastineau et al., 2016]: **а** – гаметогенез в смешанном посеве репродуктивно совместимых клонов, **б** – спарившиеся клетки продуцируют по две гаметы каждая; последние при слиянии формируют зиготу (**в**, справа); **г** – зиготы тронулись в рост (ауксоспоры на ранних стадиях); **д** – растущие ауксоспоры; **е** – триплоидная ауксоспора; **ж** – иногда из пары зигот только одна развивается в ауккоспору, а вторая abortирует; **з** – при нормально протекающем процессе в паре гаметангиев формируется две ауккоспоры; **и** – инициальная клетка внутри ауккоспоры. Масштабный отрезок 20 мкм

Grunow [Chernov, Mann, 2004]. У *A. longipes* и *A. cf. subsessilis* формировались даже трехлучевые инициальные клетки. Частое появление aberrантных, в том числе трехлучевых клеток, В. Чепурнов и Д. Манн [Chernov, Mann, 2004] объясняют отсутствием поперечного перизониума у представителей этого рода. Возникшие трехлучевые инициальные клетки оказались нежизнеспособными. Очевидно, что трехлучевые ауксоспоры образуются за счет слияния трех гамет. Полиплоидные ауксоспоры отмечены также у *Craticula cuspidata* (Kützing) D.G.Mann [Mann, Stickle, 1991] и *Dickieia ulvacea* (Berkeley ex Kützing) Cleve [Mann, 1994a]. Однако, вопрос о том, открыт ли путь эволюции диатомовых за счет полиплоидии, пока остается без ответа.

5.7 *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) D.M. Williams & Round

Половой процесс и процесс формирования ауксоспор у *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) D.M. Williams & Round изучен [Davidovich *et al.*, 2010] на 64 клонах, извлеченных из природных популяций, обитающих в Атлантическом океане (побережье Канады) и в Черном море (Карадагская биостанция). Обнаружено как гомо- так и гетероталличное воспроизведение. Гетероталличное воспроизведение (рисунок 5.8) оказалось морфологически и поведенчески гетерогамным, что позволило на этапе гаметогенеза по морфологическим признакам разделить клоны на мужские и женские. Деление протопласта в мужских гаметангиях осуществляется в трансапикальной плоскости. Формирующиеся гаметы без перегруппировки округляются, приоткрывают створки гаметангия и покидают его. В женских гаметангиях протопласт делится в апикальной плоскости, обе гаметы оказываются прикрепленными к стенкам гаметангия, длительное время имеют колоколообразную форму, могут округлиться, но при этом сохраняют связь со створками гаметангия.

Соотношение полов в природных популяциях, впервые определенное на сравнительно большом материале (более 60 клонов), оказалось примерно равным. Атлантические и черноморские клоны обнаружили репродуктивную совместимость, а первое поколение было фертильно при возвратном скрещивании. Среди особенностей воспроизведения этого вида следует назвать отсутствие гаметангиальных пар, в результате чего гаметы сочетаются случайным образом, и обилие в смешанных посевах двух клонов противоположного пола гамет "мужского" типа, сферических и обладающих уникальным способом движения (см. раздел "Движение гамет").

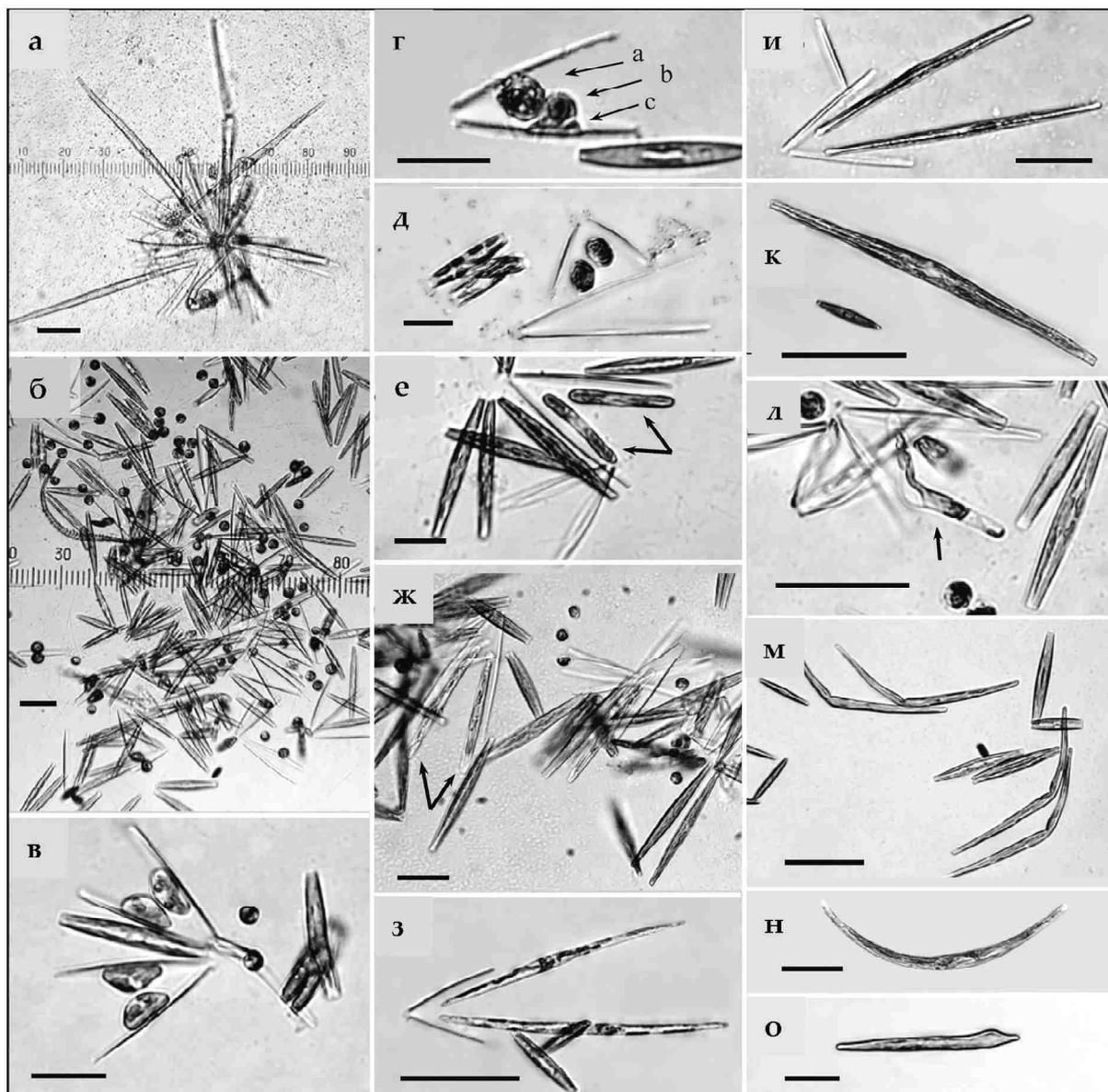
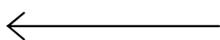


Рисунок 5.8 — *Tabularia fasciculata*, половое воспроизведение, световая микроскопия [Davidovich et al., 2010]: **а** – инициальные клетки полученные в клоне Т.0208–AS, предположительно в результате аллогамной репродукции; можно отметить массовое развитие бактерий, которые препятствовали дальнейшему росту культуры; **б** – массовый гаметогенез в смеси сексуально совместимых клонов Т.0206–А и Т.0206–G, обращает на себя внимание преобладание сферических гамет; **в** – четыре женских гаметы в двух гаметангиях (слева) на ранних этапах развития имеют типичную колоколообразную форму и прикреплены к текам материнского панциря, мужские гаметы (справа) сферические и свободно плавают в толще воды; **г** – недавно возникшая зигота (а) имеют почти сферическую форму и ассоциирована с материнской текой; мужская (b) и женская (с) гаметы непосредственно перед плазмогамией; **д** – две эллипсоидные

зиготы в начале биполярного расширения, рядом расположена пустая открытая створка мужского гаметангия; **е** – пара молодых ауксоспор (стрелки), лежащая между тек мужского гаметангия (вверху), ниже расположен открытый и пустой мужской гаметангий; **ж** – растущие ауксоспоры (стрелки) и несколько свободных гамет мужского типа, невдалеке – пустые створки мужских гаметангиев; **з** – ауксоспоры в процессе роста лежат более-менее параллельно друг другу и текам материнского панциря; **и** – пара инициальных клеток внутри полностью сформировавшихся ауксоспор в типичной позиции между теками материнского панциря; **к** – первое митотическое деление одиночной инициальной клетки (вверху), обращает на себя внимание значительная разница в размерах родительских и инициальных клеток; **л** – деформированная ауксоспора (стрелка) дает начало деформированным инициальным клеткам, которые, тем не менее, способны делиться митотически (**м**); **н** – пример более часто встречающейся луновидной абберантной формы постинициальных клеток; **о** – еще один пример деформации клеток, вероятно в результате скачкообразного уменьшения размеров при митозе. Масштабный отрезок 20 мкм (в-ж) и 50 мкм (а, б, з-о)



5.8 *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijs

Диатомовая водоросль *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijs с крупными клетками длиной до 403 мкм проявила способность как к гомоталличному, так и гетероталличному половому воспроизведению [Давидович, Давидович, 2011]. Среди восьми клонов, выделенных из природной популяции, шесть оказались мужскими и два — женскими, при этом способность к внутриклоновому половому воспроизведению обнаружена у пяти мужских клонов и одного женского. Внутриклоновое воспроизведение было спорадическим и редким явлением, отмечалось не всякий раз после пересевов в свежую среду.

В то же время при межклоновом скрещивании сексуально совместимых партнеров наблюдался обильный гаметогенез и массовое ауксоспорообразование (рисунок 5.9), приводящее к формированию большого количества инициальных клеток, которые давали начало новым генетическим линиям. Обычно на вторые-четвертые сутки после посева в смеси клонов противоположного пола могут быть обнаружены гаметы, различающиеся по форме и поведению в зависимости от половой принадлежности. И в мужском, и в

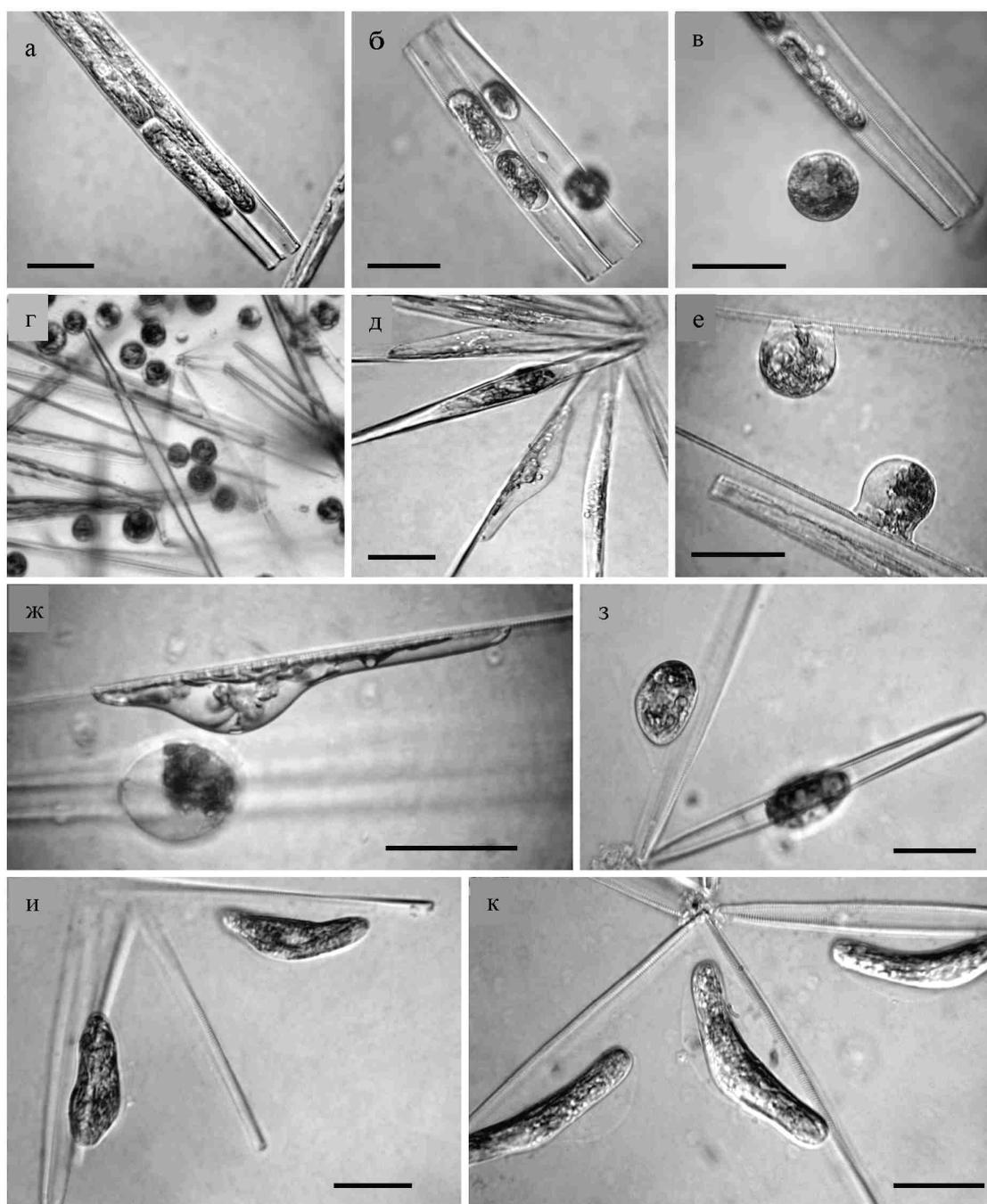


Рисунок 5.9 — *Tabularia tabulata*, гаметогенез и ранние стадии ауксоспор, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст [Давидович, Давидович, 2011]: **а** – в двух мужских клетках идет процесс гаметогенеза; **б, в** – процесс отделения мужских гамет от мужского гаметангия; **г** – массовый гаметогенез; **д** – прикрепленные к текам гаметангия женские гаметы; **е, ж** – женские гаметы на поздних этапах развития; **з** – эллипсоидные зиготы после слияния мужских и женских гамет, окруженные еле заметным слоем слизи; **и** – зиготы начинают удлиняться (этап ауксоспоры) параллельно створкам женского гаметангия, приобретая вначале чечевицеобразную форму, а затем форму бумеранга (**к**), видна слизь, окружающая ауксоспоры на ранних этапах развития.

Масштабный отрезок 25 мкм

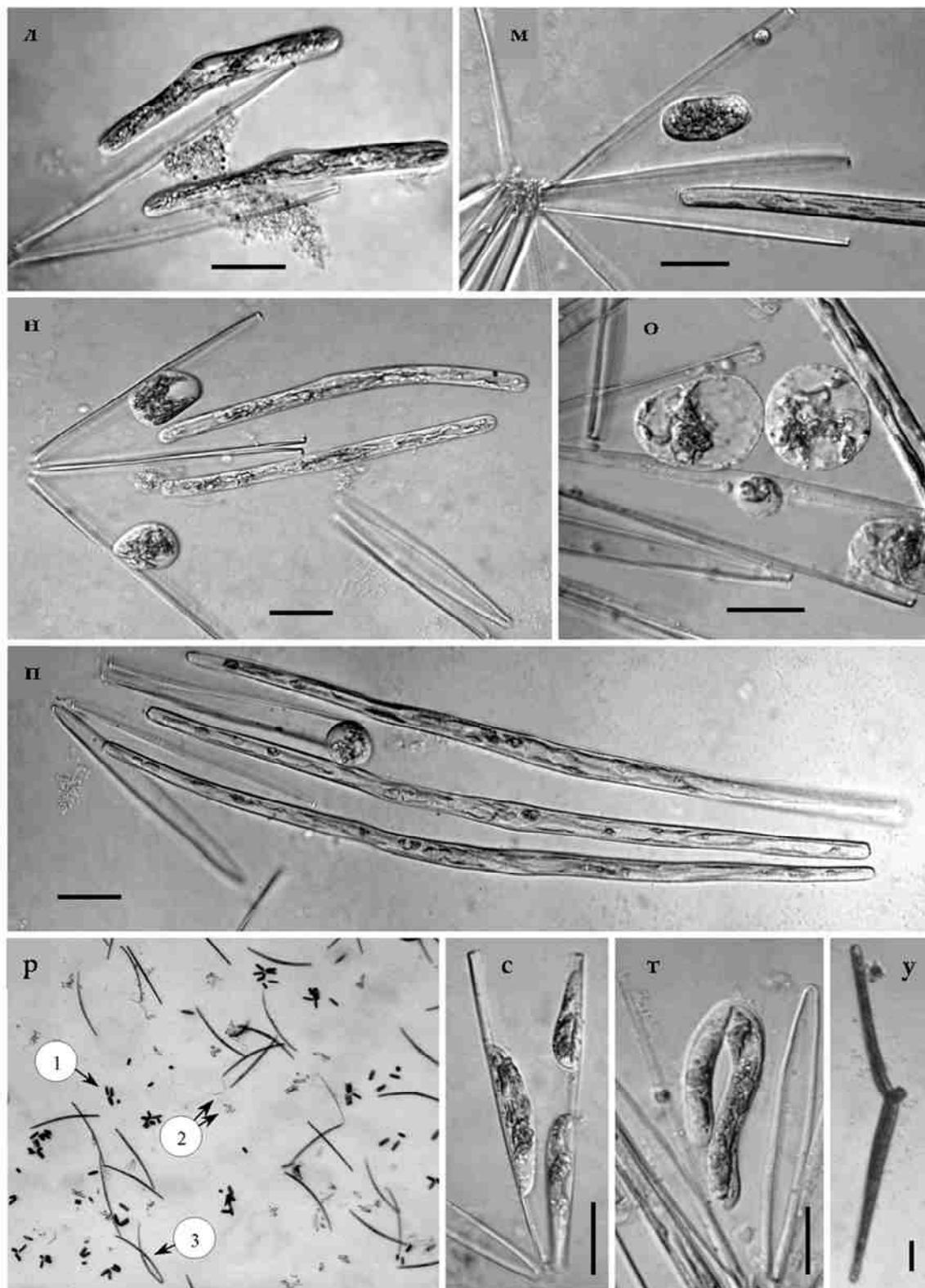


Рисунок 5.9 (окончание) — Ауксоспоры и инициальные клетки: **л** – удлинение ауксоспор параллельно текам женского гаметангия. **м, н** – случаи приостановки или прекращения развития ауксоспор. **о** – абортировавшие зиготы и непрокопулировавшие гаметы. **п** – распределение хлоропластов в пристенном слое. **р** – вегетативно делящиеся клетки (1), инициальные клетки (3) и пустые панцири гаметангиев (2) родительских клонов при массовой ауксоспоруляции в смешанном посеве. **с** – нарушение развития гамет в женском гаметангии. **т** – ауккоспора неправильной формы. **у** – aberrantная инициальная клетка. Масштабный отрезок 25 мкм

женском гаметангиях формируется по две гаметы. Деление содержимого мужского гаметангия происходит, по-видимому, в трансапикальной плоскости, без перегруппировки гамет. Вначале гаметы, имеющие продолговатую форму с округлыми концами, какое-то время перемещаются вдоль апикальной оси, совершая возвратно-поступательные движения, причем обе гаметы в гаметангии делают это независимо друг от друга. Затем гаметы округляются, раздвигают створки гаметангия и выходят наружу. Полностью сформировавшиеся мужские гаметы шаровидные. Иногда мужской гаметогенез носит массовый характер. В женском гаметангии содержимое делится в апикальной плоскости, женские гаметы в начале своего развития располагаются пристенно, каждая у своей створки. Позднее гаметы заметно округляются, но связь со створкой не теряют. Развитие гамет в одном и том же гаметангии, как в мужском, так и в женском, не абсолютно синхронное. Часто одна из гамет проходит этапы развития чуть быстрее другой. После копуляции гамет формируется шаровидная или слегка эллипсоидная зигота, которая вскоре начинает биполярно удлиняться, и на этом этапе клетку правильно называть ауксоспорой. Говорить о разрыве оболочки зиготы не приходится, поскольку ее остатки в световом микроскопе не обнаруживаются. На ранних этапах развития ауксоспоры имеют чечевицеобразную форму и окружены еле заметной слизью. Интактные (нетронутые) ауксоспоры располагаются более или менее параллельно текам женского гаметангия. По мере роста ауксоспоры хлоропласты равномерно распределяются по всей ее длине, располагаясь пристенно, и в этот момент их легко сосчитать. Иногда развитие зигот по каким-то причинам останавливается. Абортировавшие зиготы, так же как и непрокопулировавшие гаметы, погибая, приобретают форму шара, слегка раздутого осмотическим давлением, в котором клеточные органеллы агрегированы и расположены у стенки. В отдельных случаях наблюдаются нарушения в развитии гамет, ауксоспор, и, как следствие, появление инициальных клеток аберрантной формы.

5.9 *Ulnaria ulna* (Nitzsch) P.Compère

Ulnaria ulna (Nitzsch) P.Compère, ранее известная как *Synedra ulna* (Nitzsch) Ehrenberg, задолго до наших работ изучалась Л. Гайтлером [Geitler, 1939a, b]. Он описал аллогамную репродукцию как наиболее распространенную у этого вида и показал, что на ранних стадиях гаметогенеза протопласт клетки делится в продольной плоскости на две части, каждая из которых остается прикрепленной к текам гаметангия; позднее гаметы округляются и, отделившись от материнских створок, сливаются с гаметами, которые в

другом гаметангии еще не отделились от створок. Л. Гайтлер описал аутомиктическую (педогамную) копуляцию, в результате которой одиночная материнская клетка формировала одну зиготу, прикрепленную к обеим створкам панциря. Надо отметить, что Л. Гайтлер относительно мало работал с клоновыми культурами, и большинство описаний полового процесса были сделаны на природном материале. Видимо, по этой причине его наблюдения не давали достаточных оснований для предположений о раздельнополости *Ulnaria ulna*. Только работая с клоновыми культурами и выполняя эксперименты по скрещиванию, можно установить раздельнополость вида и доказать ее генетический характер. Особенно трудно, работая с природными популяциями, изучать аллогамное воспроизведение у тех видов, у которых не образуются гаметангиальные пары. Клетки располагаются рассеянно, иногда на значительном расстоянии друг от друга.

Мы показали наличие двух типов гаметогенеза у *Ulnaria ulna* (рисунок 5.10), существенно различающихся на ранних этапах, и доказали их соответствие двум половым типам [Podunay *et al.*, 2014]. Во многих принципиальных чертах способ половой репродукции *U. ulna* совпадает с тем, который наблюдался у *Tabularia fasciculata* и *T. tabulata*. В отличие от *T. fasciculata* и *T. tabulata* у *U. ulna* женские гаметы не так тесно ассоциированы с гаметангиальными теками. Перегруппировка гамет предполагалась у *T. fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2010], однако этот вопрос может быть закрыт ввиду данных, полученных ранее для *T. tabulata* [Давидович, Давидович, 2011] и новых данных, полученных для *U. ulna*, где перегруппировка отсутствовала. Интересно, что у бесшовной пеннатной *Licmophora ehrenbergii* (Kützing) Grunow женские гаметы никогда не перегруппировываются, а в мужских гаметангиях гаметы перегруппировываются или нет в зависимости от взаимного расположения гаметангиев, участвующих в процессе [Chernov, Mann, 2004].

5.10 *Schizostauron* sp.

До наших исследований [Davidovich *et al.*, 2017] половое воспроизведение не было описано ни у одного из представителей рода *Schizostauron* Grunow, относящегося к моношовным пеннатым диатомовым. В филогенетическом плане этот род близок к роду *Achnanthes* Bory de Saint-Vincent, половое воспроизведение которого изучено достаточно хорошо [Рошин, 1984; Рошин, Чепурнов, 1993; Рошин, 1994а; Chernov, Roschin, 1995; Chernov, Mann, 1997, 1999, 2000; Sabbe *et al.*, 2004]. Схема полового процесса у этих родов оказалась довольно похожей, как в принципе, так и во многих деталях (рисунок

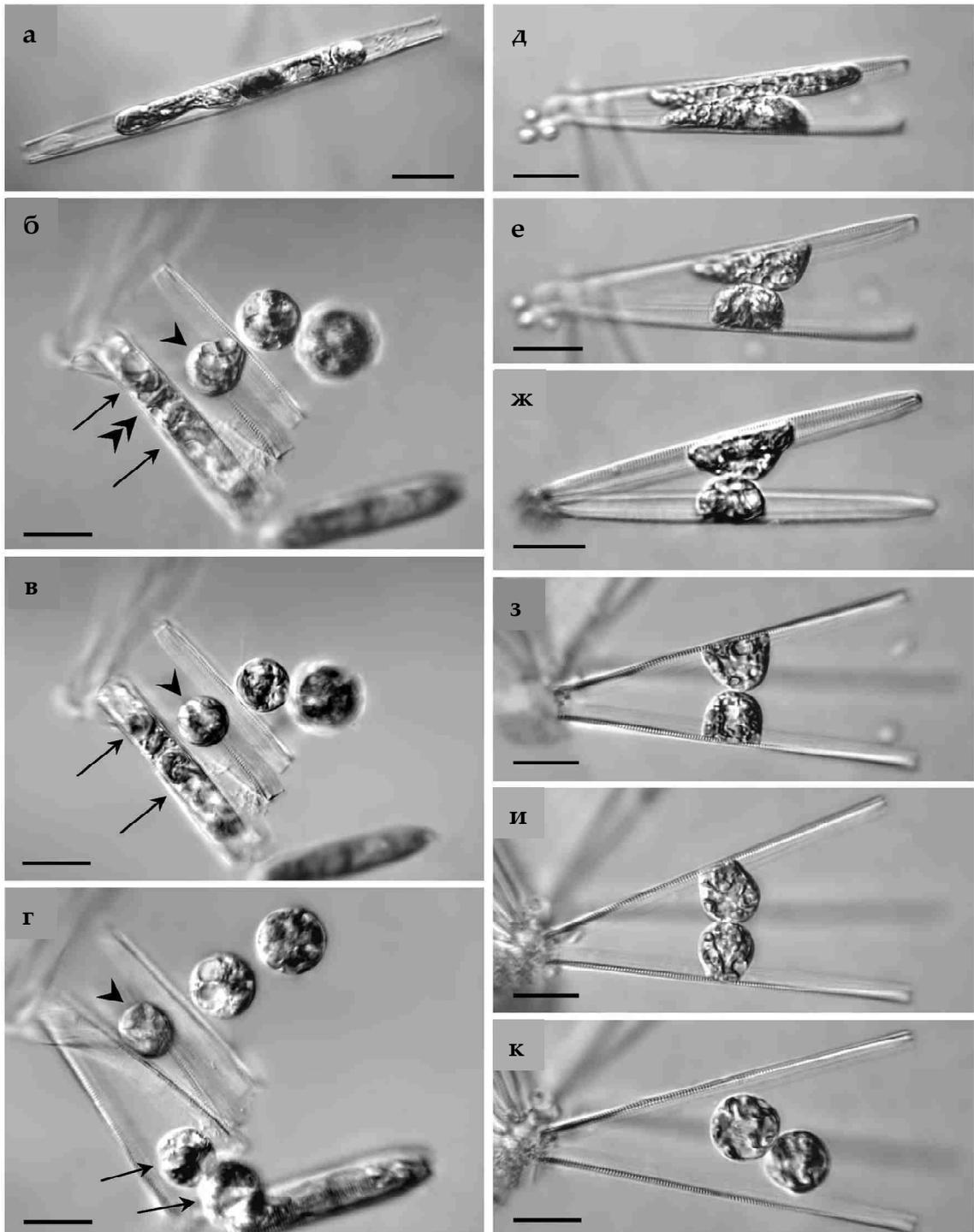


Рисунок 5.10 — *Ulnaria ulna*, женский и мужской гаметогенез, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст [Podunay et al., 2014]: **а** - содержимое мужского гаметангия делится в транспикальной плоскости, давая начало двум гаметам; **б** – на ранней стадии формирования мужских гамет (стрелки) образуется перегородка (двойная стрелка), женская гамета (короткая стрелка) сравнительно долго остается прикрепленной к теке материнского панциря; **в, г** – как мужские, так и женские гаметы в итоге теряют связь с панцирями родительских клеток, становятся сферическими и свободно парят в толще воды; **д-к** – содержимое женского гаметангия делится в апикальной плоскости, давая начало двум гаметам, прикрепленным к текам материнского панциря; со временем гаметы стягиваются, округляются и отделяются от тек материнского панциря.

Масштабный отрезок 20 мкм

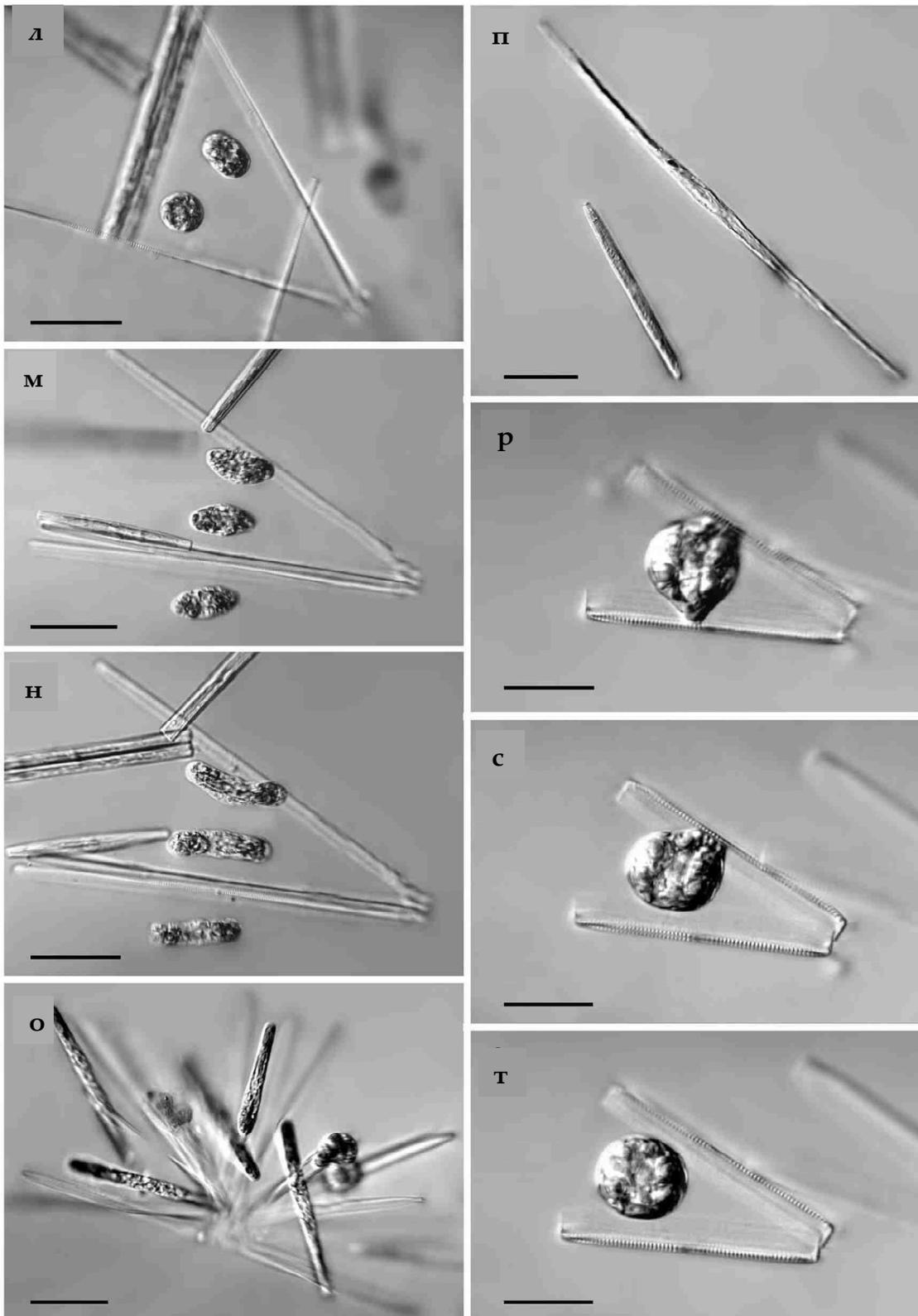


Рисунок 5.10 (окончание) — Формирование аукоспор и педогамная копуляция: **л-о** — различные стадии роста аукоспор; **п** — инициальная клетка заметно длиннее одной из клеток родительских клонов; **р-т** — педогамная репродукция в женском клоне. Масштабный отрезок 20 мкм (**л-п**) и 10 мкм (**р-т**)

5.11): в частности, в каждом гаметангии, участвующем в половом процессе, формируется по две гаметы. Однако, есть и различия, например, формирование у *Schizostauron* sp. слизистой капсулы, окружающей гаметангии, участвующие в процессе полового воспроизведения. Определение количества гамет, которое продуцирует каждый гаметангий, у этого вида оказалось весьма затруднительным. Легко спутать зиготу, лежащую в створках гаметангия, с одиночной гаметой. Наблюдение за поведением гамет не позволило нам выявить какой-либо анизогамии, однако, судя по конечному расположению зигот по отношению к створкам материнских клеток (каждая зигота находилась среди тек только одного гаметангия), можно было предположить у этого вида транс-анизогамную схему полового процесса. Дополнительные исследования подтвердили это предположение [Górecka *et al.*, 2016]. Нет строгой ориентации клеток-гаметангиев друг относительно друга, так же, как и растущих ауксоспор по отношению к створкам гаметангиев. В качестве отличительной черты можно указать на то, что у изучавшегося *Schizostauron* sp. перед началом процесса гаметогенеза клетки формируют не только пары, но также триплеты и группы из большего числа клеток. В каждой клетке-гаметангии формируются две гаметы, однако не все они успешны в сингамии (таблица 5.1), поэтому

Таблица 5.1 — Количество случаев успешного и неуспешного оплодотворения в парах^{a)} сексуализированных клеток в смесях клонов^{b)} *Schizostauron* sp., где ауксоспорообразование уже закончилось, и обнаруживаются только инициальные клетки и ни одной растущей ауксоспоры

Категория	Количество случаев
Неслившиеся <i>гаметы</i>	20
1 неразвившаяся <i>зигота</i> + неслившиеся <i>гаметы</i>	20
2 неразвившиеся <i>зиготы</i>	11
1 <i>инициальная клетка</i> + неслившиеся <i>гаметы</i>	48
1 <i>инициальная клетка</i> + неразвившиеся <i>зиготы</i>	14
2 <i>инициальные клетки</i>	8
Сумма	121

Примечание: ^{a)} В четырех случаях зарегистрированы по три гаметангиальных клетки расположенные вместе; они распределились поровну между категориями "неслившиеся *гаметы*" и "**1** неразвившаяся *зигота* + неслившиеся *гаметы*". ^{b)} В смеси клонов P85 + P94 на десятый день после инокуляции

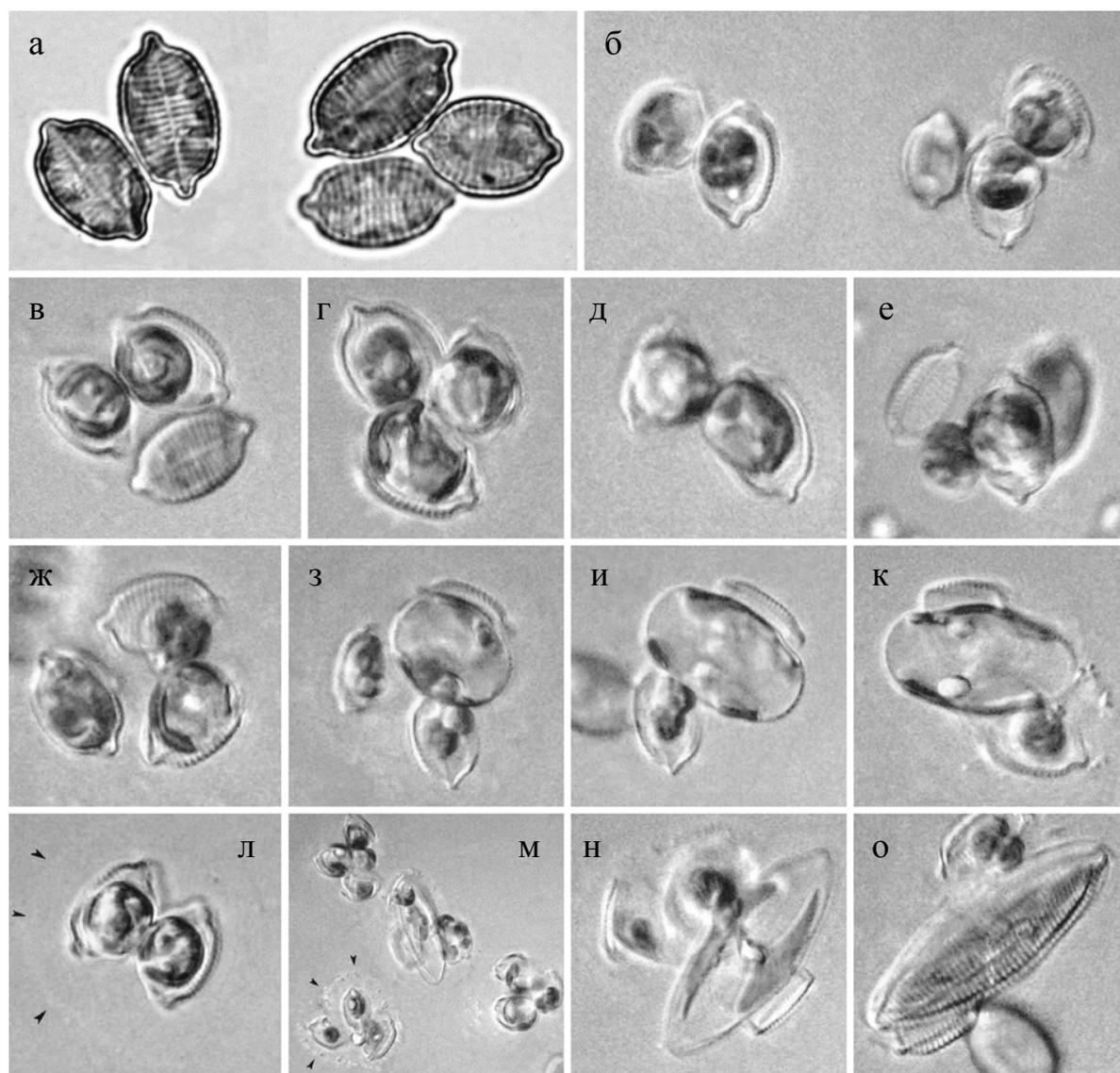


Рисунок 5.11 — *Schizostauron* sp., процесс полового воспроизведения, световая микроскопия, ДИК [Davidovich *et al.*, 2017]: **а** – в смешанном посеве репродуктивно совместимых клонов клетки группируются по две, три и более; **б-г** – в каждой гаметангии формируется по две гаметы, которые попарно сливаясь дают две зиготы; **д-ж** – расположение зигот говорит о транс-анизогамии, однако по форме гаметы не отличаются; **з-к** – после слияния гамет формируется зигота, которая начинает расти – ауксоспора; незадействованные в процессе гаметы разрушаются; **л, м** – иногда можно обнаружить слизь, окружающую гаметангии (показано стрелками); **н** – в растущей ауксоспоре два хлоропласта; **о** – на заключительной стадии внутри ауксосоры откладывается панцирь инициальной клетки (вначале эпитека); размеры (апикальный и трансапикальный) у дочерних клеток в два-четыре раза больше, чем у родительских

очень часто можно наблюдать одиночные ауксоспоры и расположенные рядом абортированные гаметы. Лишь в приблизительно 7% случаев в парах гаметангиев, участвовавших в процессе воспроизведения, были сформированы по две нормальные инициальные клетки. В перизониуме *Schizostauron* sp. очень слабо выражены как продольные, так и поперечные кремнеземные элементы.

Подобно многим другим моношовным *Schizostauron* имеет гетеровальварную структуру панциря, и это позволяет проследить за формированием шовной и бесшовной створок (рисунок 5.12): и та и другая могут быть как эпитекой, так и гипотекой, но в любом случае шовная створка вогнутая, а бесшовная выпуклая. В процессе митотического деления новые створки откладываются внутри клетки. Их относительная позиция не может быть произвольной. Гетеровальварность предполагает строгую ориентацию вновь формирующихся створок относительно уже имеющихся. При формировании инициальной клетки первой откладывается эпитека, выпуклая по форме.

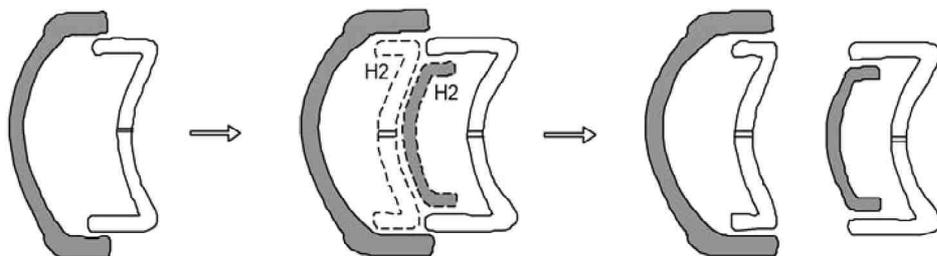
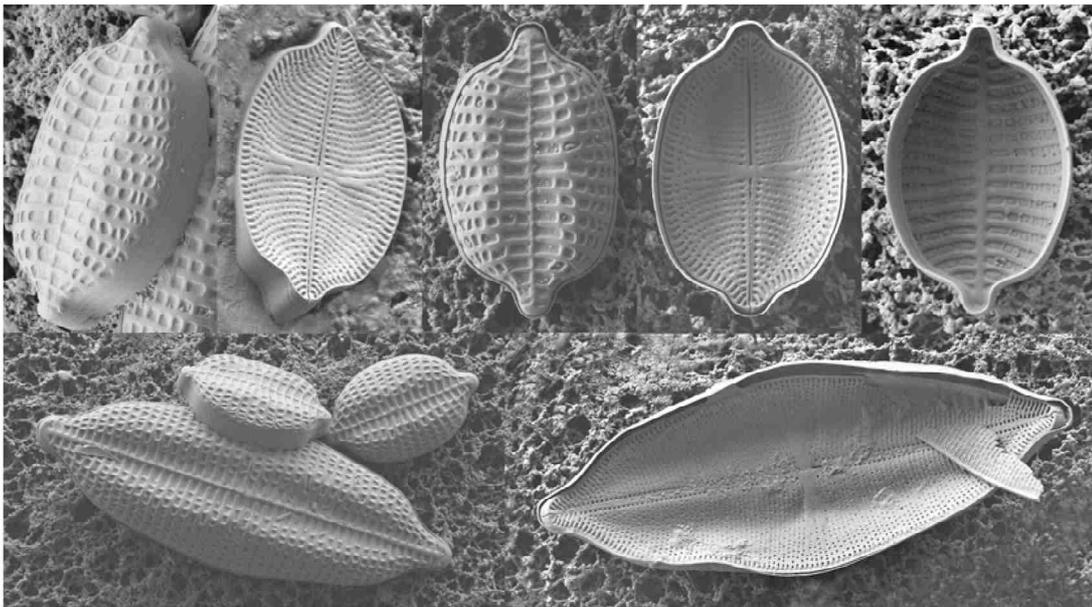


Рисунок 5.12 — *Schizostauron* sp., СЭМ фото бесшовной и шовной створок [Davidovich *et al.*, 2017]; и та и другая могут быть как эпитекой, так и гипотекой, но в любом случае шовная створка вогнутая, а бесшовная выпуклая (схема внизу)

5.11 *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow.

Изучение полового воспроизведения *Ardissonea crystallina* имело особый интерес по нескольким причинам. Во-первых, представители рода *Ardissonea* De Notaris и близких к нему родов *Climacosphenia* Ehrenberg и *Toxarium* J.W.Bailey известны своим противоречивым таксономическим положением. В системе Раунда с соавторами [Round *et al.*, 1994] семейства Ardissonales, Climacospheniales и Toxariales (объединяемые иногда общим названием токсарииды) относятся к бесшовным пеннатным ввиду того, что клетки у них крайне вытянуты вдоль апикальной оси, длина их достигает нескольких сотен микрометров; в структуре панциря отмечаются поперечные штрихи, хотя стернум (равно как и аннулюс) отсутствует; водоросли ведут прикрепленный образ жизни; и более того, их клетки способны двигаться, что в высшей степени характерно для пеннатных диатомовых. Однако, изучение генетических последовательностей показало, что в филогенетическом плане все указанные рода находятся строго среди полярных центрических; их ближайший родственник — род *Lampriscus* A. Schmidt [Kooistra *et al.*, 2003; Medlin *et al.*, 2008a; Medlin *et al.*, 2008b; Theriot *et al.*, 2010; Ashworth *et al.*, 2013]. Известно, что центрические диатомовые оогамны. В случае обнаружения оогамии у *Ardissonea*, отпали бы всякие сомнения в ее принадлежности к центрическим. Однако, как показали наши исследования [Davidovich *et al.*, 2017], воспроизведение *Ardissonea crystallina* неоогамное (рисунок 5.13). Мужской гаметогенез ведет к появлению крупных гамет. Жгутиковые формы отсутствуют. Как в мужском, так и в женском гаметангии формируются по одной гамете. Клетка в процессе редукционного деления не делится. Как показало окрашивание с помощью DAPI, два последовательных этапа мейоза приводят к формированию трех ядер — одного функционального и двух дегенерирующих. Полностью сформировавшиеся мужские гаметы покидают створки родительской клетки-гаметангия. Они демонстрируют способность к амебоидному движению, и кроме того, они способны перемещаться благодаря тонким, периодически возникающим и исчезающим на поверхности гамет, цитоплазматическим выростам (рисунок 5.14), аналогичным тем, которые были обнаружены у бесшовных пеннатных *Tabularia fasciculata*, *T. tabulata*, *Ulnaria ulna*. Благодаря этим выростам мужские гаметы “находят” контакт с женскими клетками. Женские гаметы стационарны и не выходят из створок гаметангия. Мужская гамета, попав на поверхность женского гаметангия, перемещается за счет амебоидного движения в направлении дистального конца до того места, где приоткрытые створки женского гаметангия образуют щель, достаточную для слияния гамет. После слияния гамет

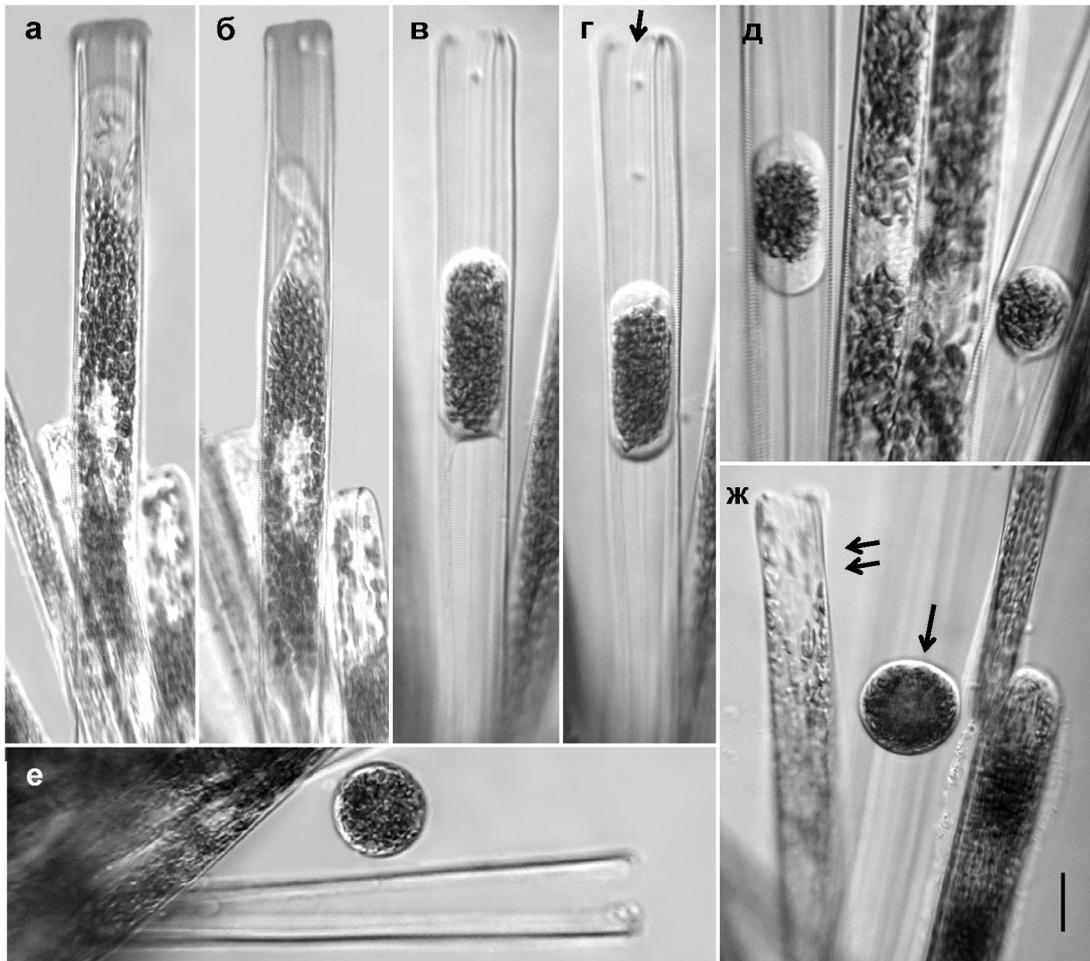


Рисунок 5.13 — Гаметогенез у *Ardissonaea crystallina* [Davidovich *et al.*, 2017]: (а-д) – формирование гамет; (е-ж) – мужская гамета выходит из тек гаметангия в окружающую среду, в отличие от нее, женская гамета (двойная стрелка) стационарна.

Масштабный отрезок 20 мкм

образовавшаяся зигота какое-то время находится в створках женского гаметангия. Затем она начинает расширяться биполярно (стадия ауксоспоры), и выходит за пределы створок материнской клетки (рисунок 5.15). Строение и структура перизониума, определяющего биполярное удлинение ауксоспор, уникальны [Kaczmarek *et al.*, 2018]. По окончании роста ауксоспоры в ней откладываются створки инициальной клетки. Инициальные клетки покидают аукоспору, двигаясь за счет выделения слизи на одном из апикальных концов.

Резюмируя, следует отметить, что выполненные нами исследования касались нескольких видов, имеющих важное хозяйственное значение (представители рода *Haslea*), а также токсикогенных, способных вызвать отравления (из рода *Pseudo-nitzschia*). Необходимость исследования таких видов не вызывает сомнений, поскольку без представлений о жизненных циклах, системах скрещивания и половом воспроизведении

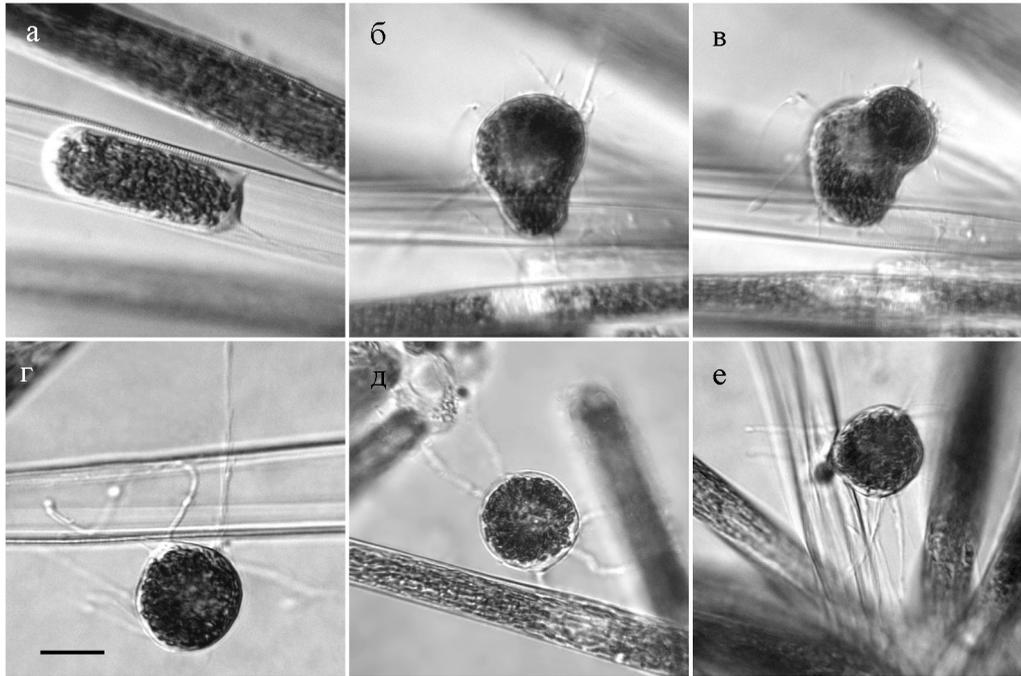


Рисунок 5.14 — Цитоплазматические выросты, периодически возникающие на поверхности мужских гамет *Ardissonaea crystallina* [Davidovich *et al.*, 2017]: (а) – цитоплазматические выросты могут появляться на ранних стадиях формирования гаметы; (б-г) – выросты гибкие, их число непостоянно; (д-е) – за счет цитоплазматических выростов достигается контакт с соседними клетками.

Масштабный отрезок 20 мкм

невозможно выработать стратегию мониторинга, а также воздействия и управления их развитием в природных и антропогенных экосистемах. Однако, главный смысл исследований типов полового процесса мы видим в получении общебиологических знаний. В данном разделе мы привели краткие описания полового процесса у десяти изученных видов, это составляет приблизительно 3% от всех описаний, представленных в общемировой литературе для диатомовых.

Закономерность, на которой мы хотим сфокусировать внимание, следующая: у видов, принадлежащих одному роду, совпадает не только общая схема, но и многие детали полового процесса. Вполне очевидно, что неизбежным следствием появления расхождений в типах или отдельных деталях полового процесса будет возникновение репродуктивной изоляции, что и есть, по сути, фактор видообразования. В настоящее время мы можем говорить о сходстве общей схемы полового процесса у представителей рода. Ввиду отсутствия необходимого объема данных, пока рано делать обобщения, относительно того, какая мера расхождений в схемах полового процесса соответствует более высоким таксономическим уровням. Накопление данных о типах полового процесса

у отдельных видов — одна из важнейших задач, стоящих перед репродуктивной биологией диатомовых.

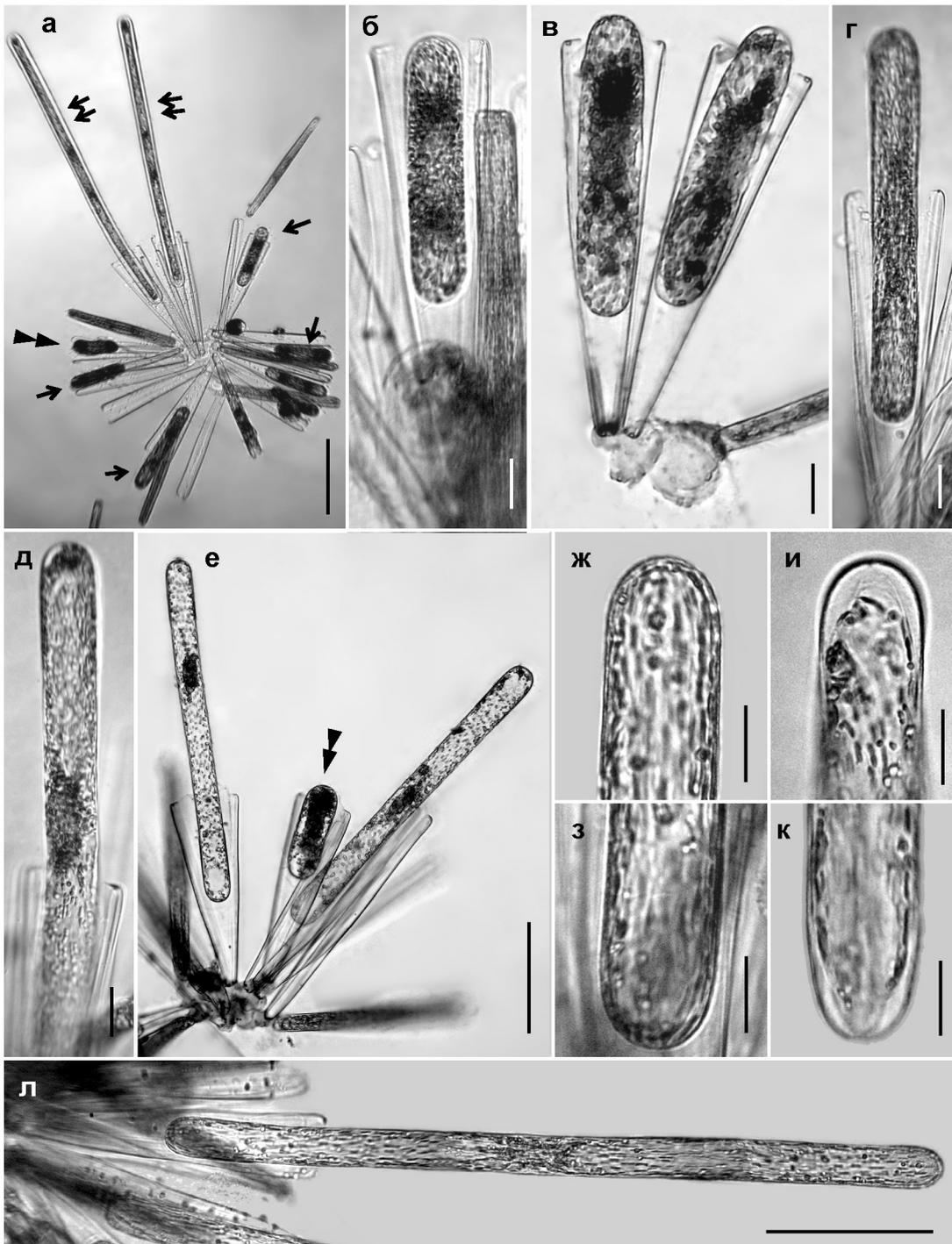


Рисунок 5.15 — Аукоспоры *Ardissoinea crystallina* на разных стадиях роста [Davidovich *et al.*, 2017]: молодые аукоспоры (сдвойная короткая стрелка), растущие (стрелка) и полностью выросшие аукоспоры с инициальной клеткой внутри (двойная стрелка); (ж-к) — по окончании роста аукоспоры протопласт отодвигается от перизониума. (в, д, е) — клетки окрашены гематоксилином. Масштабный отрезок (а, е, л) 100, (б-д, ж-к) 20 мкм

Раздел 6

ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПОЛОВОЕ ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ДИАТОМОВЫХ

Возможность и интенсивность полового воспроизведения у диатомовых водорослей зависит не только от стадии жизненного цикла (фактически — размеров клеток), сексуальной совместимости партнеров, но и от ряда абиотических факторов. Известно, что у клеток, преодолевших кардинальный пункт в жизненном цикле, готовность к гаметогенезу становится все большей по мере дальнейшего уменьшения размеров [Рощин, 1976]. При этом многочисленные сообщения свидетельствуют о том, что путем изменения солености, состава среды, температуры, освещенности удавалось стимулировать половой процесс у отдельных видов диатомовых, которые в обычных условиях культивирования аукоспор не давали, хотя размер клеток позволял это сделать [Bruckmayer-Berkenbush, 1954; Steele, 1965; Drebes, 1966; Schultz, Trainor, 1968; French, Hargraves, 1985, и др.]. Брукмайер-Беркенбуш [Bruckmayer-Berkenbush, 1954] показала, что условия освещения определяют положение верхнего предела диапазона размеров клеток, благоприятных для осуществления полового процесса. Эти и другие данные свидетельствуют о том, что физиологическое состояние водорослей зависит не только от размера клеток, но и от факторов внешней среды. Границы диапазона размеров клеток, при которых у диатомовых допускается половое воспроизведение, подвижны, и конкретное их положение зависит от совокупного действия факторов аукоспорообразования.

В целом можно отметить, что аукоспорообразование происходит в определенном диапазоне значений физических факторов, с характерным для каждого вида оптимумом. По сравнению с митозом мейотическое деление и его подготовительные этапы более чувствительны к действию факторов среды, поэтому аукоспоруляция осуществляется, как правило, в гораздо более узком диапазоне значений.

6.1 Температура

Влияние температуры на аукоспорообразование изучено отрывочно. Имеющиеся данные показывают, что у одних видов небольшое повышение температуры стимулировало вступление в половой процесс [Drebes, 1977], в то время как у других видов, напротив, воспроизведение происходило, если температура не превышала определенного уровня [Kaczmarek *et al.*, 2008].

В наших экспериментах было замечено, что клоны, которые по морфотипу соответствовали *Nitzschia rectilonga* Takano, и были получены из популяций, обитающих в южных морях (Красное море, Персидский залив), требуют более высокой температуры не только для содержания в вегетативной фазе, но и для осуществления полового воспроизведения, в сравнении с популяциями того же морфотипа, но полученными из Черного, Средиземного морей или Атлантического океана (побережье Франции). Не исключено, что эти популяции с похожим морфотипом, на самом деле представляют собой разные виды, но в любом случае они остаются близкородственными.

Для пресноводных близкородственных видов *Ulnaria ulna* (Nitzsch) Compère и *U. acus* (Kützing) Aboal, четко распознающихся по морфологии, нами было установлено, что температурные оптимумы для воспроизведения различаются не менее, чем на пять градусов. Так если *U. ulna* хорошо воспроизводилась при 20 °С, и могла воспроизводиться при температуре 22-24°, то инициировать половое воспроизведение *U. acus* удалось, только поместив ее в условия пониженной температуры (15-18°С).

Эксперименты с близкородственными видами *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget и *H. ostrearia* (Gaillon) Simonsen показали (рисунок 6.1 и рисунок 6.2), что воспроизведение было успешным при температуре от 10 до 20 °С (наиболее эффективным в наших градациях при 18 °С), а при температурах 23°С и выше вообще не происходило, хотя темп вегетативного деления возрастал прямо пропорционально повышению температуры во всем исследованном диапазоне вплоть до 26 °С.

Обобщая, отметим, что способность к вступлению в половой процесс оказывается наибольшей при некоторой оптимальной для данного вида температуре, и она не всегда соответствует той температуре, которая обеспечивает максимальный темп вегетативного деления клеток водорослей. Фактором, который может инициировать половой процесс, является возвращение из неоптимального диапазона температур к оптимуму.

6.2 Соленость

Соленость как фактор среды определяет не только экологическую валентность диатомовых, и соответственно, занимаемые ими экологические ниши, но и влияет на их половое воспроизведение. Аналогично влиянию многих других факторов среды действие солености проявляется, прежде всего, в наличии оптимума, обеспечивающего появление наибольшего количества генеративных клеток в смешанных посевах или в отдельных клонах, соответственно при гетеро- и гомоталличном воспроизведении. В опытах с

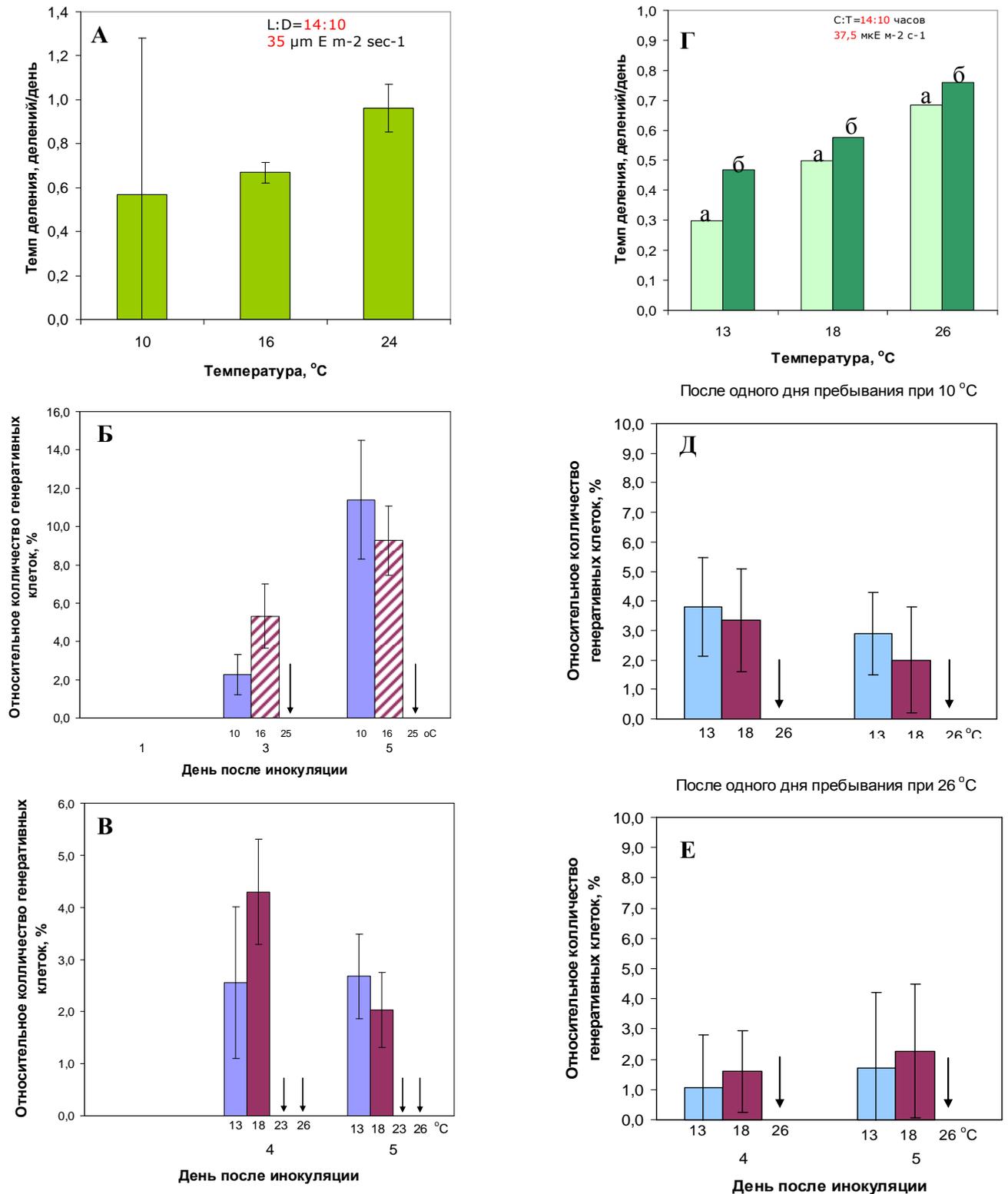


Рисунок 6.1 — Влияние температуры на рост (А, Г) и воспроизведение (Б, В, Д, Е) *Haslea karadagensis* в паре клонов 1.0607-С + 2.0713-Д. Б и В – два независимых эксперимента; в экспериментах Д и Е культуры в течение суток были акклимированы к температуре 10 и 26°C, а затем помещались в условия эксперимента (градиция температур; фотопериод С:Т=14:10 часов; интенсивность света 37,5 $\mu\text{m E m}^{-2} \text{ c}^{-1}$). К генеративным клеткам относили гаметы, зиготы, аукоспоры и инициальные клетки на стадии формирования; относительное количество рассчитывалось к общему числу клеток

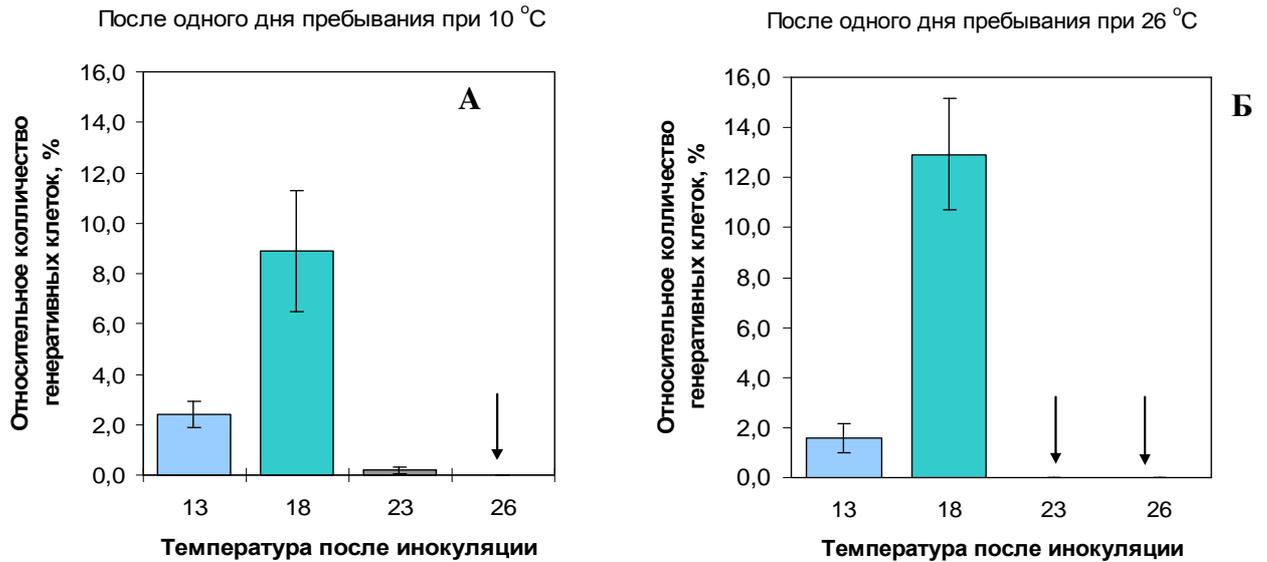


Рисунок 6.2 — Влияние температуры на воспроизведение *Haslea ostrearia* в паре клонов I7 + 136. В экспериментах **А** и **Б** культуры в течение суток были акклимированы к температуре 10 и 26 °С соответственно, а затем помещались в условия эксперимента (градиция температур; фотопериод С:Т=14:10 часов; интенсивность света 37,5 мкЕ м⁻² с⁻¹)

клонами *Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow, полученными из разных мест обитания этого вида (Атлантическое побережье Франции и Черноморское побережье у Карадага) мы нашли [Шоренко и др., 2013; Shorenko *et al.*, 2014], что обе популяции выдерживают достаточно широкие изменения солености, но при этом характеризуются разными оптимумами для вегетативного роста (рисунок 6.3). При скрещивании репродуктивно совместимых клонов из разных популяций, было установлено, что наибольшее количество генеративных клеток обнаруживается в смесях, содержащих при некоторой промежуточной солености (рисунок 6.4). Изучая влияние солености среды на вегетативный рост и половое воспроизведение черноморской бентосной диатомовой водоросли *Ardissonaea crystallina* (C.Agardh) Grunow, установлено [Давидович и др., 2016], что повышение солености благоприятно сказывалось на половом воспроизведении водоросли. В среде с соленостью 17 ‰, типичной для Черного моря, процентное соотношение клеток *A. crystallina*, вступивших в половой процесс, было незначительным и составляло всего 2%. Однако, при переносе в среду с более высокой соленостью (23–38 ‰) процентное соотношение клеток, вступивших в половой процесс, заметно возрастало, до 12–15 % (рисунок 6.5), и сам процесс ауксообразования наступал на сутки раньше, чем при

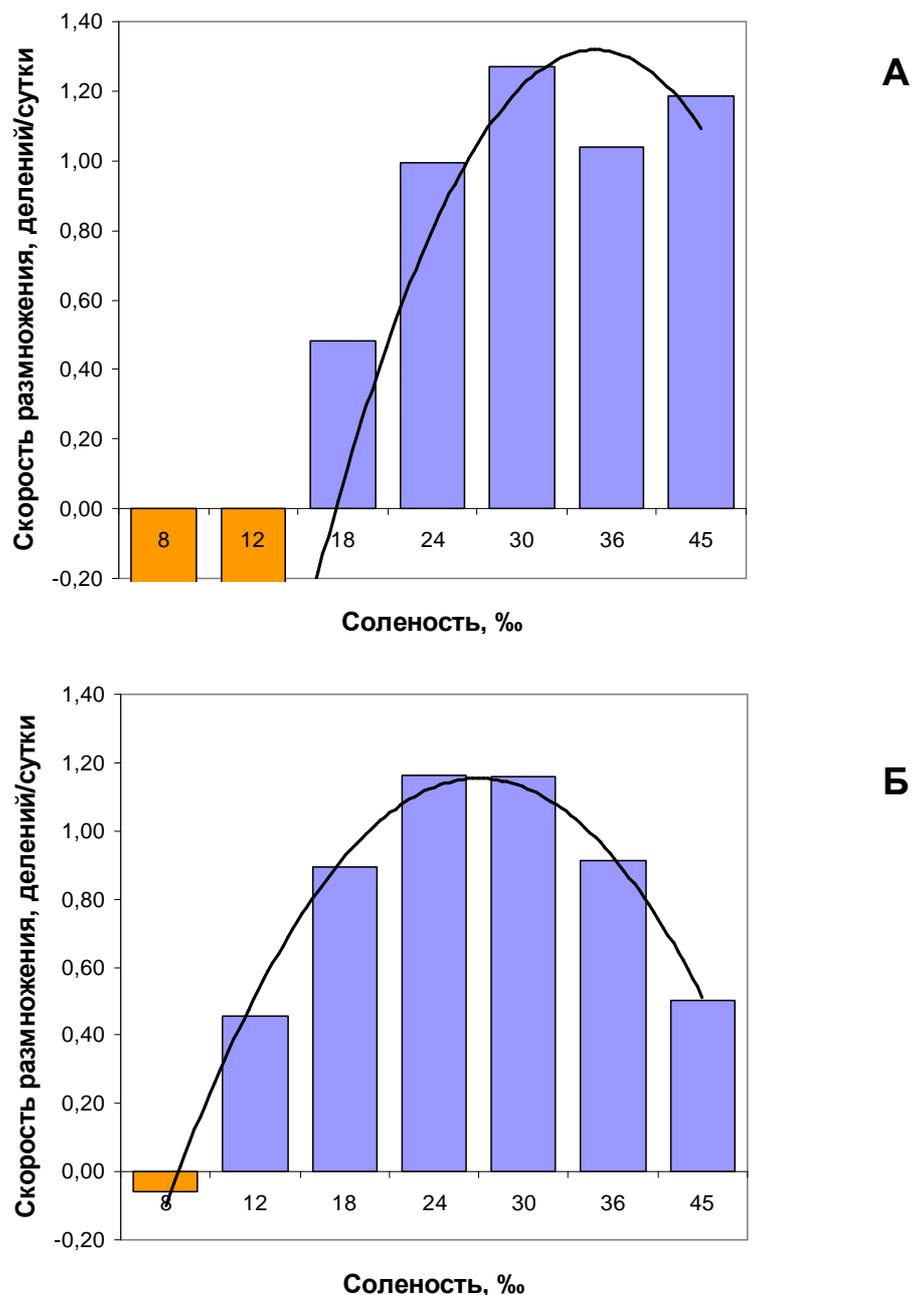


Рисунок 6.3 — Скорость размножения атлантического 0.1119-М (А) и черноморского 1.0209-И (Б) клонов *Nitzschia longissima* в зависимости от уровня солености среды [Шоренко и др., 2013]. Сглаживание выполнено полиномом второй степени

посеве в среды с пониженной соленостью. В среде с более низкой соленостью (8–12 ‰), а также при солености 48 ‰ половой процесс в смешанных посевах отсутствовал.

В экспериментах с *Haslea karadagensis* показано [Davidovich *et al.*, 2012a], что при неизменной солености 18‰, т.е. соответствующей природному уровню для изучаемой популяции, половое воспроизведение в смешанных посевах могло отсутствовать. Понижение солености также не вызывало полового воспроизведения. А вот повышение

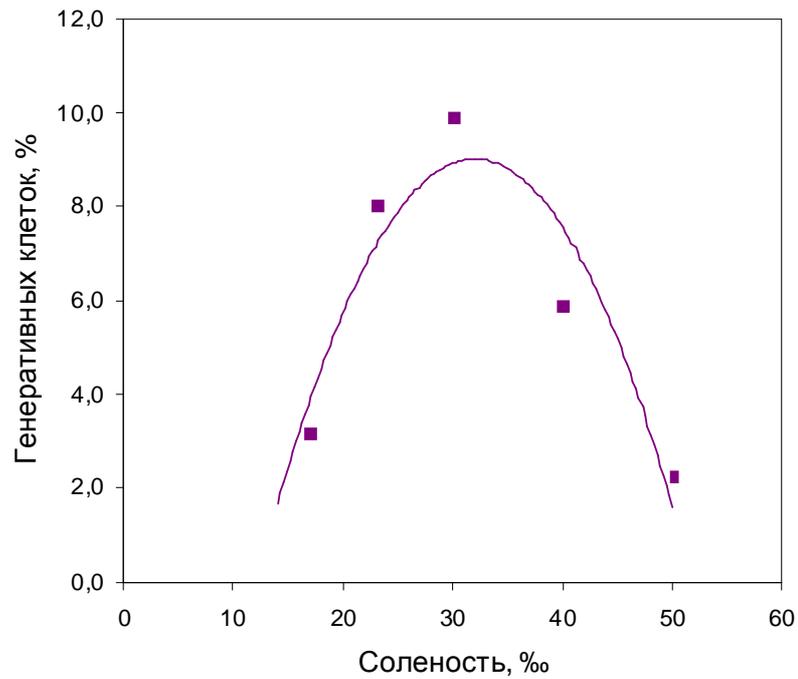


Рисунок 6.4 — Относительное количество генеративных клеток в смесях атлантического клона 0.1119-М и черноморского клона 1.0209-І *Nitzschia longissima* на пятый день содержания при разной солености [Шоренко и др., 2013]. Предварительно клоны были акклимированы к соленостям 17, 23, 30, 40 и 50 ‰. Сглаживание выполнено полиномом второй степени

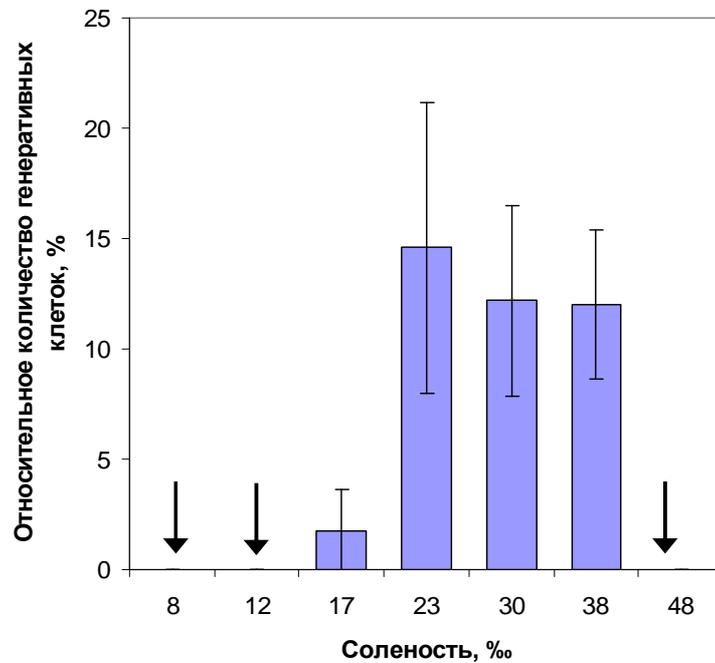


Рисунок 6.5 — *Ardissonaea crystallina*, эффективность полового воспроизведения при разной солености [Давидович и др., 2016]

солености инициировало половое воспроизведение, и в некотором диапазоне наблюдалась даже не прямая, а экспоненциальная зависимость между степенью изменения солености и относительным количеством генеративных клеток, образующихся в смешанном посеве (рисунок 6.6). При этом скорость вегетативного размножения была наибольшей при 28–35 ‰ и зависела от того, при какой солености водоросль содержалась до эксперимента (рисунок 6.7).

В случае с *Tabularia tabulata*, природная популяция которой была обнаружена в Керченском проливе, где обычная соленость 9–12‰, повышение солености до 30‰ в четыре раза увеличивало количество случаев воспроизведения в эксперименте (рисунок 6.8).

Складывается впечатление, что стимулирующая роль повышения солености является общей закономерностью, справедливой в отношении многих диатомовых, включая вышеупомянутые и ранее изученные [Drebes, 1977; Godhe *et al.*, 2014].

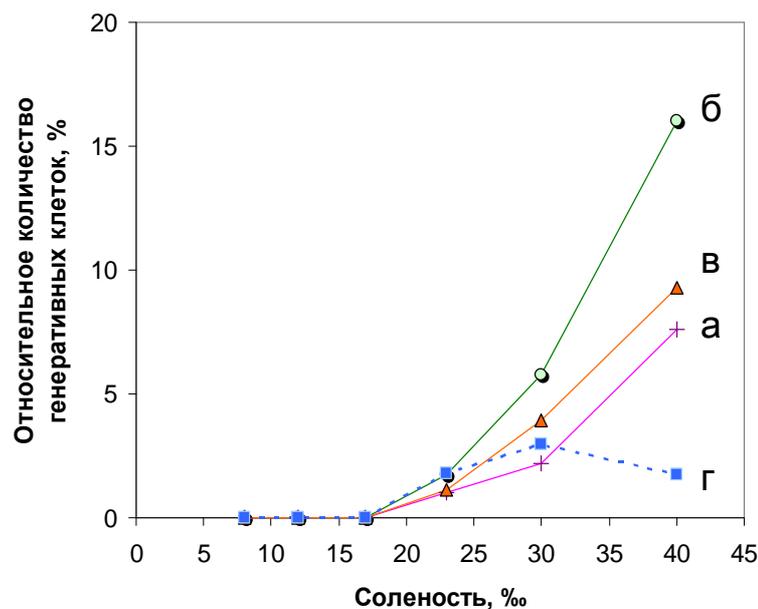


Рисунок 6.6 — Влияние уровня солености на частоту полового воспроизведения *Haslea karadagensis* [Davidovich *et al.*, 2012]. Каждая точка соответствует среднему значению, полученному в результате скрещивания двух пар сексуально совместимых клонов (0.0511-A + 0.0511-N) и (0.0511-C + 0.0511-M). Перед скрещиванием клоны были акклиматизированы в течение недели к уровням солености 12 (а), 17 (б), 23 (в), and 40 ‰ (г); затем делались смешанные посевы пар клонов, которые помещались в экспериментальные условия с разным уровнем солености. Относительное количество генеративных клеток (гамет, зигот, аукоспор) в смеси оценивалось на четвертые сутки

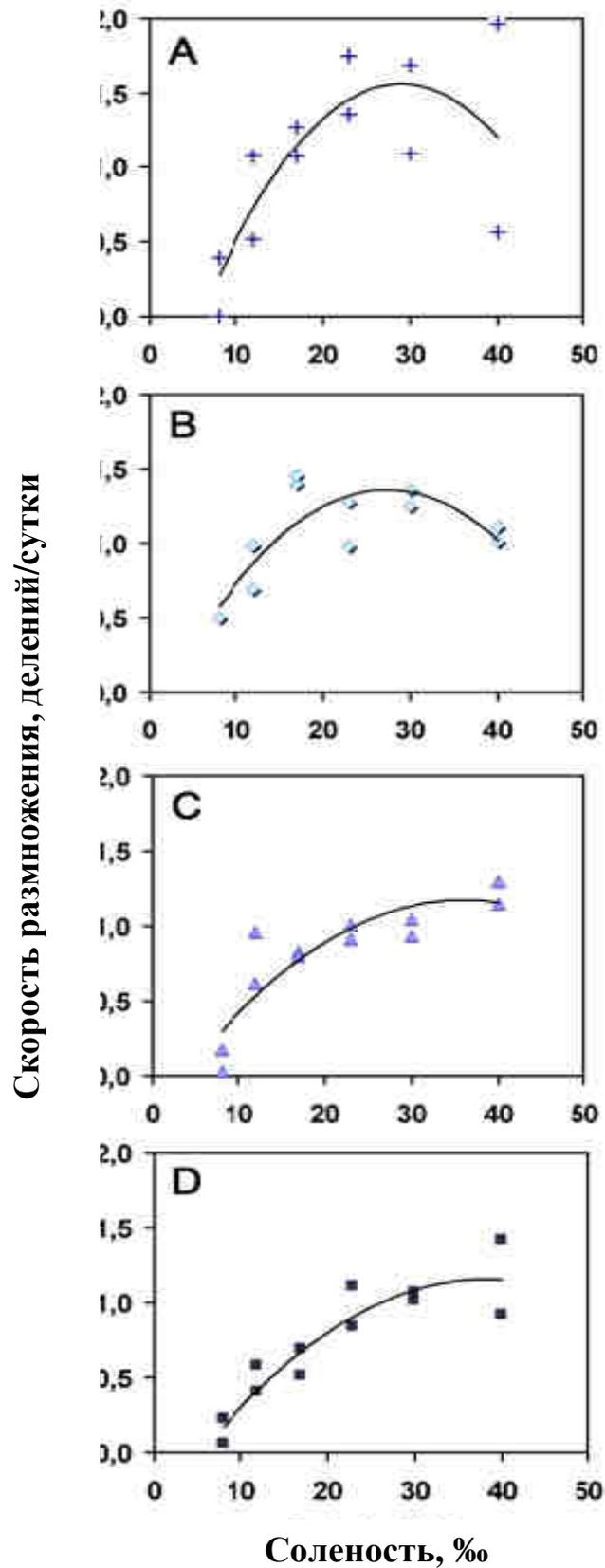


Рисунок 6.7 — Зависимость скорости вегетативного размножения *Haslea karadagensis* от уровня солености [Davidovich *et al.*, 2012]. Перед экспериментом культуры были акклимированы в течение недели к уровням солености 12 (A), 17 (B), 23 (C) и 40 ‰ (D).

Данные сглажены полиномом второй степени

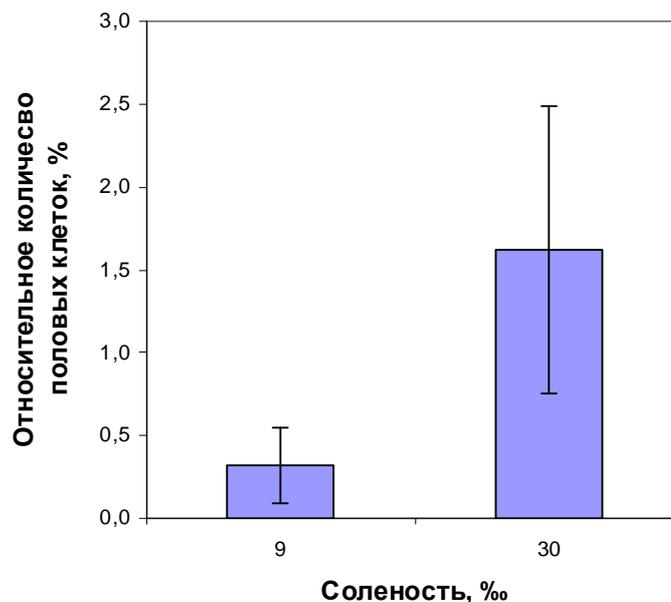


Рисунок 6.8 — Относительное количество половых клеток, образовавшихся в посевах смесей сексуально совместимых клонов *Tabularia tabulata* при разной солености

Уровень солености определяет условия развития ауксоспор, и как показано в работах [Mann, 1994b; Nagai, Imai, 1999], среда с повышенной осмотичностью препятствует достижению ауксоспорами максимальных размеров. Как следствие, можно прогнозировать относительно более короткую продолжительность жизненного цикла у тех клонов, которые возникают в условиях высокой солености, поскольку изначальные размеры инициальных клеток у них будут меньшими.

6.3 Условия освещения

6.3.1 Продолжительность фотопериода

Традиционно исследователи обращали внимание на два основных параметра светового режима: продолжительность фотопериода и уровень освещенности. По отношению к продолжительности светового периода А.М. Рошин [1972, 1976, 1994б] разделил водоросли на *короткодневные* и *длиннодневные* по аналогии с высшими растениями. В соответствии с такой классификацией, например, *Chaetoceros curvisetus* Cleve, *Cocconeis scutellum* Ehrenberg, *Coscinodiscus concinnus* W.Smith, *Melosira moniliformis* (O.F.Müller) C.Agardh, *Melosira nummuloides* C.Agardh будут характеризоваться как короткодневные, поскольку они нуждаются в достаточно длительных периодах темноты для индукции гаметогенеза. У этих водорослей

непрерывное освещение способно полностью ингибировать гаметогенез и образование ауксоспор. Другие виды (*Coscinodiscus janischii* A. Schmidt, *Cyclotella meneghiniana* Kützing, *Detonula confervacea* (Cleve), *Stephanopyxis palmeriana* (Greville) Grunow) обильнее воспроизводятся при продолжительном фотопериоде и даже при непрерывном освещении. Их можно отнести к длиннодневным. Разделение водорослей на короткодневные и длиннодневные весьма условно, однако можно считать доказанным существование видов, облигатно нуждающихся в периодах темноты или пониженной освещенности для прохождения отдельных этапов полового воспроизведения, например, *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.Fryxell & Hasle [Armbrust *et al.*, 1990].

Для многих видов диатомовых, вероятно, существует оптимальная продолжительность фотопериода, за пределами границ которой образование ауксоспор и жизнеспособных клеток максимальных размеров оказывается подавленным, как, например, у *Achnanthes longipes* C.Agardh [Рощин, 1984], *C. concinnus* [Holmes, 1966], *Cocconeis scutellum* var. *ornata* Grunow [Mizuno, Okuda, 1985], *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle [Hiltz *et al.*, 2000].

Изучая влияние условий освещения на воспроизведение *Haslea ostrearia*, мы нашли [Mouget *et al.*, 2009], что оптимальная продолжительность фотопериода была близка к 8 часам в сутки (рисунок 6.9). При этой продолжительности фотопериода частота ауксоспорообразования достигала 12–14 % (имея в виду отношение числа генеративных клеток к сумме генеративных и вегетативных клеток в смеси). Непрерывное освещение было неблагоприятным для воспроизведения *H. ostrearia*

В экспериментах с *Nitzschia lanceolata* W.Smith выяснилось, что длительное (более 1 сут) непрерывное освещение родительских клонов отрицательно сказывалось на вступлении клеток в половой процесс [Давидович, 1995а]. Если клетки родительских клонов до посева их смеси освещались непрерывно в течение 2 суток и более (освещенность в диапазоне 2.5–7.0 клк), то затем им требовалось не менее 20 часов пребывания на свету в смешанном посеве, для того чтобы начался половой процесс. Изменение режима освещения, а именно наличие темного периода, привело к интенсивному образованию ауксоспор на следующий же день после того, как был осуществлен смешанный посев.

В то же время, пеннатные диатомовые *Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow и *Striatella unipunctata* (Lyngbyae) C.A. Agardh обнаружили способность воспроизводиться как при относительно коротких фотопериодах, так и при непрерывном освещении, причем в последнем случае интенсивность ауксоспорообразования оказалась

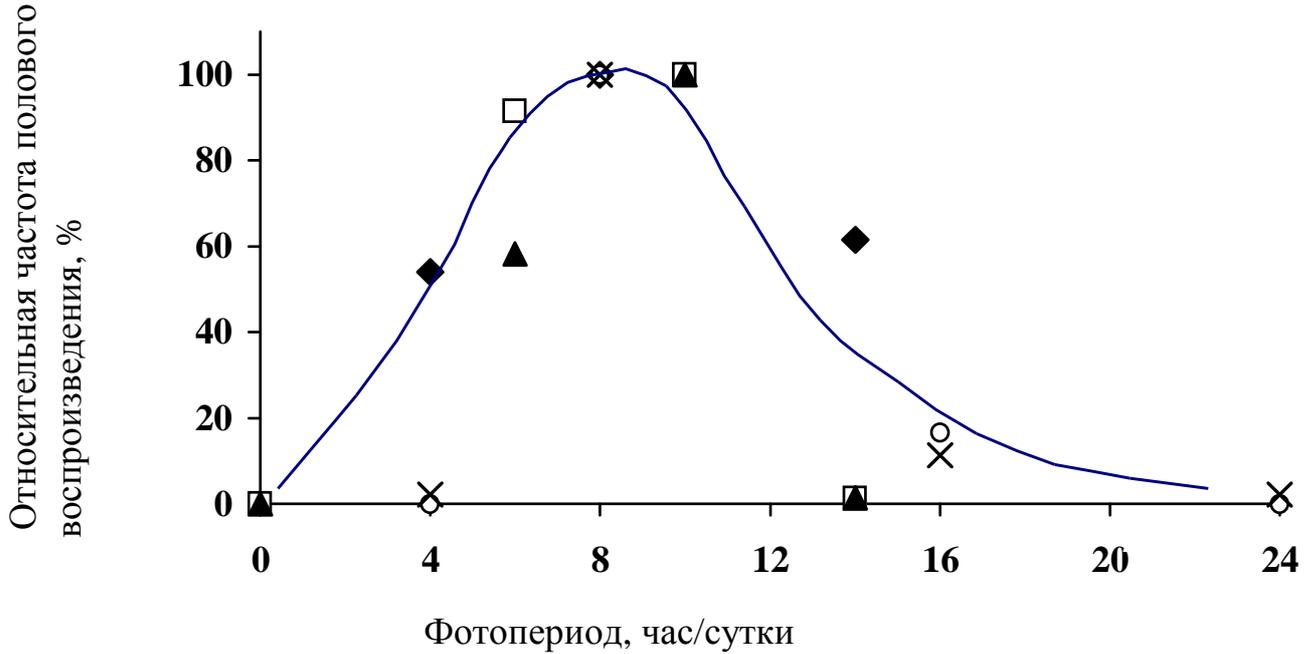


Рисунок 6.9 — Относительная частота полового воспроизведения *Haslea ostrearia* в смесях клонов **E1** x **B2** как функция фотопериода; по данным пяти разных экспериментов [Mouget *et al.*, 2009]. Родительские клоны были выращены при 20 мкМоль фотонов $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, светотемновом цикле С:Т=14:10 часов, потом скрещивались и переносились на разные фотопериоды в пределах от 4 до 24 часов (непрерывный свет) в сутки

наибольшей — количество генеративных клеток в смеси репродуктивно совместимых клонов достигло в одном из экспериментов 40 % от общего числа [Давидович, Чепурнов, 1993].

6.3.2 Интенсивность света

По отношению к интенсивности света результативность полового воспроизведения водорослей также характеризуется некоторым оптимумом. При имеющихся различиях в среднем для изученных видов [см. обзор Давидович, 2002б], оптимум плотности светового потока для аукоспорообразования составил $60 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (что приблизительно соответствует освещенности 3 клк). Сравнивая с другими физиологическими характеристиками, можно отметить, что это в 1,5–3 раза меньше константы светового насыщения скорости размножения диатомовых [Финенко, Ланская, 1971] и на порядок меньше их константы насыщения скорости фотосинтеза [Финенко, 1982]. Среднее значение не отражает разнообразия реакций на уровень освещенности. Так, *S. concinnus*

оказался способен к гаметогенезу при очень высокой интенсивности света — $1740 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (≈ 87 клк), и наилучший результат наблюдался при облученности более $1000 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, в то время как *Rhabdonema adriaticum* Kützing успешно воспроизводилась половым путем при $5 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ ($\approx 0,25$ клк). В отношении *Haslea ostrearia* оптимумы светового потока оказались сравнительно невысокими, порядка $20\text{--}50 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ при светотемновом цикле С:Т=14:10 часов и температуре $t=15^\circ\text{C}$ (рисунок 6.10).

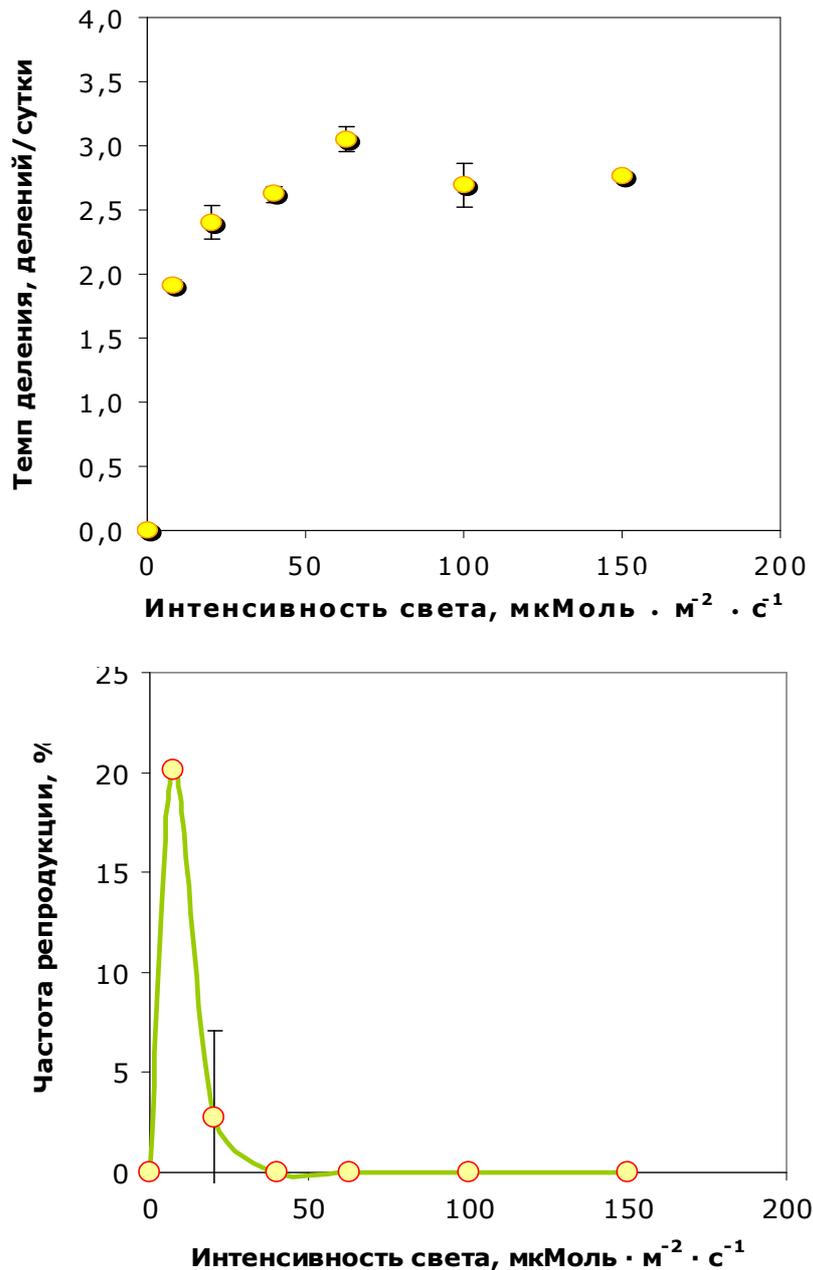


Рисунок 6.10 — Зависимость скорости вегетативного размножения и частоты половой репродукции в смешанных посевах клонов **E1** и **B2** диатомовой водоросли *Haslea ostrearia* от интенсивности освещения при фотопериоде Свет:Темнота=14:10 часов и температуре $t=15^\circ\text{C}$ [Mouget *et al.*, 2009]

Форма кривых зависимости частоты аукоспорообразования от плотности светового потока детально описана для ограниченного числа видов, и в большинстве случаев результаты получены только для двух-трех фиксированных уровней облученности. По имеющимся данным [Давидович, Чепурнов, 1993], полученным для *Nitzschia longissima* и *Striatella unipunctata*, можно заключить, что указанная зависимость имеет вид одновершинной кривой с резко возрастающим и плавно опускающимся плечами (рисунок

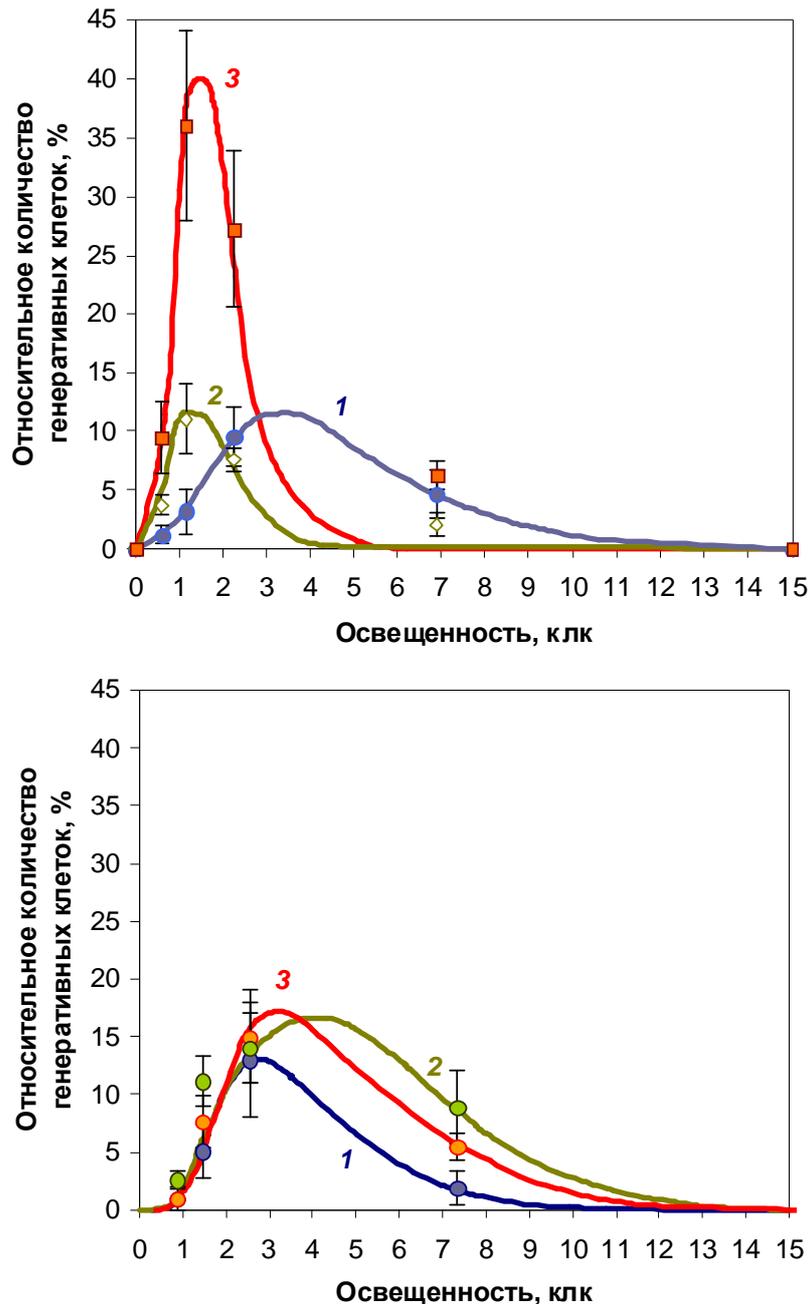


Рисунок 6.11 — Зависимость частоты половой репродукции в смешанных посевах репродуктивно совместимых клонов *Nitzschia longissima* от уровня освещенности при фотопериоде свет:темнота (А) 24:0 и (Б) 16:8 часов на второй (1), третий (2) и четвертый (3) день эксперимента [Давидович, Чепрунов, 1993]

6.11). Частота аукусспорообразования экспоненциально растет с увеличением уровня освещенности, достигает максимума и затем плавно убывает. В отличие от параболической зависимости скорости размножения, а также скорости фотосинтеза от количества поступающей в световом диапазоне энергии, рассматриваемую зависимость удается аппроксимировать показательно-степенным уравнением [Давидович, Чепурнов, 1993]:

$$q(J) = aJ^b \exp(cJ), \quad (6.1)$$

где q – относительное количество генеративных клеток в смеси (%); J – уровень освещенности (клк); a , b , c – коэффициенты. Координаты максимального значения функции легко определяются согласно соотношениям:

$$J_{opt} = \frac{b}{c}; \quad q_{max} = \exp(\ln a + b \ln J + cJ_{opt}). \quad (6.2)$$

Для изучавшихся видов *N. longissima* и *S. unipunctata* оптимальный уровень освещенности для аукусспорообразования был сравнительно невысок, порядка 2–4 и 3–5 клк соответственно, причем положение максимума аукусспорообразования слегка сдвигалось, в зависимости от того, на какой день эксперимента производился подсчет клеток.

Взаимодействие факторов проявляется в том, что положение оптимума плотности светового потока для индукции полового воспроизведения может изменяться в зависимости от продолжительности светового периода, температуры и других параметров, поэтому до проведения многофакторных экспериментов уже выявленные оптимумы следует рассматривать только в конкретной совокупности всех прочих условий. Комбинируя продолжительность фотопериода и интенсивность освещения таким образом, чтобы получить одинаковую дозу облучения, мы нашли, что частота полового воспроизведения в смешанных посевах клонов диатомовой водоросли *H. ostrearia* была наибольшей для фотопериода 8 часов в сутки (рисунок 6.12). При том же самом количестве квантов энергии, но полученных за короткий период (4 часа) или за длинный период (24 часа) в течение суток, частота воспроизведения оказалась в несколько раз меньшей. В некоторых случаях непрерывное освещение полностью ингибировало вступление в половой процесс.

Слабоизученным и в то же время весьма интересным представляется влияние условий освещения на проявление пола у центрических диатомовых. Так, слабая освещенность благоприятствовала появлению спермиев, и напротив, более высокая освещенность была необходима для оогенеза у *Coscinodiscus granii* Gough [Schmid, 1994], *C. concinnus*

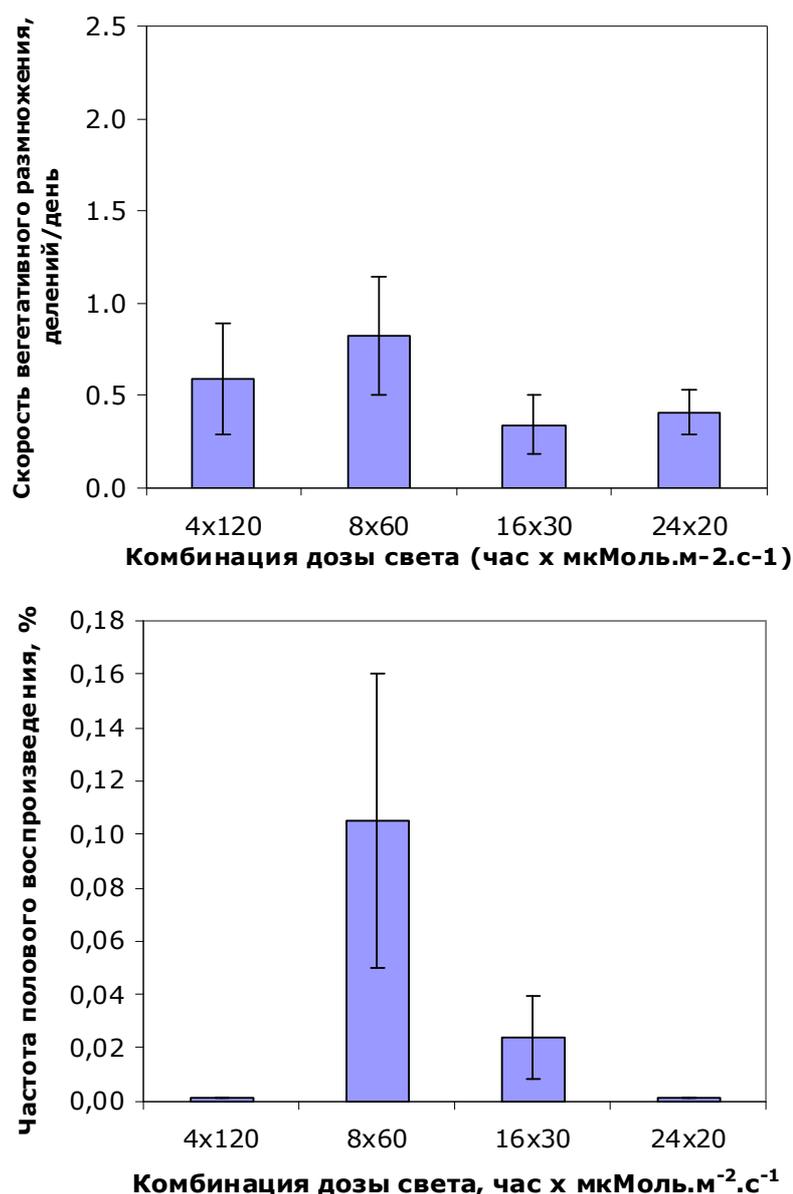


Рисунок 6.12 — Скорость вегетативного размножения и частота полового воспроизведения в смешанных посевах клонов **E1** и **B2** диатомовой водоросли *Haslea ostrearia* при одинаковой дозе света, полученной путем комбинации разной продолжительности фотопериода и интенсивности освещения [Mouget *et al.*, 2009]

[Holmes, 1066], *Lithodesmium* sp. [Stosch 1954, цит. по Schmid, 1994], *M. moniliformis* [Migita, 1967a], *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve [Migita, 1967b].

Противоположная реакция оказалась у *S. palmeriana* [Steel, 1965]. Рассмотренные случаи можно интерпретировать как фенотипическую детерминацию пола. Объяснение механизмов таких фотобиологических реакций пока отсутствует.

6.3.3 Действие синего и красного света

Известно различное действие отдельных участков спектра видимого излучения, в частности, синего, красного и дальнего красного света, на морфогенетические и метаболические процессы у растений [Волотовский, 1992; Цыганкова и др., 2005; Федоренко, Савушкин, 2006]. Один из регуляторных эффектов связан с цветением растений [Cerdan, Chory, 2003]. Подобные исследования, выполненные на диатомовых, отсутствуют.

Мы провели серию экспериментов с *Haslea karadagensis* и *H. ostrearia*, показывающих влияние синего и красного света на половую репродукцию. Было установлено, что при синем свете воспроизведение не происходит, в то время как наличие в оптическом спектре красных лучей обуславливает гаметогенез и аукоспоруляцию (рисунок 6.13). Освещение дальним красным светом, но не в качестве последнего импульса (периода) освещения, не сказывалось на ответной реакции (рисунок 6.14). Таким образом, на примере изученных видов можно заключить, что воспроизведение диатомовых контролируется действием синего, красного и дальнего красного света —

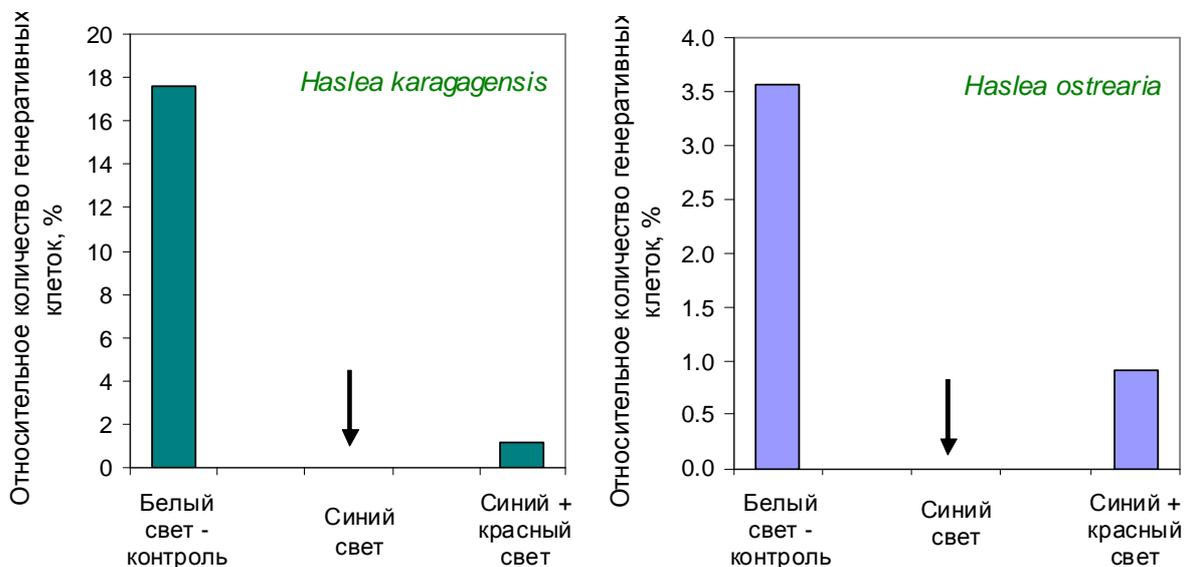


Рисунок 6.13 — Действие синего света на частоту репродукции *Haslea karadagensis* и *H.ostrearia* [Mouget *et al.*, 2009]. Генеративные клетки – гаметы, зиготы, аукоспоры, включая те, в которых откладываются створки инициальных клеток. Две гаметы подсчитывались как одна генеративная клетка, т.к. у *Haslea* в процессе гаметогенеза в одной клетке образуются в норме две гаметы, которые после сингамии формируют одну зиготу

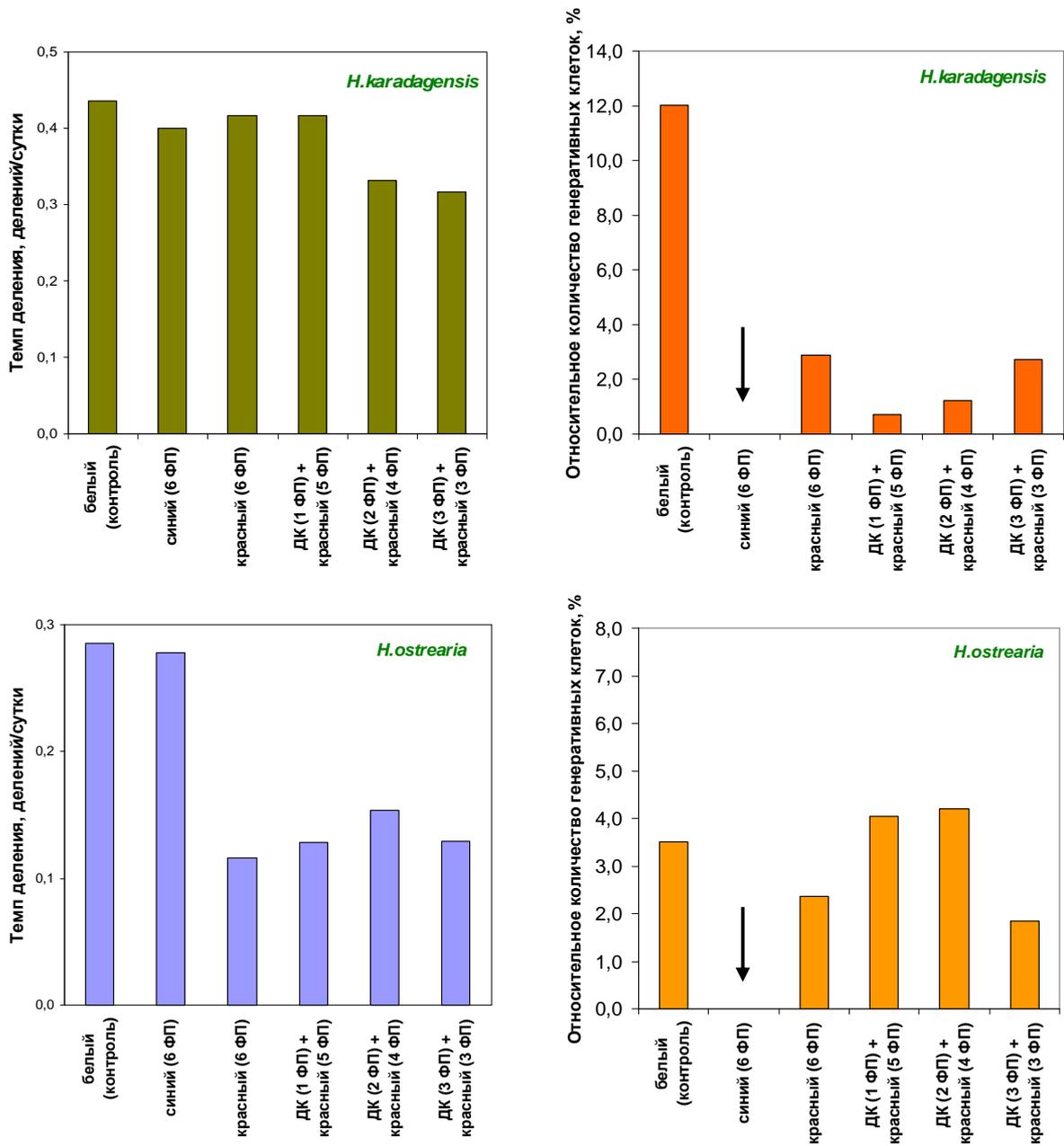


Рисунок 6.14 — Действие света разного спектрального состава на темп деления и частоту аукоспоруляции *Haslea karadagensis* и *H.ostrearia*. ДК – дальний красный свет, ФП – фотопериод. Смешанные посевы сексуально совместимых клонов содержались в течение шести ФП при освещении светом разного спектрального состава, относительное количество генеративных клеток оценивалось на седьмые сутки

для двух последних — явление свойственное фитохромной реакции растений [Конев, Волотовский, 1974; Волотовский, 1992]. Современные методы анализа геномов позволяют осуществить углубленное изучение молекулярных генетических механизмов, регулирующих ответ диатомовых на условия освещения. Была выявлена экспрессия генов, соответствующих синтезу фитохромов, при воздействии низкоэнергетических потоков

синего, красного и дальнего красного света, что предполагает фоторецепторную регуляцию соответствующих клеточных процессов [Derauw *et al.*, 2012]. Ввиду оригинальности соответствующих кодирующих генов, можно предположить, что фитохромная система диатомовых также весьма оригинальна, и напоминает двухкомпонентную сигнальную систему, подобную найденной у бактерий [Derauw *et al.*, 2012]. Спектральные характеристики и функции фитохромов у диатомовых остаются пока невыясненными. Филогенетический анализ показал, что фитохромы диатомовых формируют отдельную кладу с двумя вирусами бурых водорослей, что подводит к гипотезе о возможном существовании среди гетероконтов "бурой" клады фитохромных генов, в латеральном переносе которых участвуют вирусы [Montsant *et al.*, 2007].

Наши эксперименты показали биологическое значение красного света в процессе полового воспроизведения диатомовых. Любопытно, что свет разной длины волны поглощается в водной среде по-разному, быстрее всего красный, глубже всех проникают зеленые и голубые лучи [Austin, Petzold, 1986], и поэтому, можно ожидать, что ауксоспорообразование на разных глубинах будет отличаться интенсивностью.

6.3.4 Сексуализация, сексуальная индукция и этапы полового воспроизведения

Переход клеток от бесполого размножения к половому воспроизведению в ряде случаев удобно рассматривать как двухступенчатый процесс. Вначале достигается физиологическое состояние, при котором водоросли становятся потенциально способными к осуществлению полового воспроизведения — сексуально индуцибельными. Этот этап можно назвать этапом сексуализации. Затем возможна индукция полового воспроизведения (сексуальная индукция).

В таком понимании световой режим (динамика уровня освещенности во времени) выступает в двух качествах:

1) как фактор сексуализации, который аналогично размеру клеток изменяет их физиологический статус [Давидович, 1994]. Отражением такого действия является зависимость относительного количества клеток в популяции, вступающих в половой процесс, от уровня освещенности и продолжительности фотопериода, при которых содержались клетки на протяжении нескольких циклов клеточного деления [Bruckmauer-Berkenbusch, 1954; и др.]. На субклеточном уровне механизм действия света как фактора сексуализации остается невыясненным;

2) динамика освещенности в ряде случаев выступает не только фактором сексуализации, но и фактором индукции (сигналом), который заставляет сексуально

индуцибельную клетку перейти от обычных митотических делений к последовательности событий, ведущих к мейозу при половом воспроизведении [Armbrust *et al.*, 1990].

Последовательность событий, следующих друг за другом при половом воспроизведении, можно представить в виде схемы [Давидович, 2002; рисунок 6.15]: подготовительные этапы гаметогенеза (дифференциация, мейоз) → гаметогенез → половой процесс → ауксоспорообразование → формирование инициальной клетки.

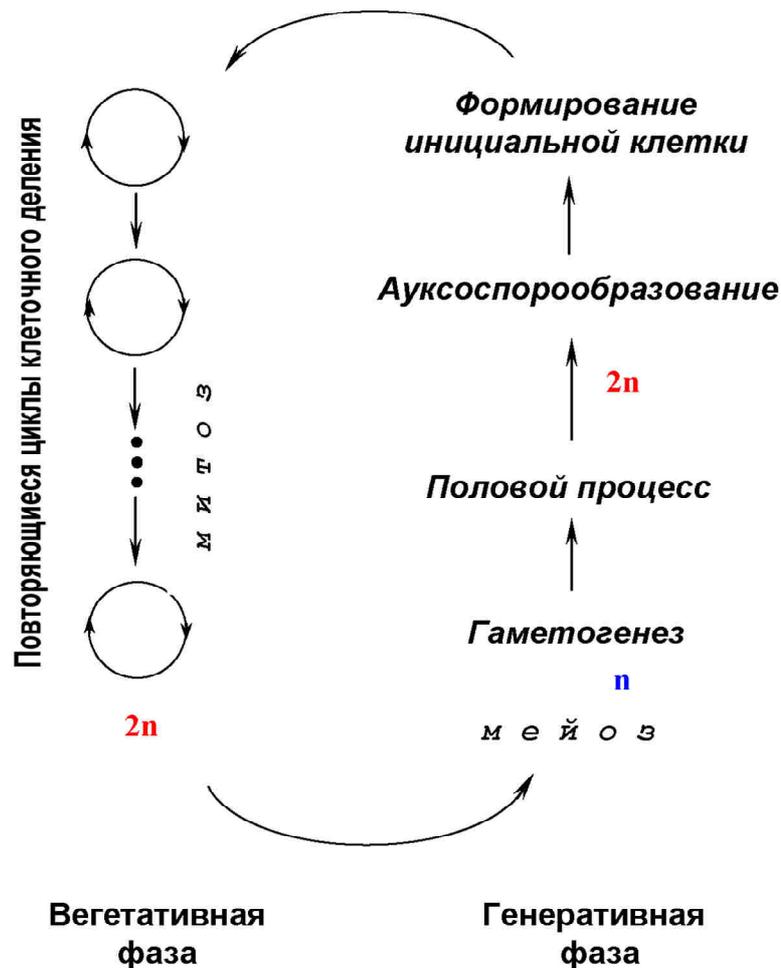


Рисунок 6.15 — Схема жизненного цикла и этапы полового воспроизведения у диатомовых водорослей [Давидович, 2002]

Выделение отдельных этапов в непрерывном процессе полового воспроизведения позволяет детальнее проанализировать действие света. В отсутствие гаметогенеза при апомиксисе и аутогамии речь может идти о хромосомных преобразованиях.

6.3.5 Влияние условий освещения на протекание отдельных этапов процесса полового воспроизведения

У некоторых центрических диатомовых (например, *Chaetoceros curvisetus*) для того, чтобы осуществился гаметогенез, необходимо повторение темновых периодов в нескольких последовательных клеточных циклах, причем количество этих периодов коррелирует с размером родительских клеток [Рошин, 1976]. Было установлено также, что периоды темноты необходимы на подготовительных этапах гаметогенеза, в то время как развитие ауксоспор и инициальных клеток от них не зависело.

Непосредственно на половой процесс условия освещения, если они не экстремальны, по-видимому, не влияют. У многих видов и половой процесс, и гаметогенез могут осуществляться в полной темноте [Рошин, 1976; Давидович, 1994, 1995a].

Процесс роста ауксоспор также в значительной мере индифферентен в отношении света [Давидович, 1994, 1995a]. Так, у *Nitzschia lanceolata* W.Smith размер дочерних клеток, сформировавшихся на свету, был всего на 10–15 % больше, чем при развитии в темноте [Рошин, 1994б; Давидович, 1995a]. Объяснить наблюдавшуюся закономерность можно тем, что в родительских клетках еще до вступления в половой процесс создается определенный запас веществ, который затем передается гаметам, и лишь незначительная часть веществ, вновь фотосинтезированных во время полового воспроизведения, используется для роста ауксоспор. В свете такого заключения интересны результаты экспериментов с *Coscinodiscus wailesii* Gran [Nagai, Imai, 1997], клетки которого способны увеличиваться в размерах посредством бесполого ауксоспорообразования. Процессы ауксоспорообразования половым и бесполом путем различаются своей природой, но и в последнем случае при строгой корреляции между диаметром укрупнившихся клеток и количеством квантов света, полученных культурой, различия в размерах гаметангиев и дочерних клеток не превышали 10 %.

Если запас субстратных или энергетических веществ в гаметангиях невелик, то развитие ауксоспор и инициальных клеток может, по-видимому, тормозиться очередным темновым периодом, в результате половое воспроизведение (от предварительных этапов гаметогенеза до окончательного формирования инициальной клетки) растягивается на несколько суток [Давидович, 1994, 1995a]. Пока нет данных, характеризующих световую зависимость двух последовательных ацитокинетических митозов, которые, как известно, сопутствуют формированию эпитеки и гипотеки инициальной клетки [Round *et al.*, 1990].

Приняв во внимание эффект влияния света на разных этапах полового воспроизведения, можно сделать вывод о том, что результативность

ауксоспорообразования обусловлена предварительным (до начала полового воспроизведения) и текущим (в процессе полового воспроизведения) режимами освещения. Под результативностью мы понимаем возможность появления инициальных клеток, которая зависит от способности родительских клеток приступить к половому воспроизведению и пройти все его этапы. Как было показано на примере *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle, частота образования гамет, зигот, ауккоспор и инициальных клеток может изменяться непропорционально изменению условий освещения, в частности, изменению соотношения продолжительности светового и темнового периодов [Hiltz *et al.*, 2000].

6.3.6 Связь мейоза с митотическим клеточным циклом

У автотрофов прохождение цикла митотического клеточного деления непосредственно связано со световым режимом. Интересно установить, когда и при каких условиях последовательность событий митотического клеточного цикла замещается последовательностью событий, ведущих к мейозу, или при более конкретной постановке вопроса: в какой фазе митотического клеточного цикла возможна индукция полового воспроизведения? Очевидно, что до вступления в половой процесс клетки должны быть сексуально индуцибельными, т.е. иметь размеры, соответствующие генеративной фазе жизненного цикла.

Во многих работах отмечалась приуроченность гаметогенеза к определенному времени суток. Эта закономерность характерна как для пennisных диатомовых при двудомном воспроизведении (например, *Nitzschia lanceolata* W.Smith и др. [Рощин, 1994б]), так и для однодомных центрических (например, *Chaetoceros curvisetus* Cleve [Furnas, 1985]). Для последних синхронность гаметогенеза особенно важна, поскольку в планктоне, особенно при небольшой численности, вегетативные клетки, предшествующие оогониям и сперматогониям, не могут контактировать друг с другом физически. Для клеток, удаленных друг от друга на значительное расстояние, не имеет большого смысла также химическое взаимодействие. Таким образом, в случае гаметогенеза, проявляющегося спонтанно в отношении полового партнера, вероятность встречи короткоживущих спермиев с яйцеклетками, несомненно, повышается, если спермато- и оогенез приурочены к одному времени суток. У *Synedra tabulata* (C.Agardh) Kützing (исследовалась, по-видимому, *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M.Williams & Round) строгая суточная периодичность и синхронность в образовании гамет проявлялась при однодомном воспроизведении и отсутствовала при двудомном [Рощин, 1994б].

Упомянутые наблюдения за синхронизацией частоты гаметогенеза со временем суток приводят к заключению о взаимосвязи аукоспоруляции с циклом клеточного деления. Экспериментальным путем на примере центрической *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) G.Fryxell & Hasle убедительно показано, что индукция сперматогенеза возможна не в любой момент клеточного цикла, а только в определенной его фазе [Armbrust *et al.*, 1990; рисунок 6.16]. При этом режим освещения сам по себе являлся фактором сексуальной индукции, которая происходила только в том случае, если в ранней **G1** фазе клеточного цикла клетки содержались при пониженной освещенности или в темноте. Отсутствие периода темноты в ранней G1 фазе, как и попытка воздействия темнотой в любой другой фазе, неизбежно приводили к отрицательным результатам в отношении гаметогенеза.

Наиболее детально переход от митоза к мейозу мы изучили в экспериментах с *Nitzschia lanceolata* [Davidovich, 1998], создавая искусственные фото- и темновые периоды. Поскольку изучаемый вид раздельнополюй и чаще всего воспроизводится гетероталличным путем, то в отсутствие половых партнеров клетки делятся митотически, не обнаруживая никаких признаков мейоза. Известно, что попадая в темноту, клетки продолжают прохождение митотического клеточного цикла вплоть до вхождения в

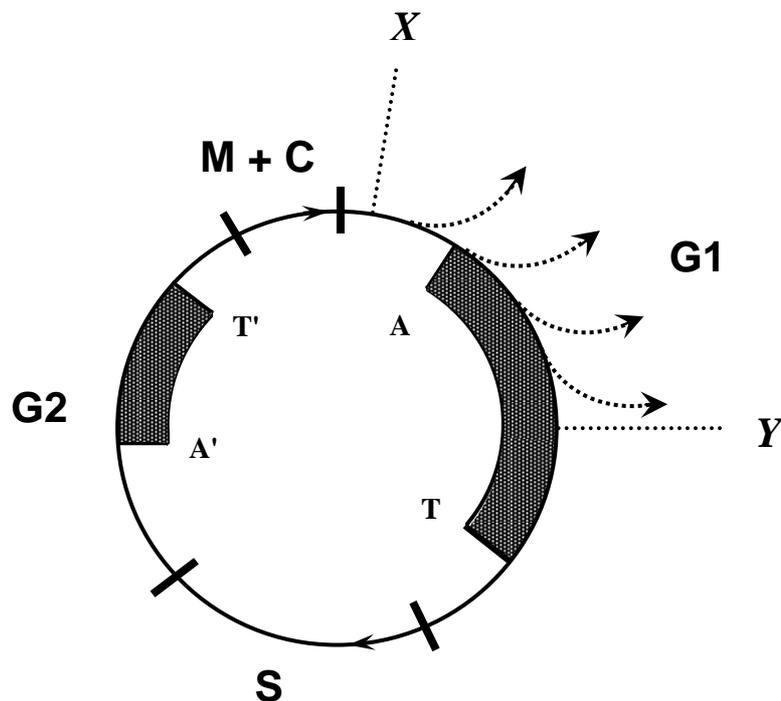


Рисунок 6.16 — Фазы клеточного цикла: M+C - митоз и цитокинез, G1 - пресинтетическая, S - синтез ДНК, G2 - постсинтетическая; А...Т и А'...Т' - светозависимые области; X...Y - область, где возможна сексуальная индукция [по Armbrust *et al.*, 1990 с изменениями Давидович, 2002]

светозависимую фазу **G1** либо **G2**, где они "арестовываются" до наступления следующего светового периода. Логично предположить, что клетки, арестованные в **G2** фазе, после наступления светового периода, продолжат митотический цикл, т.к. они уже прошли **S**-фазу, т.е. фазу синтеза и удвоения ДНК, и готовы к цитокинезу. Поэтому свернуть с митотического пути и перейти к цепочке событий, ведущих к мейозу, могут только клетки, арестованные в **G1** фазе. Задавая момент старта половых отношений путем смешивания клонов противоположного пола, мы смогли установить, насколько эффективным будет переход к мейозу в зависимости от продолжительности пребывания клеток на свету. Родительские клоны одновременно выставлялись на свет, а затем каждые два часа делались смешанные посевы, которые после двухчасовой экспозиции на свету помещались в темноту. По такой схеме эксперимента продолжительность взаимодействия половых партнеров в присутствии света была одинаковой, менялась лишь продолжительность нахождения на свету до начала взаимодействия. Оказалось, что при возвращении на свет после длительного темного периода (трое суток) количество клеток, у которых можно было индуцировать процесс гаметогенеза и ауксоспоруляции, т.е. клеток, становящихся гаметангиями, возрастало с увеличением продолжительности экспозиции на свету в течение 4–5 часов, а затем, по прошествии 6–7 часов, снижалось (рисунок 6.17 А). Следует заметить, что в созданных условиях прохождение клеточного цикла было довольно быстрым, при 8-и часовом фотопериоде клетки делились, т.е. проходили митотический клеточный цикл, 1–1,5 раза в сутки (рисунок 6.17 Б). Как следует из этого эксперимента, наиболее эффективный переход от митоза к мейозу (его предварительным этапам) осуществлялся, если клетки вступили во взаимодействие в ранней **G1** фазе. Встреча половых партнеров, находившихся за пределами **G1** фазы, оказывалась нерезультативной. Описанная закономерность позволяет логично объяснить механизм суточной цикличности в формировании гамет и ауккоспор, наблюдавшейся у ряда видов при содержании в условиях естественного освещения [Рощин, 1994б].

Схема следующего эксперимента предполагала выполнение всех смешанных посевов сразу же после переноса культур из темноты на свет, а затем каждый час несколько чашек со смешанными посевами возвращали в темноту. Таким образом задавалась разная продолжительность пребывания клеток на свету и соответственно разная продолжительность взаимодействия половых партнеров в присутствии света. Результаты

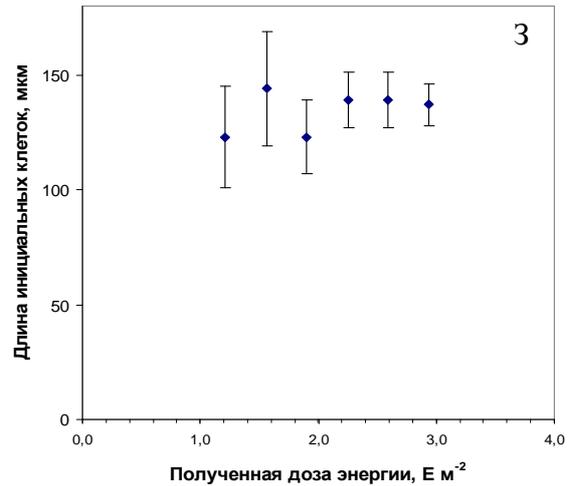
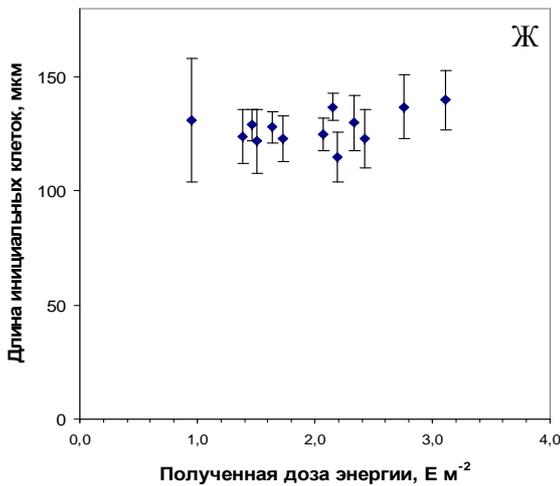
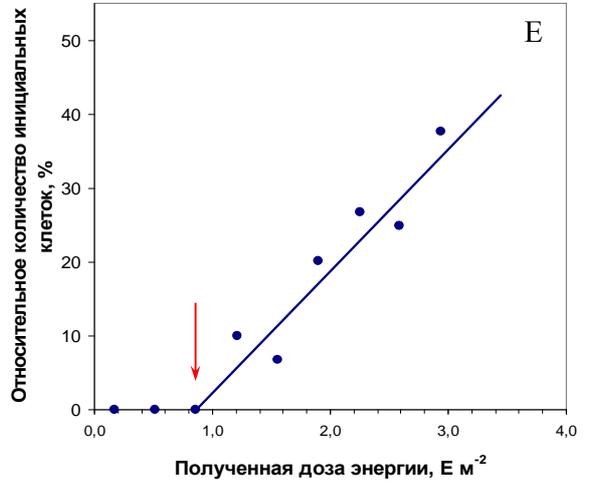
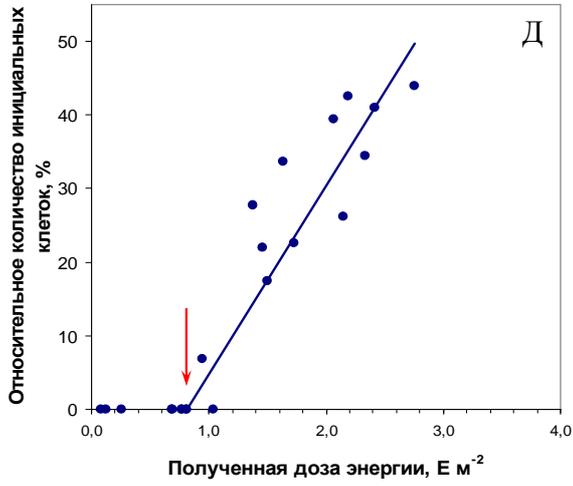
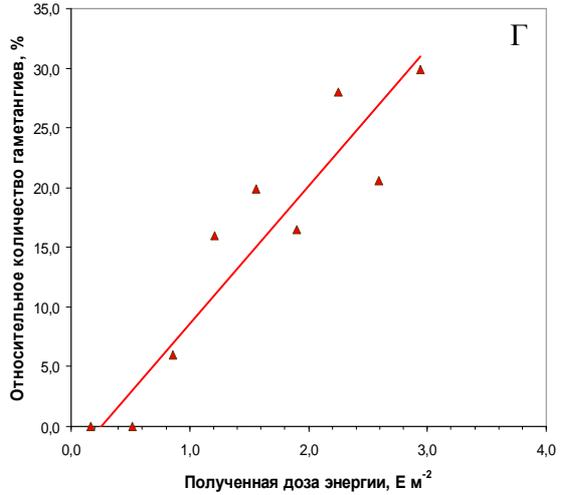
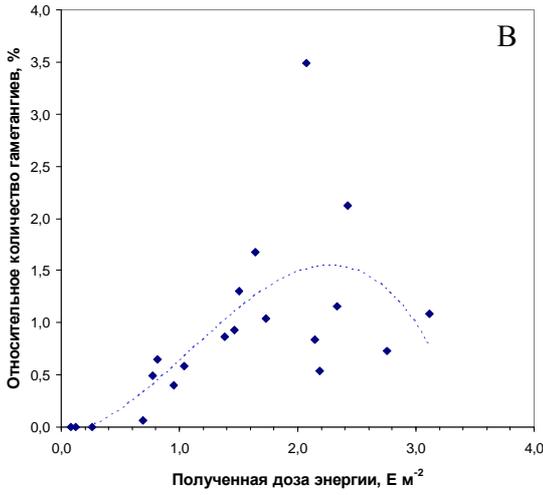
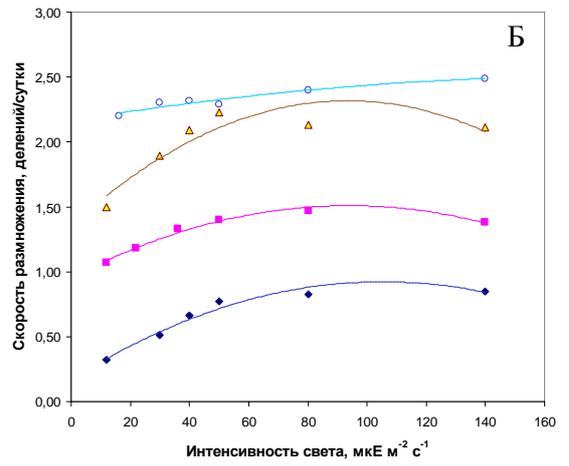
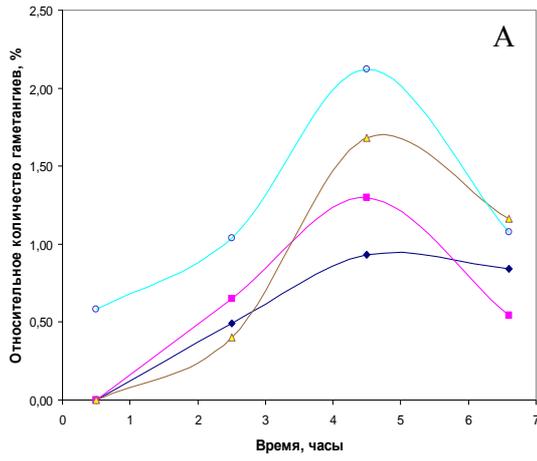
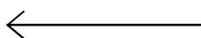


Рисунок 6.17 — Зависимость частоты воспроизведения и размера образующихся инициальных клеток у от дозы света, полученного смешанными посевами клонов *Nitzschia lanceolata* в экспериментах [Davidovich, 1998].

- А.** Процент клеток, вступающих в половой процесс (гаметангии), как функция времени от начала фотопериода. Клоновые культуры, двое-трое суток содержавшиеся в темноте, были помещены на свет $32 \text{ мкЕ.м}^{-2}.\text{с}^{-1}$ (начало фотопериода), затем каждые 2 часа делались смеси половых партнеров в двух-трех повторностях, которые экспонировались еще 2 часа на свету разной интенсивности: 11, 16, 32 и $144 \text{ мкЕ.м}^{-2}.\text{с}^{-1}$ (графики снизу вверх), после чего помещались в темноту. Результаты аукоспорляции регистрировались 2-3 дня позднее, после завершения аукоспоробразования. **Б.** Скорость роста численности как функция интенсивности света при различных фотопериодах Свет:Темнота 4:20, 8:16, 16:8 и 24:0 часов (графики снизу вверх). **В.** Процент клеток, вступивших в половой процесс, как функция общего количества энергии (дозы света, равной интенсивности, умноженной на продолжительность), полученной родительскими клетками от начала фотопериода. Экспериментальные условия освещения такие же, как описаны для рисунка А, т.е. продолжительность взаимодействия клеток-половых партнеров на свету была всего 2 часа. Аппроксимирование выполнено методом двойного скользящего среднего с весами 1:2:4:2:1. **Г.** Процент клеток, вступивших в половой процесс, как функция полученной дозы света. Смеси клонов противоположного пола были помещены на свет в начале фотопериода, затем каждый час две чашки (повторности) помещались в темноту; таким образом, продолжительность взаимодействия клонов-половых партнеров на свету была 1,2,3, ... 8 часов. **Д.** Процент клеток, достигших стадии формирования инициальных створок (инициальные клетки) как функция суммарной световой энергии, предоставленной клонам-половым партнерам от начала фотопериода. Экспериментальные условия освещения как описано для рисунка А. **Е.** То же, экспериментальные условия освещения как описано для рисунка В. **Ж.** Длина инициальных клеток как функция суммарной энергии, предоставленной клеткам-половым партнерам. Экспериментальные условия освещения как описано для рисунка А. **З.** То же, экспериментальные условия освещения как описано для рисунка В.



этого эксперимента свидетельствуют о том, что чем дольше клетки взаимодействовали на свету как половые партнеры, тем большее их количество в суммарном итоге приступало к гаметогенезу (рисунок 6.17 Г).

С прохождением клеточного цикла связаны не только индукция гаметогенеза, но также процессы формирования ауксоспор и инициальных клеток. В отношении формирования инициальных клеток, которое происходило по условиям эксперимента уже в отсутствие света, результат оказался неожиданным. Для того, чтобы смогла сформироваться инициальная клетка — процесс очевидно энергозатратный и требующий накопления определенного количества веществ — родительские клетки должны были получить определенное количество (не менее порогового) световой энергии (рисунок 6.17 Д, Е). По достижении этого порогового значения относительное количество сформировавшихся инициальных клеток было прямо пропорционально полученному количеству энергии, причем неважно, с какого момента клетки-половые партнеры приступили к взаимодействию (см. рисунок 6.17 Д и Е). Таким способом удалось определить ту минимальную дозу световой энергии, которую должны получить клетки в **G1** фазе для того, чтобы пройти все последующие этапы полового воспроизведения вплоть до формирования инициальных клеток, уже независимо от дальнейшего поступления световой энергии. В наших экспериментах с *Nitzschia lanceolata* W.Smith эта величина составила ориентировочно $0,7-0,8 \text{ E}\cdot\text{m}^{-2}$. Примечательно то, что длина инициальных клеток не зависела от полученной дозы света (рисунок 6.17 Ж, З), т.е. в данном случае действует принцип "все или ничего" — ауксоспоры достигают должных размеров и внутри них откладываются створки инициальных клеток, либо, если нужных размеров достичь не удастся, инициальные клетки не формируются вовсе. Однако следует отметить, что вопрос о причинах и механизмах, заставляющих ауккоспору прекратить увеличение размеров и перейти к следующему этапу — формированию инициальной клетки, остается пока открытым.

У клеток, получивших энергии меньше указанного уровня и помещенных в темноту, процесс полового воспроизведения останавливался на этапе формирования ауксоспор. Рост ауксоспор, как выяснилось в процессе экспериментов, представляет собой в некоторой степени автономный процесс, не обусловленный непосредственно фотосинтезом [Давидович 1994]. Однако, установлено, что режим предварительного освещения родительских клеток влиял на размер формирующихся ауксоспор [Давидович, 1995а]. В опыте продолжительность пребывания смеси родительских клонов на свету (после естественного темного периода) была разной. По мере увеличения

продолжительности пребывания на свету смеси родительских клонов средний размер сформировавшихся затем (уже в темноте) ауксоспор увеличивался, доля крупных ауксоспор в выборке становилась больше, и соответственно, распределение оказывалось все более асимметричным, скошенным в сторону максимальных размеров (рисунок 6.18).

Известно, что у *N. lanceolata* в культуре при естественном фотопериодическом освещении от начала роста ауксоспоры до формирования инициальной клетки проходит не менее 1 суток [Рощин, 1990]. Находясь в темноте в течение 2–3 суток, ауксоспоры прекращают рост, исчерпав, по-видимому, все необходимые для этого резервы. В смешанных посевах клонов, пробывших на свету до помещения в темноту менее 2–3 часов, ауксоспоры в большинстве своем не вырастали до максимальных размеров, а инициальные клетки формировались в единичных экземплярах и не в каждом опыте.

Итак, клетки водоросли могли приступить к половому воспроизведению, не будучи в достаточной мере обеспеченными запасными веществами для его нормального завершения. Однако если энергетических и субстратных запасов, накопленных в родительских клетках оказывалось достаточно, в темноте успешно проходили все этапы полового воспроизведения, включая формирование инициальных клеток.

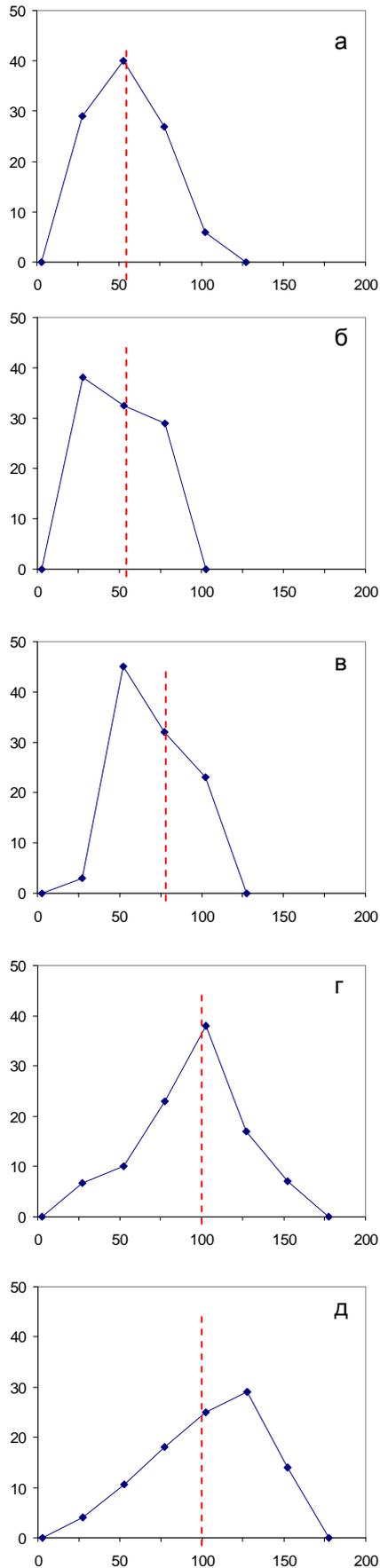


Рисунок 6.18 — Распределения по длине аукоспор *Nitzschia lanceolata*, сформировавшихся в темноте (а–г) и при непрерывном освещении (д) [Давидович, 1995а].

По оси абсцисс — длина клеток, мкм; по оси ординат — относительное количество, %. До опыта родительские клоны содержались при естественном освещении. После смешивания клонов в утренние часы их экспонировали на свету (5 клк) в течение 2 (а), 5 (б), 8 (в) и 24 (г) ч, затем на 3-е сут помещали в темноту; д — культуры все время находились на свету (5 клк). До помещения в темноту образования аукоспор в посевах не наблюдали. Для построения распределений были измерены 35 (а), 28 (б), 32 (в), 31 (г) и 69 (д) клеток. Вертикальными пунктирными линиями указаны средние размеры аукоспор

Раздел 7

ДВИЖЕНИЕ ГАМЕТ

В процессе полового воспроизведения одним из ключевых является момент слияния гамет (сингамия). Для достижения сингамии у диатомовых в целом задействовано несколько способов движения (таблица 7.1). У оогамных центрических диатомовых

Таблица 7.1 — Типы движения гамет у диатомовых водорослей [по Davidovich *et al.*, 2012b]

Тип движения	Группа диатомовых	Половая принадлежность	Доступное пространство ^a	Преодолеваемая дистанция ^b
Движение жгутиковых гамет	центрические	мужская	3D	длинная
Амебовидное движение гамет	пеннатные	мужская и женская	2D	короткая
Разбухание гамет	пеннатные	мужская и женская	3D	очень короткая
Движение родительских клеток-гаметангиев	шовные пеннатные	мужская и женская	2D	длинная
За счет формирования цитоплазматически х нитей	бесшовные пеннатные	мужская	3D	длинная

Примечание. ^a 2D – двухмерное; 3D – трехмерное. ^b длинная – в несколько раз больше диаметра гаметы; короткая – сравнимая с диаметром гаметы; очень короткая – меньше диаметра гаметы

мужские гаметы подвижны. Благодаря наличию жгутика они активно двигаются в направлении женских клеток-гаметангиев и сливаются с находящимися в них женскими гаметами. У шовных пеннатных функция достижения полового партнера первоначально осуществляется за счет самих родительских клеток. Активно перемещаясь, клетки

противоположного пола "находят" друг друга. По-видимому, это может происходить как случайно, так и целенаправленно, благодаря выделяемым феромонам [Gillard *et al.*, 2012]. Затем, находясь в непосредственной близости, клетки обмениваются гаметами, при этом самим гаметам остается переместиться на расстояние меньшее их диаметра. Предполагается, что это происходит за счет амебоидного движения, однако, нередко при неудачном расположении гаметангиев гаметы так и не могут слиться [Chernov *et al.*, 2004; Davidovich *et al.*, 2009]. У некоторых видов сформировавшаяся пара гаметангиев покрывается слизистой капсулой, что, несомненно, увеличивает шанс благополучной сингамии. Преодоление "последней мили" достигается в очень редких случаях за счет разбухания гамет, и соответствующего увеличения их диаметра в полтора-два раза [Mann, Stickle, 1991].

Сложнее достичь сингамии видам, у которых гаметы безжгутиковые, а сами гаметангии не способны к активным перемещениям. Прежде всего, это относится к большой и разнообразной группе бесшовных пеннатных. У некоторых из них, например, у видов из рода *Licmophora* C. Agardh, сингамия осуществляется только в том случае, если клетки, распространяющиеся пассивно, оказываются в непосредственной близости, и клетки-гаметангии могут касаться друг друга [Рощин, 1994б]. Гаметы в таком случае перемещаются по поверхности гаметангиев за счет амебоидного движения [Chernov, Mann, 2004]. Механизм амебоидного движения задействован и у тех видов, у которых формируются копуляционные каналы, как например у истинных *Nitzschia* [Mann, 1986a].

Изучая половое воспроизведение *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M. Williams & Round, мы столкнулись с необычным поведением гамет [Davidovich *et al.*, 2012b]. У этого раздельнополого вида, как и у других представителей рода *Tabularia* (Kützing) D.M. Williams & Round, дифференциация полов может быть обнаружена на этапе гаметогенеза (рисунок 7.1). Морфологический половой диморфизм подтверждается также системой скрещивания и схемой наследования половых факторов [Davidovich *et al.*, 2010]. Движение мужских гамет, покинувших гаметангии, в первом приближении представляется хаотичным (рисунок 7.2). Случайный (броуновский) характер движения мужских гамет у *T. fasciculata* был подтвержден аналитически [Edgar *et al.*, 2014]. Наблюдение за гаметами показало, что мужские гаметы подвижны, но не все в одно время. Они двигаются нецеленаправленно, при этом иногда вращаются вокруг своей оси. В течение минуты мужская гамета может переместиться на расстояние, десятикратно превышающее ее диаметр, но обычно меньше. При этом полный путь, пройденный гаметой, оказывается намного большим ввиду частой смены направления движения. Движение гамет длится от

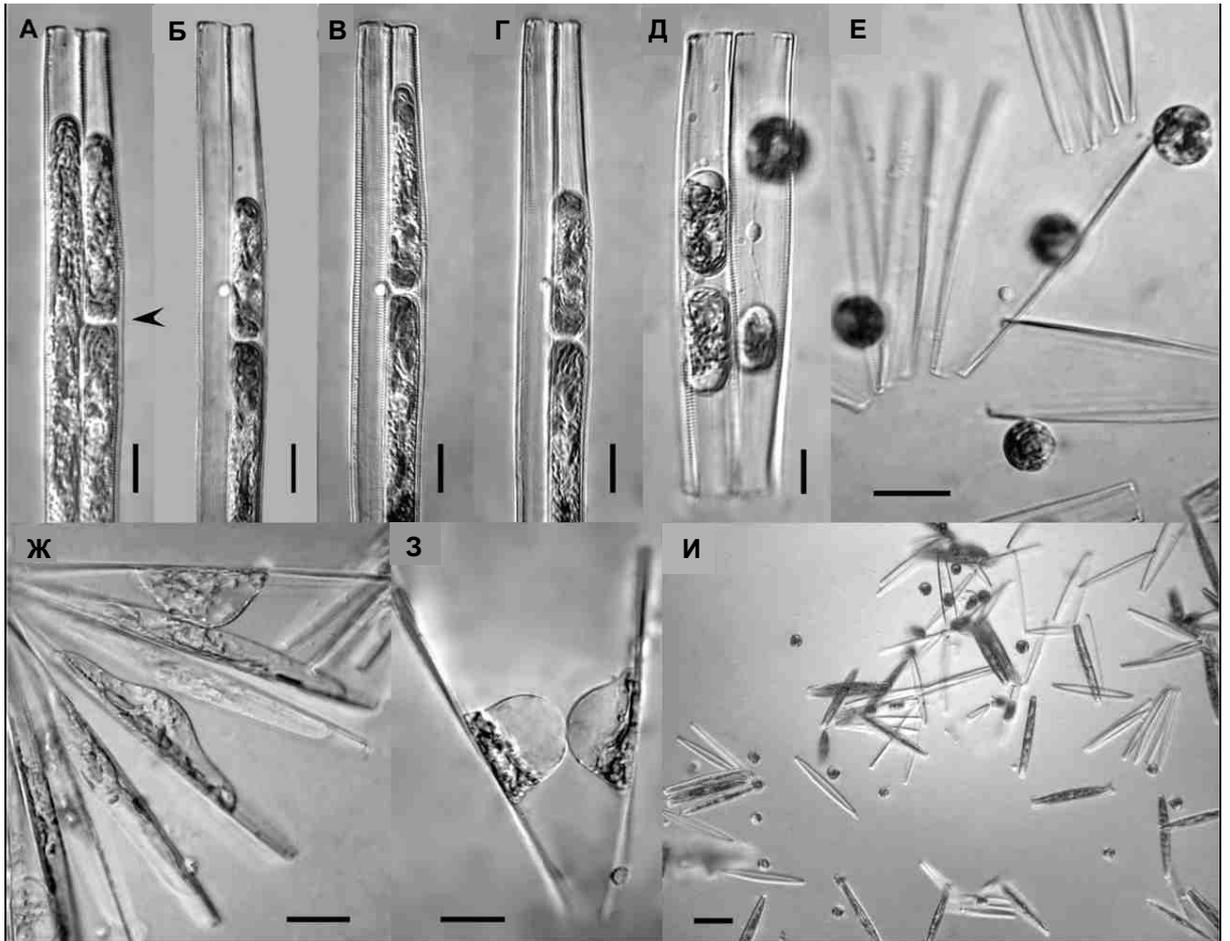


Рисунок 7.1 — Мужской и женский гаметогенез у *Tabularia tabulata*, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст [Davidovich *et al.*, 2012b].

А – два мужских гаметангия на ранних стадиях гаметогенеза; перетяжка в трансапикальной плоскости (стрелка) делит протопласт на две гаметы. **Б-Г** – временная серия снимков, полученных в моменты времени 0; 28; 44 секунды; в процессе формирования гаметы двигаются внутри гаметангия возвратно-поступательно, сокращаясь и удлиняясь. **Д** – округление гамет. **Е** – мужские гаметы покидают гаметангий. **Ж** – женские гаметы на ранних стадиях формирования; протопласт делится в апикальной плоскости. **З** – женские гаметы долго остаются прикреплены к створкам гаметангиальной клетки. **И** – свободно плавающие, очевидно, мужские гаметы, покинувшие свои клетки-гаметангии. Масштаб 10 мкм (**А-Д**), 20 мкм (**Е-З**), 50 мкм (**И**)

нескольких секунд до нескольких минут, начинаясь и заканчиваясь непредсказуемо, и прерывается периодами (несколько минут) покоя. Вращение гамет может ускоряться или замедляться в процессе движения. В наших экспериментах в конкретный момент времени приблизительно только одна пятая часть гамет в поле зрения была подвижной. По

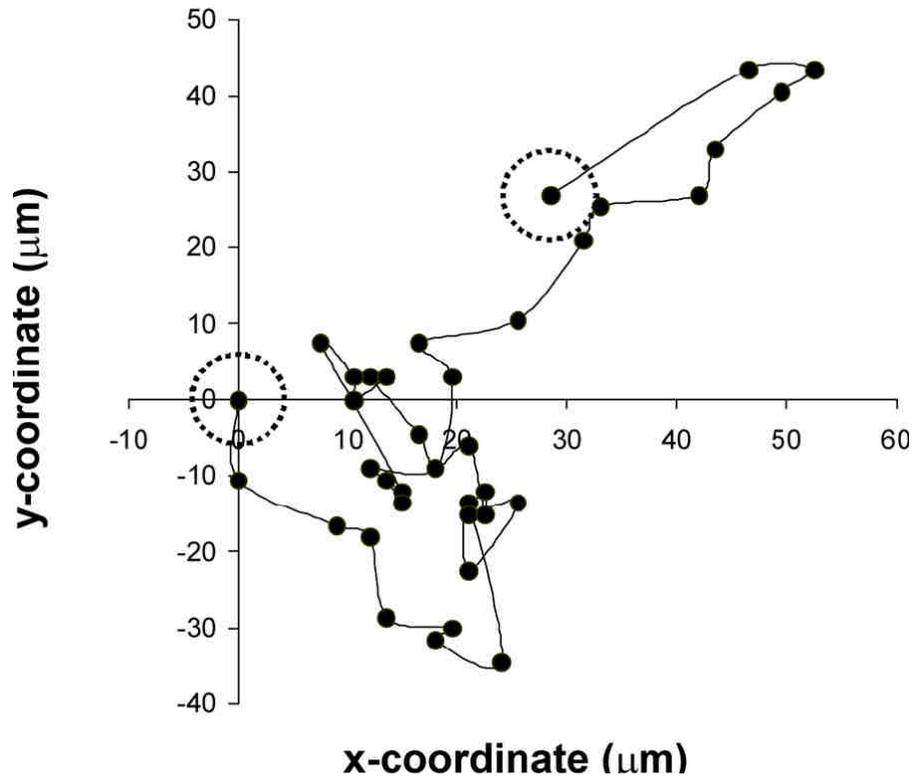


Рисунок 7.2 — Схематическое представление пути одной мужской гаметы в течение трех минут, показанное здесь как проекция траектории в двухкоординатной плоскости [Davidovich *et al.*, 2010]. Построение выполнено по результатам съемки видео в реальном времени. Точки представляют положение центра гаметы каждые 4,7 секунды; пунктирные кольца соответствуют действительным размерам гаметы в начальной и конечной позициях

достижении физического контакта гаметы сливались, образуя сферические зиготы. В начале исследования метод светлого поля и увеличения до 250 крат не позволили установить механизм движения гамет. Внимательное обследование чашек Петри, в которых содержались культуры, не выявило наличия каких-либо инородных подвижных организмов. Позднее, применив большие увеличения и более совершенные методы контрастирования (фазовый и дифференциально-интерференционный контрасты), нам удалось обнаружить очень тонкие структуры, формирующиеся на поверхности мужских гамет у *Tabularia fasciculata* и *T. tabulata* [Davidovich *et al.*, 2012b]. Обычно сразу после освобождения из тек гаметангия мужские гаметы имеют идеальную сферическую форму, их поверхность гладкая, и на ней не обнаруживаются никакие структуры (рисунок 7.3). Вскоре после этого начинается циклический процесс формирования и исчезновения

цитоплазматических выростов. Вначале поверхность гаметы становится активной, теряется сферическая форма, на поверхности появляются короткие выросты похожие на псевдоподии. Поверхность как будто "вскипает". Затем некоторые выросты (от одного до пяти, чаще — два) начинают быстро удлиняться, прямолинейно и в случайном направлении. На удлиняющихся цитоплазматических выростах иногда можно наблюдать утолщения, расположенные на неравном удалении друг от друга и перемещающиеся вместе с дистальным концом цитоплазматического выроста, что говорит о том, что удлинение цитоплазматического выроста происходит у его проксимального конца. Утолщения никогда не перемещаются вдоль цитоплазматических выростов. Толщина (диаметр) цитоплазматических выростов одинаков на всем протяжении. Если в процессе роста цитоплазматические выросты прямые и кажутся ригидными, то по завершении роста они становятся гибкими, начинают искривляться и извиваться (рисунок 7.3, продолжение; рисунок 7.4). На заключительном этапе цикла они начинают сокращаться, интенсивно при этом извиваясь. Иногда складывается впечатление, что цитоплазматические нити не сокращаются, а укладываются или навиваются на поверхности гаметы. Сокращение нитей сопровождается вращением гамет. Во время сокращения может происходить агглютинация двух и даже трех цитоплазматических выростов. После полного сворачивания всех выростов клетка опять приобретает сферическую форму и в таком состоянии относительного покоя находится от нескольких секунд до нескольких минут, пока не начнется очередной цикл формирования цитоплазматических выростов. Общее возможное количество таких циклов неизвестно, на одной из гамет мы наблюдали их более десяти подряд с короткими промежутками, не превышающими 30 секунд. Специальных исследований мы не проводили, но в одном случае описанная активность сохранялась у гамет на следующие сутки после их формирования. Клеточная поверхность зигот также активна, но цитоплазматические выросты на поверхности зигот не возникают (рисунок 7.3, окончание). У *T. fasciculata* мы наблюдали формирование цитоплазматических выростов относительно большего диаметра, напоминающих псевдоподии, на ранних этапах гаметогенеза, когда мужские гаметы еще не округлились и находятся в створках гаметангия (рисунок 7.5).

Нитевидные цитоплазматические выросты имеют толщину (диаметр) 0,7–1,1 мкм у *T. tabulata* и 0,8–1,1 мкм у *T. fasciculata*. Их длина во много раз превышает размеры гамет,

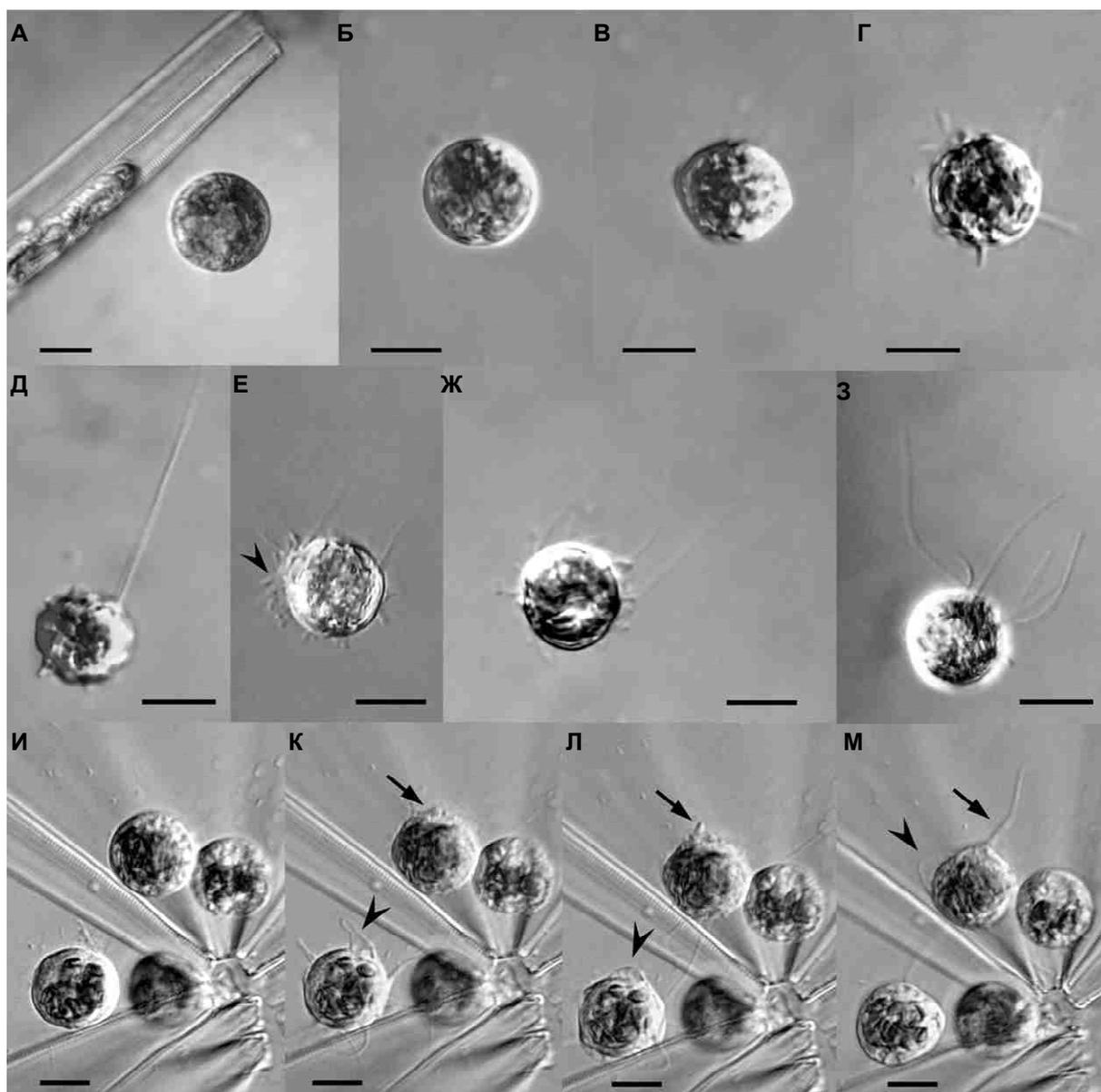


Рисунок 7.3 — Формирование цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia tabulata*, световая микроскопия, дифференциально-интерференционный контраст [Davidovich *et al.*, 2012b]. **А-Б** – на ранних стадиях гаметы, освободившиеся из панцирей гаметангиев, имеют идеальную сферическую форму и гладкую поверхность.

В – первая стадия псевдоподиальной активности, форма клетки перестает быть сферической. **Г** – появляются короткие пальцевидные отростки, напоминающие псевдоподии. **Д** – некоторые из них начинают удлиняться, становясь более тонкими. **Е** – широкие ламеллоподии с пальцевидными псевдоподиями по краю. **Ж-З** – несколько нитевидных выростов возникают на поверхности клеток, они удлиняются по разным направлениям. **И-М** – временная серия (0; 34; 37; 161 секунд) последовательных стадий формирования псевдоподий. Масштаб 10 мкм

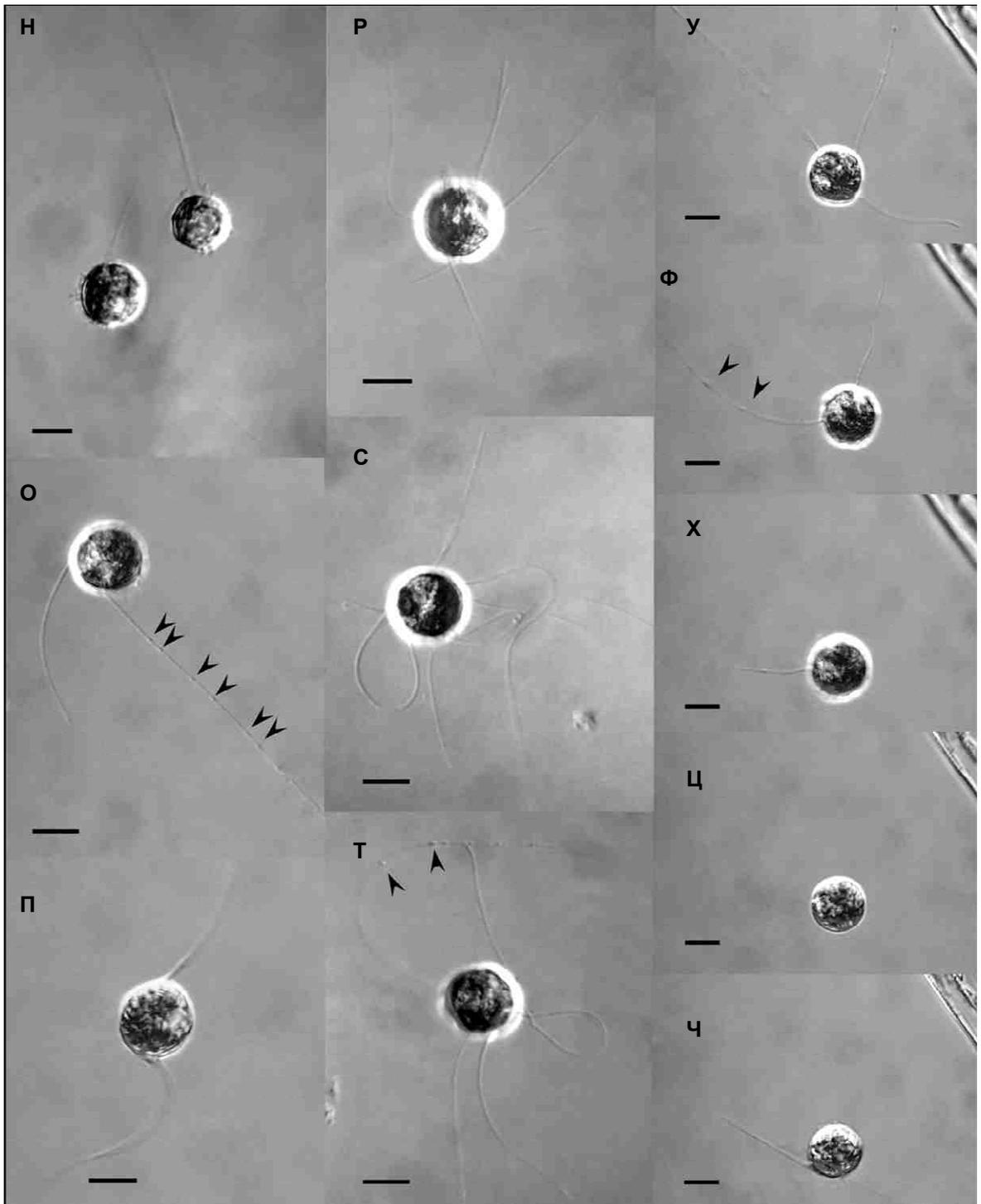


Рисунок 7.3 (продолжение) — **Н** – некоторые выросты прямолинейно и ненаправленно удлиняются. **П** – в ряде случаев на выростах наблюдаются утолщения в виде гранул (указано стрелками), которые не перемещаются вдоль выроста, находясь на неизменном расстоянии от его дистального конца. **П-Т** – по окончании роста цитоплазматический вырост становится гибким, начинает извиваться. **У-Ч** – временная серия (0; 21; 29; 39 секунд) последовательности сокращения (возможно, втягивания или сворачивания) и формирования новой цитоплазматической нити, 65 секунд после предыдущей временной серии Масштаб 10 мкм

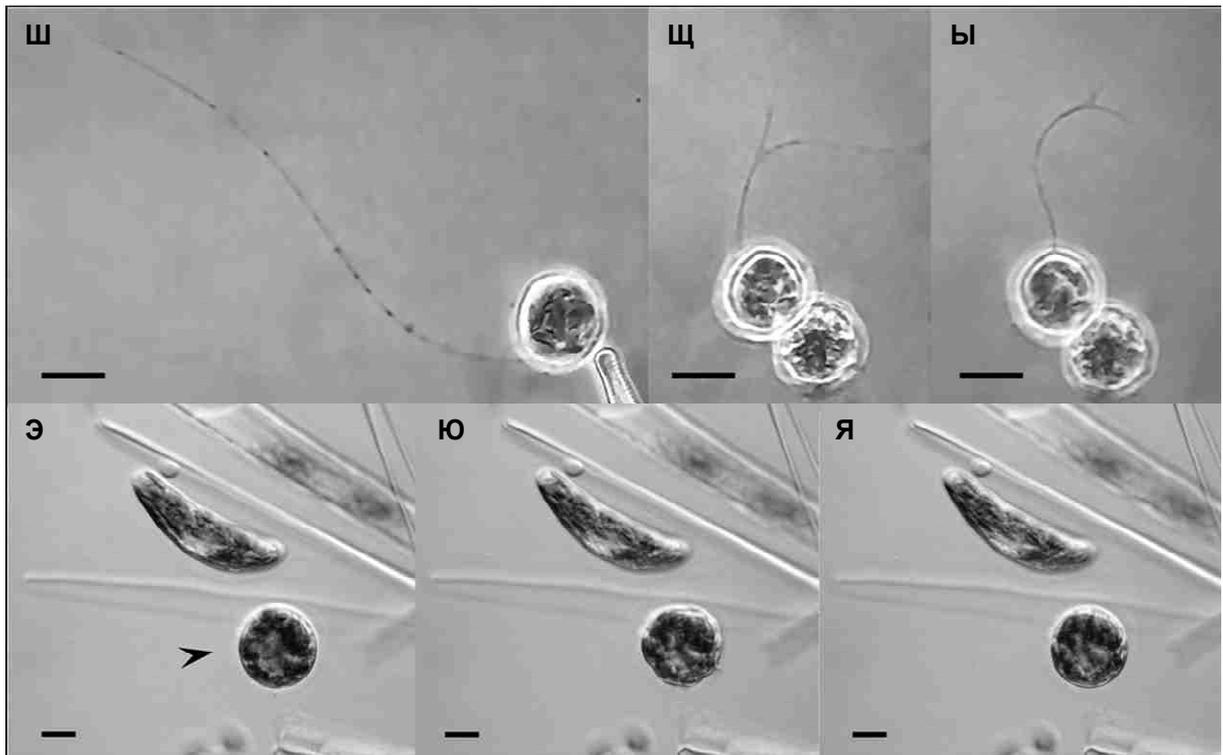


Рисунок 7.3 (окончание) — Ш-Ы (фазовый контраст) – в процессе сокращения может происходить агглютинация двух и даже трех цитоплазматических выростов, интервал между последними двумя снимками 3 секунды. Э-Я – временная серия (0; 26; 52 секунд), поверхность зигот также активна, но цитоплазматических выростов не возникает; стрелкой показана слабо различимая слизистая капсула, окружающая зиготу; на снимках также представлена развивающаяся ауксоспора. Масштаб 10 мкм

так у *T. tabulata* длина нитевидных выростов достигала 150 мкм, что на порядок больше диаметра гамет. Мы установили средние скорости формирования и ретракции цитоплазматических нитей на поверхности гамет *T. tabulata*, они составили 2,35 и 9,46 мкм/сек соответственно, что существенно выше наблюдавшихся у других организмов скоростей образования филоподий и сопоставимо со скоростями характерными для аксоподий и ретикулоподий [Gapter *et al.*, 2010; Davidovich *et al.*, 2012b].

На данный момент нам удалось пронаблюдать описанные псевдоподиеподобные выросты у нескольких бесшовных пеннатных диатомовых, включая *Tabularia fasciculata*, *T. tabulata*, *Ulnaria acus*, *U. ulna*, а также у *Ardissonea crystallina*, таксономическая позиция которой остается дискуссионной. У *U. ulna* гаметогенез можно разбить на два типа: мужской и женский [Podunay *et al.*, 2014]. Различаются они, прежде всего, по характеру деления протопласта клетки в процессе мейотического деления: в апикальной плоскости при формировании женских гамет и в трансапикальной плоскости при формировании

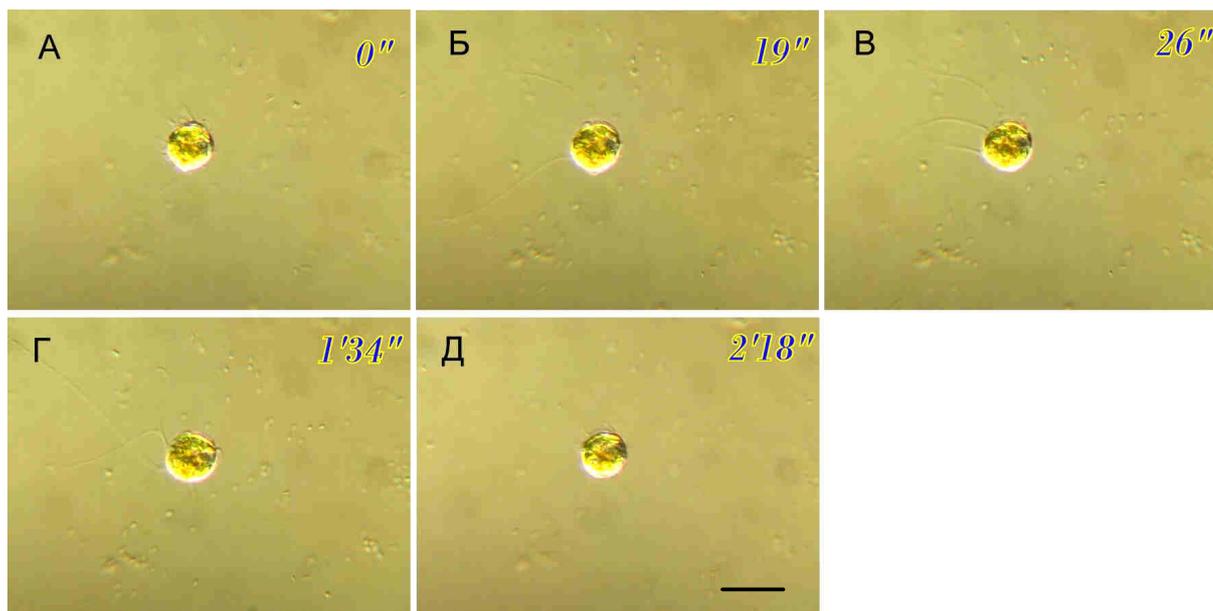


Рисунок 7.4 — Хронометраж формирования цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia tabulata*, СМ, ДИК. Масштаб 10 мкм

мужских гамет. По завершении формирования мужские и женские гаметы морфологически неразличимы, однако, их поведение позволяет установить половую принадлежность. Вращательное и хаотически-поступательное движение мужских гамет обеспечивают цитоплазматические выросты, которые периодически образуются на их поверхности (рисунок 7.6). На поверхности женских гамет такие выросты ни разу не встречались, вследствие чего сами гаметы были неспособны к активному перемещению.

По морфологии, характеру и динамике формирования цитоплазматические выросты на поверхности мужских гамет у всех изученных видов напоминают псевдоподии, и из выделяемых типов псевдоподий более всего соответствуют филоподиям и аксоподиям. Основное различие между аксоподиями и филоподиями состоит в строении цитоскелета: у аксоподий он сформирован микротрубочками, а у филоподий филаментами, состоящими из актина [Margulis *et al.*, 1990; Hausmann *et al.*, 2003]. Недавно описано формирование аналогичных цитоплазматических нитей гаметами *Pseudostaurosira trainorii* Е.А.Моралес; выяснилось, что они содержат микротрубочки, образованные тубулином [Sato *et al.*, 2011]. Таким образом, судя по скорости формирования и молекулярной структуре цитоскелета, цитоплазматические выросты следет отнести к аксоподиям.

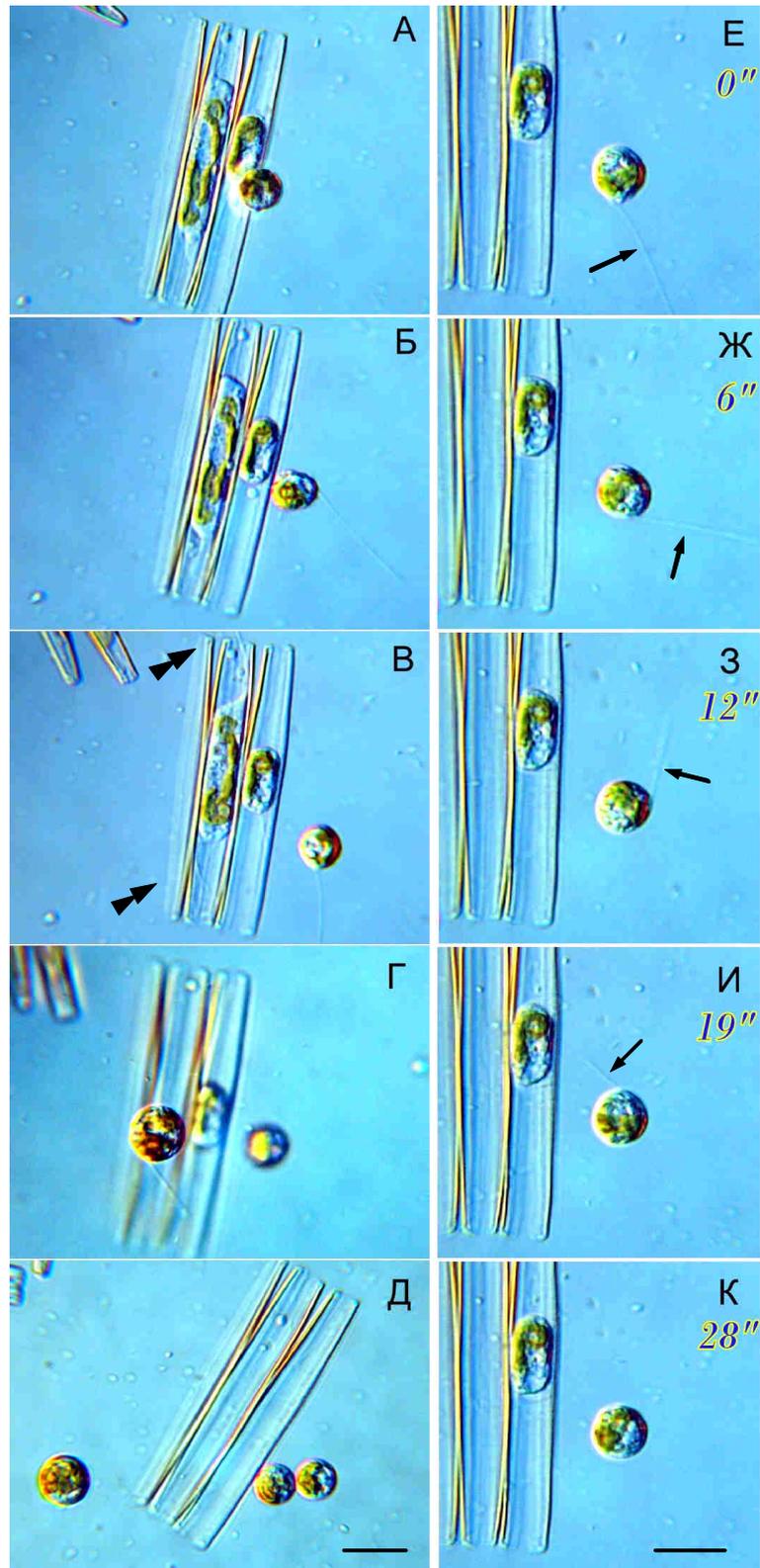


Рисунок 7.5 — Формирование цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia fasciculata*, СМ, ДИК. А-Д – гаметогенез мужского типа; псевдоподии могут формироваться у гамет на ранних стадиях (двойные стрелки); гаметы, освободившиеся из панцирей гаметангиев, имеют почти идеальную сферическую форму. Е-К – хронометраж движения цитоплазматического выроста (стрелки) при его "исчезновении". Масштаб 10 мкм

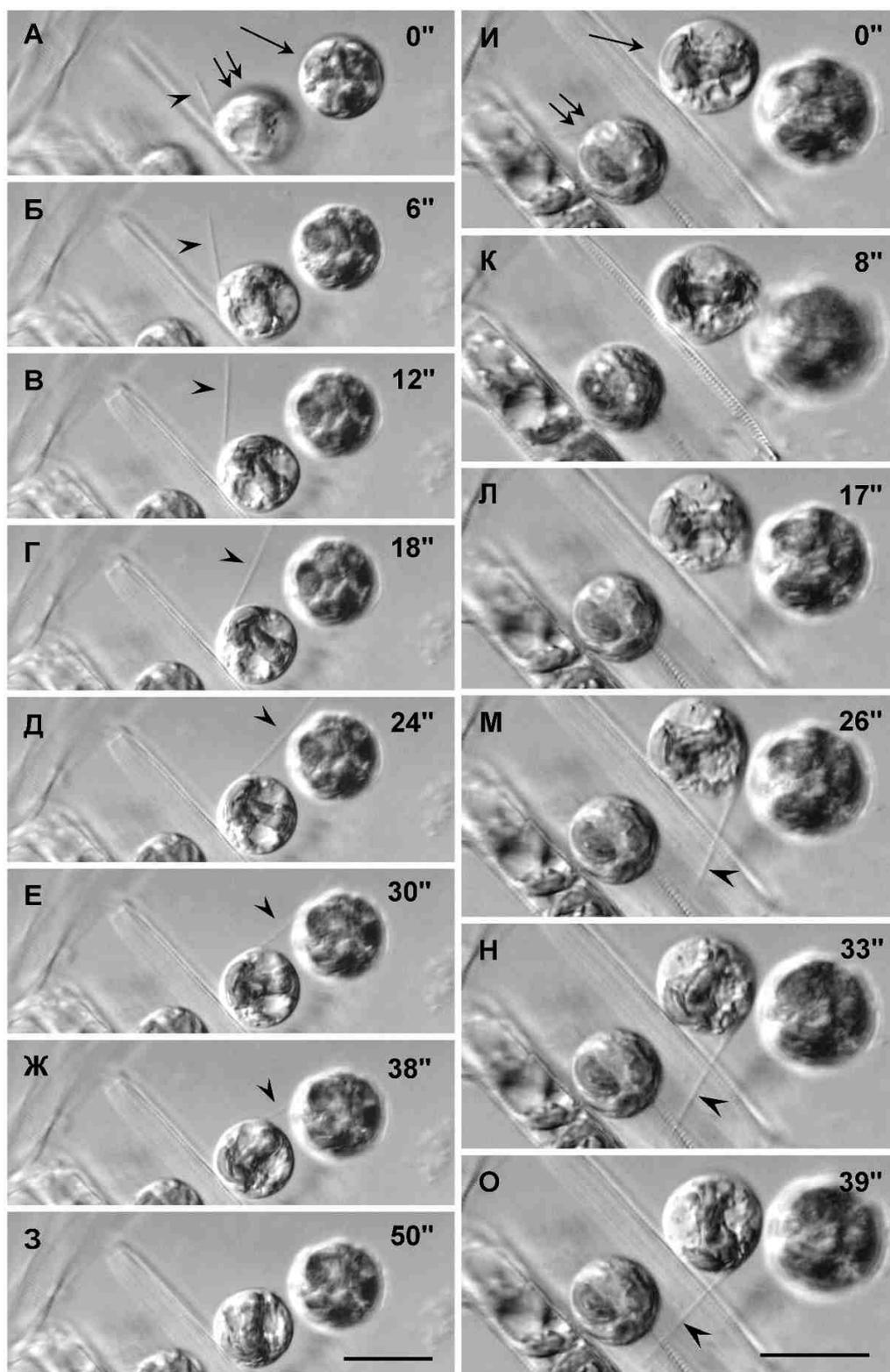


Рисунок 7.6 — Временные серии двух циклов (А-З и И-О) формирования цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Ulnaria ulna*; СМ, ДИК [Podunay *et al.*, 2014]. Мужские гаметы (двойная стрелка) в отличие от женских (стрелка) способны формировать тонкие цитоплазматические нити (короткая стрелка), процесс сопровождается незначительным изменением формы клеток и их вращением во время сворачивания выростов. Масштаб 10 мкм

Описанные цитоплазматические нити, распространяясь на внушительное расстояние от гамет, имеют значительную вероятность встречи с гаметами противоположного пола. Мы несколько раз наблюдали, как соприкоснувшись с гаметами противоположного пола, нити, судя по всему, соединялись с ними, поскольку затем происходило "подтягивание" гамет друг к другу. Этот же феномен наблюдался у *P. trainorii* [Sato *et al.*, 2011]. Говорить о направленном росте цитоплазматических нитей не приходится, но даже при этом не вызывает сомнения, что действие такого механизма — "лассо", "забрасываемого" в разные стороны — во много раз повышает вероятность сингамии. Кроме того, сворачивание нитей вызывает вращательно-поступательное движение мужских гамет. Открытое нами явление послужило основой для теоретического анализа характера движения. Доказано математически, что движение гамет носит хаотический характер, и хотя с точки зрения теории по своей природе такое движение не самое оптимальное, однако, оно повышает вероятность столкновения с гаметами противоположного пола [Edgar *et al.*, 2014]. Важен также тот факт, что движение по описанному типу осуществляется в трехмерном пространстве и на длинных дистанциях по отношению к размерам самих гамет.

Псевдоподии широко распространены в органическом мире, в том числе среди водорослей они обнаружены у представителей отделов Chloarhiophyta, Chrysophyta, Xanthophyta, Dictyochophyta [Масюк, Костиков, 2002]. Однако, описанный нами тип и механизм движения гамет, как показывает обзор литературы, ранее был неизвестен не только у диатомовых, но и в целом у всех других эукариот.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛОВ И СИСТЕМА СКРЕЩИВАНИЯ**8.1 Характер детерминации пола у диатомовых**

Центрические диатомовые являются генетически однодомными, проявление пола у них определяется эпигенетически [Drebes, 1077; Shirokawa, Shimada, 2013]. В течение жизненного цикла у центрических диатомей один и тот же клон может продуцировать как мужские, так и женские гаметы. В отличие от центрических, пеннатные диатомовые являются генетически двудомными, и половое воспроизведение у них обычно происходит при скрещивании клонов противоположного пола. Устойчивая, т.е. наблюдаемая на протяжении всего жизненного цикла, дифференциация клонов на два половых типа, которые являются сексуально противоположными (совместимыми), предполагает, что у пеннатных пол определяется диплогенотипически [Давидович, 2002a; Davidovich *et al.*, 2006]. Известно, что численное отношение полов, близкое у большинства раздельнополых организмов к единице, является прямым результатом хромосомного механизма определения пола [Айала, Кайгер, 1987]. Количество мужских и женских организмов при этом в популяции приблизительно одинаково у тех видов, у которых один пол гомогаметный, а другой — гетерогаметный. Гомогаметные особи продуцируют в отношении половых хромосом только один тип гамет, а гетерогаметные — два типа гамет в равном количестве. У тех видов, у которых пол определяется внешними условиями, количественное соотношение полов обычно существенно отличается от единицы. Скрещивание клонов, выделенных из природных популяций, дало нам приблизительно равное соотношение полов для большинства изученных видов (таблица 8.1). Подчеркнем, что точность оценки в данном случае существенно зависит от объема выборки. Полученные соотношения подтверждают факт того, что, по крайней мере у рассмотренных видов, пол определяется генетическими детерминантами (аллельными парами), расположенными в разных хромосомах.

Данных о генетических основах детерминации пола у диатомовых получено пока не много [Mann *et al.*, 2003; Davidovich *et al.*, 2006; Chepurinov *et al.*, 2012; Vanstechelman *et al.*, 2013]. Теоретически допускается такая последовательность эволюционных событий по обособлению гетероморфных хромосом: пара аутосом → появление полдетерминирующих аллелей → появление района запрета рекомбинации → расширение границ района запрета рекомбинации → дегенерация мужской хромосомы [Асланян,

Таблица 8.1 — Количественное соотношение полов в природных популяциях отдельных видов диатомовых водорослей

Вид	Количество клонов, случайно выделенных из природной популяции, по принадлежности к полу ^{a)}		Соотношение полов (пол 1/пол 2)
	Пол 1	Пол 2	
<i>Ardissonea crystallina</i>	17 ♂	18 ♀	0,94
<i>Haslea karadagensis</i>	21	22	0,95
<i>Nitzschia rectilonga</i>	33 ♂	28 ♀	1,18
<i>Tabularia fasciculata</i> (канадская популяция)	19 ♂	21 ♀	0,90
<i>Tabularia fasciculata</i> (карадагская популяция)	7 ♂	8 ♀	0,88
<i>Ulnaria ulna</i>	27 ♂	20 ♀	1,35
В среднем			1,03

Примечание. ^{a)} – только у некоторых видов по морфологии и поведению гамет клоны можно идентифицировать как "женские" или "мужские"; в большинстве случаев в опытах по скрещиванию удается установить лишь факт принадлежности к противоположным полам; там, где это возможно, принадлежность к мужскому и женскому полам обозначена знаками ♂ и ♀ соответственно

Солдатова, 2010]. Гетероморфных хромосом в диплоидном наборе диатомовых не обнаружено [Kociolek, Stoermer, 1989; Седова, 1996]. Предполагается, что генетический участок, определяющий пол, у диатомовых представлен одним локусом [Chernunov *et al.*, 2012; Vanstechelman *et al.*, 2013]. Для того, чтобы избежать аналогии с теми случаями, когда имеется пара гетероморфных половых хромосом (XY), мы употребляем обозначения F и M для женского и мужского половых факторов соответственно, не определяя их локализацию в хромосомах. Главный постулат — генетические детерминанты, определяющие пол, расположены в разных хромосомах и наследуются независимо. Акцентируя внимание на половых факторах, мы можем говорить о диплогенотипическом

характере наследования пола даже при том, что хромосомы, несущие половые детерминанты, морфологически неразличимы.

Нами углубленно исследован характер детерминации и наследования пола у шовной пеннатной *Nitzschia longissima* [Давидович, 2001; 2002a; Davidovich *et al.*, 2006], и бесшовных *Tabularia fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2010], *T. tabulata* [Давидович, Давидович, 2010; Davidovich, Davidovich, 2011] и *Ulnaria ulna* [Podunay *et al.*, 2014]. Известно, что у вегетативно делящихся клеток диатомовых внешние признаки пола отсутствуют [Round *et al.*, 1990], однако, названные выше виды пригодны для таких исследований, прежде всего потому, что у них отмечена морфологическая дифференциация полов, которую легко обнаружить на этапе гаметогенеза, — благодаря этому можно получить прямое доказательство половой принадлежности исследуемого клона (клетки). Заметим, что морфологическое определение пола условно, и наблюдаемая форма и поведение гамет не означают их прямого соответствия распределению генетических факторов, задающих пол. Одним из важнейших признаков, позволяющих разграничить два пола, является поведение гамет — активное, которое обычно связывают с мужским полом, и пассивное, характерное для женского пола. Такое разделение применимо к *цис*-анизогамным [см. Mann, 1993a] видам, однако, следует предостеречь от попыток определить все активные гаметы, как мужские. В случае транс-анизогамного типа полового процесса из двух гамет, формирующихся в гаметангиальной родительской клетке, одна активна, а другая пассивна, но это не означает, что одна гамета "мужская", а другая — "женская", поскольку принадлежность клона к мужскому типу в данном случае и прежде всего обусловлена его гетерогаметностью, которую можно определить экспериментально, и сочетаемостью при скрещиваниях (репродуктивной совместимостью) с клонами противоположного (женского) пола. До наших исследований характер сочетания генетических факторов, определяющих пол у пеннатных диатомовых, оставался неизвестным.

Рассмотрим в качестве примера *N. longissima* — модельный вид, с которым мы работаем уже на протяжении более пятнадцати лет. Наличие двух скрещивающихся типов в совокупности с морфологической и физиологической анизогамией *цис*-типа, обнаруженной у этого вида (рисунок 8.1), позволило вначале охарактеризовать его как облигатно двудомный [Рошин, 1994б; Чепурнов, 1997; Roshchin, Chepurnov, 1999]. Позднее было отмечено сравнительно редко происходящее внутриклоновое половое воспроизведение, причем, судя по морфологии и поведению гамет, только у мужских клонов [Давидович, 2001; 2002a]. Внутриклоновое воспроизведение (гомоталлизм)

мужских клонов при отсутствии или слабой выраженности такой способности у клонов женского пола мы предложили обозначать термином "андромиксис" [Davidovich *et al.*, 2006]. В генетическом плане андромиксис представляет собой форму самооплодотворения, но в отличие от аутомиксиса [см. Mann, 1993a] в этом процессе участвуют два гаметангия, т.е. процесс аллогамный. Андромиксис можно обозначить также как факультативный гомоталлизм, присущий исключительно мужским клонам.

Факт андромиксиса существенно "усложнил" привычное представление о безусловной связи двудомности с гетероталлизмом и открыл принципиально новую возможность — исследовать половые характеристики потомства однополого клона. Результаты изучения закономерностей наследования пола при внутрикловом воспроизведении *N. longissima* впервые привели к пониманию и доказательству характера наследования пола у пеннатных диатомовых [Давидович, 2001; 2002а; 2005а; Davidovich, 2004; Davidovich *et al.*, 2006].

Ранее было установлено [Рощин, 1994б; Чепурнов, 1997; Roshchin, Cherpurnov, 1999], что при скрещивании мужского и женского клонов половой процесс у *N. longissima* протекает по так называемому "нормальному" типу, подтип **IA2** классификации Л. Гайтлера [Geitler, 1973, Mann, 1993a]. При нормальном половом процессе в каждой гаметангии образуется по две гаплоидные гаметы, и в случае диплогенотипической схемы наследования полов, информация о женских и мужских признаках должна быть локализована у гетероаллельного по полу клона в разных хромосомах, которые в результате мейоза оказываются в двух разных гаметах. Обозначим женский и мужской генетические факторы соответственно **F** (feminine, female) и **M** (masculine, male), не имея в виду обязательного наличия морфологически отличающихся половых хромосом [Davidovich *et al.*, 2006]. Таким образом, спаривание мужского и женского гаметангиев обеспечивает сочетание половых детерминант согласно классической схеме:

Родительские клетки:	(FF) _♀	(FM) _♂
Гаметы:	(F) (F)	x (F) (M)
Зиготы:	(FF) _♀ (FM) _♂	(FF) _♀ (FM) _♂

Здесь предполагается, что женский организм несет генетические половые факторы в сочетании (**FF**), а мужской (**FM**). Такая схема диктует равное распределение полов в потомстве при скрещивании мужского и женского клонов, что и наблюдалось у *N. longissima*. Так, для выяснения пола сестринских (произошедших от одной



Рисунок 8.1 — *Nitzschia longissima*, морфологическая и поведенческая анизогамия позволяет различить два пола, мужской и женский, на этапе гаметогенеза по аналогии с *Tabularia fasciculata*, *T. tabulata*, *Ulnaria ulna*: **а** – женские гаметы, **б, в** – мужские гаметы, **г** – зиготы, **д** – растущая ауксоспора

гаметангиальной пары) инициальных клеток были исследованы четыре пары гаметангиев [Рощин, 1994б; Mann *et al.*, 2003]. Оказалось, что в каждой паре формировалась одна мужская и одна женская инициальные клетки. Приблизительно равным оказалось и постзиготическое соотношение полов в природной популяции [Davidovich *et al.*, 2006].

Внутриклоновое воспроизведение у *N. longissima*, отмечавшееся, как уже говорилось, только у мужских клонов, осуществляется аллогамным путем, т.е. путем спаривания двух генетически идентичных гаметангиев, поэтому схема наследования половых факторов в зависимости от того, является ли воспроизводящийся клон гомо- или гетерогаметным, будет выглядеть следующим образом. Если предположить, что родительский клон гомогаметный (генетически женский), то генетические факторы распределятся по схеме:

Родительские клетки:	(FF) _♀ (FF) _♀
Гаметы:	(F) (F) x (F) (F)
Зиготы:	(FF) _♀ (FF) _♀ (FF) _♀ (FF) _♀

т.е., при внутриклоновом воспроизведении гомогаметного клона потомки будут только одного пола, того же, что и родительский. В случае гетерогаметного клона (генетически мужского) картина будет иная:

Родительские клетки:	(FM) δ	(FM) δ
Гаметы:	(F) (M) x	(F) (M)
Зиготы:	(FF) ♀ (FM) δ (FM) δ (MM) (δ)	

В этом случае следует ожидать появления потомков противоположного пола. Пол получаемого потомства можно протестировать экспериментально, и таким образом установить актуальную схему наследования пола. Из потомства шести мужских клонов *N. longissima*, воспроизводившихся внутриклоновым способом, было выделено тринадцать новых клонов; среди них пять оказались женскими, остальные — мужскими (таблица 8.2); детализацию фактических данных см. в работе [Давидович, 2005a]. Таким образом, для *N. longissima* актуальной оказалась последняя схема, а значит, мы вправе утверждать, что клоны, воспроизводящиеся гомоталличным путем, являются генетически мужскими, т.е. гетерогаметными.

Пока не представилась возможность удостовериться в появлении "суперсамцов", обладающих сразу двумя аллелями мужского типа. Такие потомки могут проявлять себя как обычные мужские клоны, но, скорее всего, они нежизнеспособны, и развитие их прекращается на ранних стадиях. В пользу такого предположения говорят наблюдавшиеся иногда гаметангиальные пары, в которых одиночная ауксоспора располагалась рядом с дегенерирующей зиготой. Полученная статистика распределения полов в потомстве недостаточна для вывода об их количественном соотношении, но сам факт появления мужских и женских клонов в потомстве мужского клона подтверждает правильность предложенной схемы наследования пола.

Позднее аналогичную схему наследования пола мы подтвердили при изучении *Tabularia tabulata* [Давидович, Давидович, 2010], *T. fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2010] и *Ulnaria ulna* [Podunay *et al.*, 2014]. Это оказалось возможным благодаря тому, что у каждого из упомянутых видов один из полов также проявил способность к гомоталличному воспроизведению. У *T. tabulata* способность к внутриклоновому воспроизведению проявили не только мужские, но и несколько клонов женского полового типа, последние воспроизводились, скорее всего, не аллогамным, а аутомиктическим путем. У *U. ulna* наблюдался достаточно обильный внутриклоновый гаметогенез у обоих

Таблица 8.2 — Половая принадлежность потомства, появившегося в мужских клонах *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs в результате внутриклонового полового воспроизведения

Название клона ^{а)}	Половая принадлежность ^{б)}	Внутриклоновое воспроизведение
(7-30-B intra) -0303	♂ (мужской)	+
(7-30-B intra) -0318-A	♀ (женский)	но
(7-30-B intra) -0318-B	♂	но
(8-14-A intra) -0507-A	♀	но
(8-14-A intra) -1105-A	♂	но
(8-14-A intra) -1105-C	♀	но
(8-14-A intra) -1105-D	♀ +	но
(8-21-B intra) -0610	♂	+
[(8-21-B intra) -0610 intra] -0129-B	♂	но
[(8-21-B intra) -0610 intra] -0211-A	♂	но
(8-22-V intra) -0911	♀ +	но
(8-28-G intra) -0611	♂	+
(8-28-G intra) -1104	♂	+

Примечание. а) в скобках указано обозначение родительского клона; intra- , свидетельствует о том, что этот клон был способен воспроизводиться гомоталлическим путем (внутриклоново) и от него получено потомство; за скобками дата выделения дочернего клона (месяц и число) и его буквенное обозначение (имя дочернего клона); б) половая принадлежность определялась по результатам скрещивания с клонами известного пола; + - в клоне было отмечено внутриклоновое воспроизведение, *но* – внутриклоновое воспроизведение не обнаружено

полов, но в клонах женского типа это не приводило к формированию жизнеспособных дочерних клеток, за исключением случаев педогамии [Podunay *et al.*, 2014]

Интересно отметить тот факт, что у бесшовных пеннатных, подобных *T. fasciculata*, *T. tabulata*, *U. ulna*, гаметангиальные пары не образуются, в результате чего гаметы сливаются стохастически, поэтому одна женская родительская клетка может выступать донором гамет в трех возможных вариантах появления потомков: обе сестринские клетки

женские, оба потомка мужские, потомки разнополые. У тех раздельнополых видов, у которых образуется четкая гаметангиальная пара, особенно в случае, когда она покрывается слизистой капсулой, как это наблюдается, например, у *Berkeleya rutilans* (Trentepohl ex Roth) Grunow [Tschermak-Woess, 1973], *Caloneis silicula* (Ehrenberg) Cleve [Mann, 1989], *Dickieia ulvacea* (Berkeley ex Kützing) Cleve [Mann, 1994a] и ряда других, в потомстве гаметангиальной пары следует ожидать появления исключительно разнополых сестринских клеток. Разнополыми будут сестринские клетки у транс-анизогамных представителей рода *Nitzschia sensu stricto*, образующих копуляционные каналы.

Заметим, что описанный выше способ, примененный нами впервые в отношении диатомовых, позволяет установить распределение генетических факторов в потомстве, и таким образом дать ответ на вопрос о том, каким (гомо- или гетерогаметным) является родительский клон. Данный способ можно использовать и в случае полной изогамии, когда гаметы, формирующиеся в генетически мужских и генетически женских клонах, не отличаются ни по морфологии, ни по поведению. Однако, если для генетически гетерогаметного родителя достаточно обнаружить в потомстве всего два клон противоположных по полу, то в случае гомогаметного родителя придется набрать достаточное для статистически достоверных выводов количество потомков, которые все должны быть одного пола. В качестве примера можно привести данные, полученные при изучении пола потомства *Haslea ostrearia* (таблица 8.3). При межкловом

Таблица 8.3 — Наследование пола при межкловом и внутрикловом воспроизведении *Haslea ostrearia*

Тип воспроизведения	Количество потомков ^{a)}	
	пол 1	пол 2
Межкловое	6	7
Внутрикловое, поколение <i>F1</i>	0	15 (8) ^{b)}

Примечание. Способность к внутрикловому воспроизведению проявили клоны только пола 2. ^{a)} – при межкловом и внутрикловом воспроизведении потомки получены от нескольких разных родительских пар или клонов соответственно; ^{b)} – в скобках указано количество клонов, проявивших способность к внутрикловому воспроизведению, поколение *F2*

воспроизведении в потомстве появлялись клоны обоих полов примерно в равном количестве. Внутрикловое воспроизведение было обнаружено исключительно в клонах пола 2 (условное обозначение пола; заметим, что здесь ввиду изогамии возможно использование понятия скрещивающегося типа или типа спаривания, mating type). Был проверен пол у пятнадцати потомков, и он оказался таким же, как у родительских клонов. Более того, восемь внутрикловых потомков первого поколения также проявили способность к внутрикловому воспроизведению. Один проверенный потомок второй генерации унаследовал тот же пол.

Полученные данные, таким образом, свидетельствуют о том, что к внутрикловому воспроизведению у *Haslea ostrearia* способны генетически гомогаметные клоны, т.е. женского типа, дающие потомков исключительно одного пола. Для окончательного, статистически достоверного вывода представляется необходимым изучить пол еще некоторого количества клонов.

Недавно наши выкладки и выводы о характере детерминации пола у диатомовых были подтверждены прямым исследованием генетической карты двух половых типов у *Seminavis robusta* D.V.Danielidis & D.G.Mann. В результате ДНК-фингерпринтирования (метод анализа первичной структуры ДНК) было показано [Vanstechelman *et al.*, 2013], что фенотип типа спаривания отображается как моногенный признак, и один из типов спаривания ("плюс") оказался гетерогаметным полом. У *S. robusta*, так же как у изучавшихся нами *Nitzschia longissima*, *Tabularia tabulata*, *T. fasciculata*, в системе скрещивания доминирует гетероталличный путь, при этом один из полов — в наших экспериментах это мужской — был способен к ограниченному гомоталлизму. Важно подчеркнуть, что речь идет об аллогамном внутрикловом воспроизведении, когда в процессе участвуют две клетки одного клона, которые, по сути, являются генетическими репликами. Мужской гомоталлизм, ввиду аллогамности, отличается от случаев женского гомоталлизма, осуществляющегося в процессе аутомиксиса, как это было, например, у *Ulnaria ulna* [Podunay *et al.*, 2014]. Любопытно отметить, что у *S. robusta* именно тип спаривания "плюс", т.е. гетерогаметный пол, оказался способным к внутрикловому воспроизведению. К сожалению, *S. robusta* не может служить примером удачного выбора в качестве модельного вида, по той причине, что пол у него на морфологическом уровне не проявляется, и мы вправе охарактеризовать его как мужской лишь генетически. В этом отношении гораздо более предпочтительны изучавшиеся нами виды, у которых гетерогаметность подтверждается на фоне гетерогамии (поведенческой и морфологической), позволяющей установить пол по морфологическим признакам. Если

исключить *Haslea ostrearia*, отмеченный андромиксис может служить дополнительным признаком мужского пола, подтвержденным пока на ограниченном количестве видов.

8.2 Сочетание гетеро- и гомоталлизма

Аутбридинг и инбридинг — две принципиально различные системы скрещивания; у каждого вида достигается свой особый компромисс между этими двумя крайностями [Майр, 1974]. С аутбридингом тесно связана двудомность, зачастую синонимически подразумевающая гетероталлизм, т.е. продуцирование мужских и женских половых продуктов разными талломами (клонами). Заметим, что, например, у *Nitzschia longissima* противоположные по полу клоны, происходящие из пары сестринских клеток, оказались неспособными к близкородственному скрещиванию [Рощин, 1994б], что классифицируется как презиготическая стерильность. Однако, при аллогамном внутриклоновом воспроизведении, которое мы наблюдали у *N. longissima*, происходит спаривание двух гаметангиев, являющихся, по сути, генетически идентичными. Следовательно, в системе размножения *N. longissima*, помимо аутбридинга при межклоновом скрещивании, присутствует также крайняя форма инбридинга, которая реализуется посредством внутриклонового воспроизведения. Такие инбредные клоны, как выяснилось, фертильны и способны дальше скрещиваться, если они противоположного пола. Таким образом, половое воспроизведение несомненно двудомного вида может осуществляться не только гетероталличным, но, в особых случаях, и гомоталличным путем. В последнем варианте жесткое инбредное скрещивание не препятствовало появлению потомства вплоть до третьего поколения (далее не изучалось).

Гомоталлизм, проявлявшийся у некоторых пеннатных видов диатомовых в совокупности с гетероталлизмом, А.М. Рощин [1994б] охарактеризовал как однодомно-двудомность. К однодомно-двудомным видам были отнесены изученные им *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M.Williams & Round (представлена как *Synedra tabulata* (C.Agardh) Kützing., см. [Давидович, Давидович, 2010]), *Fragilaria delicatissima* Proshkina-Lavrenko, *Achnanthes brevipes* var. *intermedia* (Kützing) Cleve, *Grammatophora marina* (Lyngbye) Kützing, *Navicula pennata* var. *pontica* Mereschkowsky, *Nitzschia lanceolata* W.Smith. При этом подчеркивалось, что у гетерогамных видов *T. tabulata* и *F. delicatissima* мужские клоны, способные сочетаться с женскими клонами, сохраняют также ограниченную способность к однодомному воспроизведению [Рощин, 1994б]. Любопытно, что однодомное воспроизведение сопровождалось изогамией. Обнаружив проявление

гомоталлизма у *N. longissima*, нам следовало бы отнести эту водоросль к однодомно-двудомным видам. Тем не менее, установленная нами схема наследования полов при гомоталлическом воспроизведении мужского клона и устойчивое разделение клонов на два скрещиваемых типа (мужской и женский), при очевидной морфологической и поведенческой гетерогамии, свидетельствуют о двудомном распределении полов (раздельнополости), которое, однако, не препятствует внутриклоновому воспроизведению одного из них.

Способность исключительно мужских клонов (в отсутствие клонов противоположного пола) к воспроизведению, приводящему к появлению как мужских, так и женских особей, дает возможность по-иному интерпретировать ранее полученные результаты. Так, бесшовную пеннатную водоросль *Tabularia fasciculata* (рассматривая ее как *Synedra tabulata*) А.М. Роцин [1987, 1994б] охарактеризовал как однодомно-двудомную, и подробно описал чередование однодомного и двудомного поколений. Сейчас, приняв во внимание полученные нами данные, можно отказаться от представления о так называемом чередовании “однодомного” и “двудомного” поколений. Действительно, при содержании мужского клона в культуре можно, случайным образом выделяя инициальные клетки, снова и снова получать мужские поколения до тех пор, пока, опять-таки случайно, не будет выделена женская инициальная клетка, и новое поколение (женское) окажется неспособным к внутриклоновому воспроизведению. Внешне это может быть воспринято как смена “однодомного” и “двудомного” поколений. Половое поведение *T. fasciculata* можно считать полностью аналогичным поведению *N. longissima*, вплоть до таких черт, как появление женских потомков при внутриклоновом воспроизведении — клон **Б-1** у *T. fasciculata* [Роцин, 1994б, с.104] — и смена типов полового процесса (изогамный при внутриклоновом и гетерогамный при межкловном скрещивании). Существенны также более низкая частота внутриклонового аукоспорообразования, меньший (возможно, недооцененный) диапазон размеров родительских клеток, в котором оно разрешено, и более выраженная зависимость от условий освещения, — все это говорит о “вынужденности” гомоталлического способа воспроизведения.

Такая же, как у *N. longissima*, схема полового поведения мужских и женских клонов и принцип наследования пола применимы, очевидно, и в отношении *Fragilaria delicatissima* (W.Smith) Lange-Bertalot [см. Роцин, 1994б, с.113-118].

Гаметы, формирующиеся в паре мужских гаметангиев *N. longissima*, соответствуют мужскому типу (округлые), так что при внутриклоновом воспроизведении половой процесс протекает в форме изогамии [Davidovich *et al.*, 2006], и тем самым, резко

отклоняется от *цис*-анизогамного типа (**IA2**), характерного для межклонового скрещивания [Рощин, 1994б]. При последующем межклоновом скрещивании женские клоны, образовавшиеся внутриклоновым путем, формировали типичные женские гаметы (колоколовидные). Следовательно, форма гамет — наследуемый признак, связанный с полом. Этот факт логично объясняет причину существования двух типов полового процесса, “обслуживающих” однодомное (внутриклоновое) и двудомное (межклоновое) воспроизведение. О существовании такого разделения говорилось неоднократно [Рощин, 1994б; Roshchin, Cherpurnov, 1999], и сейчас становится понятной его причина. Межклоновое и однополое внутриклоновое воспроизведение закономерно различаются типами полового процесса (соответственно, гетеро- и изогамия) у тех видов, у которых физиологическая *цис*-анизогамия сопровождается морфологической *цис*-анизогамией, например, *A. brevipes* var. *intermedia*, *G. marina*, *F. delicatissima*, *T. tabulata* [Рощин, 1994б; Roshchin, Cherpurnov, 1999, Podunay *et al.*, 2014]. У видов, которым присуща морфологическая изогамия, хотя физиологически они могут быть как изогамными (*Achnanthes longipes*), так и анизогамными (*транс*-анизогамия у *N. lanceolata*), внутриклоновое и межклоновое воспроизведение является изогамным [Roshchin, Cherpurnov, 1999].

Итак, у *N. longissima* при межклоновом скрещивании только один из гаметангиев в паре продуцирует подвижные гаметы. По морфологическим признакам, по поведению гамет, а также по факту гетерогаметности, установленному для клеток этого клона, его можно определить как “мужской”. Как оказалось, именно мужские клоны способны к внутриклоновому воспроизведению. Если считать подвижность гамет основным фактором, обуславливающим способность к внутриклоновому воспроизведению, то однополое (при условии раздельнополости) внутриклоновое воспроизведение может быть найдено, помимо упомянутых *F. delicatissima*, *T. tabulata*, также и у других видов диатомовых, характеризующихся *цис*-анизогамным типом полового процесса (**IA2** — по классификации Л. Гайтлера), например, таких, как *Achnanthes javanica* f. *subconstricta* (Meister) Hustedt [Mizuno, 1994], *Diatoma elongatum* (Lyngbye) C.Agardh [Round *et al.*, 1990], *Licmophora abbreviata* var. *Abbreviate* C.Agardh [Рощин, 1994], *L. ehrenbergii* (Kützing) Grunow [Рощин, Чепурнов, 1994], *L. gracilis* var. *anglica* (Kützing) H.Peragallo & M.Peragallo [Mann, 1982], *Mastogloia smithii* Thwaites ex W.Smith [Stickle, 1986], *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (Hasle) Hasle [Davidovich, Bates, 1998a, b], позднее исследованные клоны были описаны как *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle [Lundholm *et al.*, 2003], *Pseudo-nitzschia multiseriis* (Hasle) Hasle [Davidovich, Bates, 1998a, b], *Striatella unipunctata*

(Lyngbye) C.Agardh [Рощин, 1994б], *Synedra amphicephala* Kützing [Geitler, 1958], *Synedra rumpens* var. *fragilarioides* Grunow [Geitler, 1952], *S. ulna* (Nitzsch) Ehrenberg [Geitler, 1939]. Раздельнополость части из них уже доказана [Рощин, 1994б; Davidovich, Bates, 1998a, b].

По той же причине подвижности/неподвижности гамет однополое внутриклоновое воспроизведение потенциально возможно и в случае анизогамии типа **IIВ**. Такой тип анизогамии отмечен, например, у *Cocconeis pellucida* Grunow [Mizuno, 1998], *C. placentula* var. *pseudolineata* Geitler [Mizuno, Okuda, 1985; Mizuno, 1998], *C. scutellum* var. *ornata* Grun. [Mizuno, Okuda, 1985], *Sellaphora pupula* (Kützing) Mereschkovsky [Mann, 1984]. Заметим, однако, что длительное скрупулезное наблюдение не выявило случаев успешного внутриклонового воспроизведения у *S. pupula* [Mann et al., 1999].

Итак, в отличие от мужских, стационарные женские гаметы *N. longissima*, по-видимому, не в состоянии обеспечить процесс гомоталличного воспроизведения. Принимая во внимание принцип подвижности/неподвижности гамет, можно ожидать, что у тех двудомных видов, у которых гаметы как мужского, так и женского гаметангиев одинаково подвижны (**IB** и **IC** типы по Гайтлеру), либо подвижна только одна из гамет в гаметангии (тип **IA1**, физиологическая *транс*-анизогамия), внутриклоновое воспроизведение будет наблюдаться в обоих скрещивающихся клонах. Схема скрещивания, описанная для двудомной [Рощин, 1994б] и *транс*-анизогамной [Chernov, Mann, 1997] *N. lanceolata* подтверждает это предположение. Было установлено, что у этого вида клоны обоих полов способны к нечастому внутриклоновому воспроизведению [Рощин, 1994б].

Особо стоит вопрос о скрещиваемости между собой мужских клонов. У *N. longissima* гаметогенез и аукоспорообразование отмечались иногда в смешанных посевах мужских клонов, как правило, тех, которые охотнее всего воспроизводились внутриклоновым путем. Частота встречаемости аукоспор в смесях была невысокой, приблизительно такой же, как при внутриклоновом воспроизведении. Появление гамет/аукоспор в смесях мужских клонов мы объясняли внутриклоновым воспроизведением отдельных клонов в смеси, хотя на самом деле, не исключается способность последних к межклоновому скрещиванию, и это предстоит еще уточнить.

Очень сложная система скрещивания была описана у *Achnanthes longipes* C.Agardh [Chernov, Roschin, 1995; Chernov, Mann, 1997, 1999, 2000]. Обнаружены "однодомные", "бисексуальные" и "однополые" клоны. Однодомные клоны охотно скрещивались с другими однодомными, бисексуальными и однополыми. Бисексуальные клоны скрещивались со всеми другими и между собой и отличались от однодомных только

частотой внутриклонового аукоспоробразования. Здесь уместно напомнить, что не у всех мужских клонов *N. longissima* было обнаружено внутриклоновое воспроизведение. Из 35 изученных только 17, т.е. половина клонов проявили такую способность, причем в разной степени. Мы, тем не менее, избегаем употребления термина "однодомность" в отношении *N. longissima*. Судя по схеме наследования пола, мужские клоны — это клоны, несущие в генетическом наборе **F** и **M** половые факторы. В отличие от них, в женских клонах представлены только **F** факторы. В то же время, морфология и поведение гамет в клонах, способных к внутриклоновому воспроизведению, типично мужские.

8.3 Эволюция пола

Согласно недавней оценке [Medlin, 2016], основанной на "молекулярных часах", первые диатомовые — радиальные центрические — появились на рубеже около 250 млн. лет тому назад; дальнейшая эволюция привела к возникновению полярных центрических (231–181 млн. лет), от которых, судя по всему, произошли бесшовные пеннатные, сначала выделилась линия базальных бесшовных (basal araphids, 181–144 млн. лет), а затем на рубеже 175–135 млн. лет разошлись ветви основных бесшовных (core araphids) и шовных пеннатных. По последним данным [Nakov *et al.*, 2018] радиальные центрические, бесшовные пеннатные и шовные пеннатные появились соответственно 200, 150 и 133 млн. лет тому назад. Помимо эволюции формы, симметрии и структурных элементов панциря, происходила эволюция формы и строения аукоспор, прежде всего их оболочек. Если радиальные центрические имели в оболочках аукоспор лишь кремнеземные чешуйки, то у полярных центрических появилась структура проперизониума, которая у пеннатных превратилась затем в перизониум [Kaczmarek *et al.*, 2001; Medlin, Kaczmarek, 2004]. Однако, пожалуй, главнейшими из произошедших изменений были: (а) изменение типа полового процесса, (б) характера детерминации пола, (в) системы скрещивания. Эволюция типов полового процесса у диатомовых не совпадает с общим для большинства организмов трендом. Подавляющее большинство существующих видов растений и животных, у которых отмечено половое воспроизведение, образуют анизогаметы двух разных размеров и типов спаривания [Matsuda, Abrams, 1999]. Анизогамия характерна и для многих грибов, хотя скрещивающихся типов может быть при этом от двух до нескольких тысяч [Lopez-Villavicencio, 2011]. Эволюция анизогамии является одной из наиболее фундаментальных проблем эволюционной биологии, поскольку: (а) анизогамия

лежит в основе полового отбора и (б) анизогамия несет с собой двойную стоимость секса [Togashi *et al.*, 2012; Veukeboom, Perrin, 2014].

У диатомовых мы наблюдаем "обратную" эволюцию типов полового процесса: от оогамии у радиальных центрических через анизогамию — относительную по размерам, например, у *Rhabdonema* Kützing, или поведенческую, у представителей бесшовных из родов *Tabularia* (Kützing) D.M.Williams & Round, *Ulnaria* (Nitzsch) Compère — к полной изогамии, отмеченной у многих шовных пеннатных, например, у представителей рода *Haslea* Simonsen. При этом, однако, можно вспомнить морфологическую и поведенческую анизогамию у шовных пеннатных *Nitzschia longissima*, *N. rectilonga*, *N. ventricosa*, или только поведенческую у *Pseudo-nitzschia* H.Peragallo.

Следует заметить, что диатомовые в отношении эволюции типов полового процесса не являются абсолютным исключением. Их ближайшие родственники из царства *Stramenopiles* — бурые водоросли представляют собой такую же уникальную группу для изучения эволюции полов, особенно в отношении эволюции полового диморфизма размеров гамет, поскольку эта группа демонстрирует высокий уровень изменчивости этого признака, начиная от изогамных, через анизогамные, к оогамным типам. Анизогамия несколько раз эволюционировала у бурых водорослей, и что удивительно, оогамия является предковым состоянием в этой группе [Mignerot, 2016]. Как и в случае с диатомовыми, это открывает интригующую возможность исследования того, как оогамия может эволюционировать в сторону изогамии, несмотря на то, что переходы от оогамии к изогамии трудно объяснить с теоретической точки зрения [Bell, 1978; Togashi *et al.*, 2012].

У диатомовых эволюция типов полового процесса тесно связана с характером детерминации пола и системой скрещивания. Так, если у центрических оогамия сочетается с гомоталлизмом, а проявление пола регулируется эпигенетически, то у пеннатных диатомовых пол, заданный генетически не изменяется у клона на протяжении всей жизненной истории, и у большинства пеннатных гетероталлизм является преобладающим в системе скрещивания [Рощин, 1994; Cherpurnov *et al.*, 2004].

Молекулярный механизм контроля размера гамет и его связь с определением пола остаются пока неясными. На представителях отдела Chlorophyta недавно были получены многообещающие данные [Umen, 2011; Geng *et al.*, 2014], говорящие о связи между генетическим локусом типа спаривания (*mt*) и геном, контролирующим размер гамет у *Chlamydomonas reinhardtii* P.A.Dangeard и его родственника *Volvox carteri* F.Stein, эволюционные пути которых разошлись 200 млн. лет назад. Было высказано предположение, что локус *mt* у родственного оогамного вида подвергся значительному

расширению, коррелированному с эволюцией полового диморфизма размера гамет. При этом важно отметить, что у этого вида один единственный мастер-ген запускает цепочку событий, ведущую к формированию пола.

Недавно нами [Davidovich *et al.*, 2016; Davidovich *et al.*, 2017] была установлена неогамная форма полового воспроизведения у *Ardissonea crystallina* (рисунок 8.2, см.

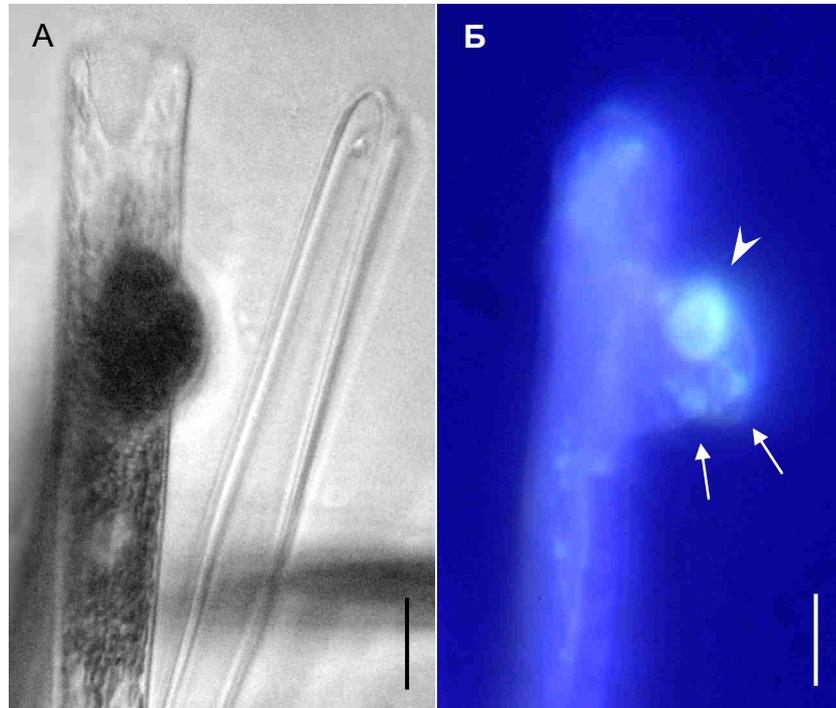


Рисунок 8.2 — *Ardissonea crystallina*, момент слияния гамет. **А** – безжгутиковая мужская гамета перемещается амебоидно по поверхности женского гаметангия к месту сингамии. **Б** – мужская гамета имеет три ядра, одно функциональное (короткая стрелка) и два дегенерирующих (стрелки). СМ, флуоресцентная микроскопия, окрашивание DAPI. Масштаб 20 мкм

также раздел "Половой процесс у диатомовых"), которая согласно молекулярным данным принадлежит к полярным центрическим [Medlin *et al.*, 2008b; Theriot *et al.*, 2010]. *Ardissonea* и ближайшие рода (*Toxarium* J.W.Bailey, *Climacosphenia* Ehrenberg), которые, возможно, также обладают неогамным типом полового процесса, в филогенетическом дереве находятся в окружении полярных центрических, демонстрирующих типичную оогамия, например, *Hydrosera triquetra* Wallich [Idei *et al.*, 2015]. При этом эволюционная дистанция Токсариидс и окружающих их полярных центрических (рисунок 8.3) гораздо меньше в сравнении с вышеупомянутыми представителями зеленых водорослей, что позволяет рассматривать токсариид, как наиболее предпочтительную группу для

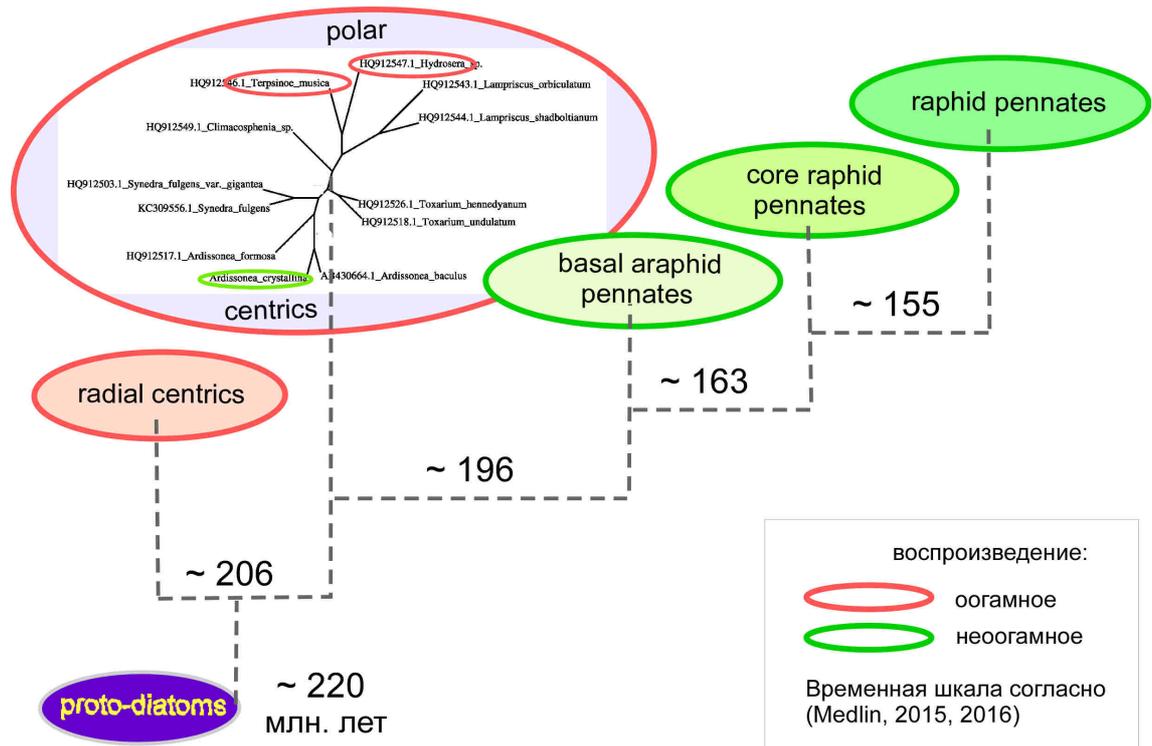


Рисунок 8.3 — Эволюционные отношения и типы полового воспроизведения современных диатомовых

исследования генетических изменений, благодаря которым произошла утрата жгутиковых сперматозоидов и появление размерной изогамии, а вместе с этим изменение способа детерминации пола (от эпигенетического к генетическому контролю), и переход от гомоталлизма к гетероталлизму.

Тренд эволюции от оогамии к изогамии дискуссионен со многих точек зрения. Утрата подвижных жгутиковых форм должна быть компенсирована другими механизмами доставки гамет к месту сингамии, особенно у малоподвижных или вообще неподвижных полярных центрических и бесшовных пеннатных. Долгое время этот вопрос, несмотря на свою принципиальность, не находил ответа. Открытие нового механизма движения гамет (см. раздел "Движение гамет") у бесшовных пеннатных, а сейчас и у утратившей подвижные сперматозоиды *A. crystallina*, позволяет дать объяснение, отметив при этом универсальность использования такого механизма в эволюционно отстоящих друг от друга группах.

Раздел 9

НАСЛЕДОВАНИЕ, СВЯЗАННОЕ С ПОЛОМ

Один из интереснейших вопросов репродуктивной биологии касается наследования, связанного с полом. У раздельнополых организмов, имеющих выраженные половые хромосомы, это может быть обусловлено, в частности, передачей в поколениях половой хромосомы (отсутствующей у другого пола), которая несет, помимо факторов пола, иные генетические участки, ответственные за проявление определенных признаков. В этом случае только особи, имеющие такую отличающуюся половую хромосому, будут обладать особыми признаками. Однако, известны и другие явления наследования, связанного с полом. Так, установлено, что наследование внеядерной митохондриальной ДНК и митохондрий у большинства многоклеточных организмов, включая человека, происходит по материнской линии [Barr *et al.*, 2005]. Гораздо реже встречаются примеры наследования митохондрий по мужской линии, в частности, у некоторых насекомых [Kondo *et al.*, 1992; Meusel, Moritz, 1993; Fontaine *et al.*, 2007], а среди водорослей у изогамного *Chlamydomonas reinhardtii* P.A.Dangeard (Chlorophyceae), который является моделью наследования митохондриальной ДНК по отцовской линии [Boynnton *et al.*, 1987; Beckers *et al.*, 1991; Aoyama *et al.*, 2006; Nakamura, 2010]. Известны также случаи бипарентального наследования, например, у *Saccharomyces cerevisiae* [Berger, Yaffe, 2000; Nunnari *et al.*, 1997] и *Trypanosoma brucei* [Gibson 2001].

У высших организмов большая часть, если не весь протопласт зиготы, — материнский по происхождению; часть, привнесенная спермием, ничтожно мала, немногим более ядра. Аналогичная ситуация может быть постулирована для центрических диатомовых, у которых в протопласте мельчайшего (в сравнении с яйцеклеткой) жгутикового спермия имеется небольшое количество митохондрий, необходимых для выработки энергии, обеспечивающей его подвижность [Jensen *et al.* 2003]. Однако, у пенициллиных диатомовых, для которых характерна изогамия, вклад протопластов обоих родителей равнозначен, более того, он может быть даже немного смещен в пользу любого из родителей, ввиду размера самих клеток-гаметангиев, участвующих в процессе воспроизведения. Поэтому распределение органелл в потомстве с сохранением полученных только от одного из родителей будет означать наличие определенного механизма, препятствующего их передаче от другого родителя.

До наших исследований [Gastineau *et al.*, 2013] характер наследования митохондрий у диатомовых не был известен. Подобные исследования на диатомовых ранее не проводили,

может быть, потому, что представление об их раздельнополости, или генетической двудомности (касается пеннатных) сформировалось сравнительно недавно. Всего лишь три десятилетия назад все диатомовые считались типично однодомными, а в качестве исключений приводилось два примера [Drebes, 1977]. Сегодня мы можем говорить об однодомности только центрических, а что касается пеннатных, то они большей частью демонстрируют гетероталличный путь воспроизведения [Рошин, 1994; Cherpurnov *et al.*, 2004], и их гетероталлизм, как было показано выше, определен генетической двудомностью.

Для выяснения закономерностей наследования митохондрий у диатомовых водорослей мы выбрали шовную пеннатную диатомею *Haslea ostrearia*, система воспроизведения которой нами досконально изучена [Davidovich *et al.*, 2009]. Показано [Davidovich *et al.*, 2009], что основным путем в системе воспроизведения вида является гетероталличный, а гомоталлизм, хотя и был открыт первым [Neuville, Daste, 1975], отмечается гораздо реже. В нашем распоряжении оказались клоны из двух популяций: условно "французской" и "шведской", т.к. они обитали соответственно на атлантическом побережье Франции и Швеции. По морфотипу популяции практически не различались и соответствовали описанию вида. Изучение молекулярных последовательностей митохондриального гена цитохромоксидазы субъединицы 1 (*cox 1*) показало наличие замещений нуклеотидов в семи позициях, надежно отличающих одну популяцию от другой (рисунок 9.1). Выполнив межклоновое скрещивание и получив потомство в первом поколении, мы установили состав нуклеотидов в этих семи позициях у потомков. Выяснилось, что все потомки наследовали изучаемый митохондриальный ген от родителя только одного пола (рисунок 9.2), причем неважно, из какой популяции происходил клон этого пола [Gastineau *et al.*, 2013]. Наша работа оказалась первой и пока единственной, которая описывает унипарентальный способ наследования митохондрий у раздельнополых диатомовых. К сожалению, у *H. ostrearia* затруднительно установить пол, ответственный за унипарентальную передачу митохондриальной ДНК. По внешним признакам это невозможно сделать даже на этапе гаметогенеза ввиду полной изогамии, характерной для рода *Haslea* (рисунок 9.3). Некоторые клоны *H. ostrearia* проявили способность к внутрикловому воспроизведению, и это дает шанс для изучения пола потомков (см. раздел "Распределение полов и система скрещивания"). Результат, который мы пока имеем, несколько неожиданный (с точки зрения предыдущих представлений об андромиксисе): все потомки, полученные в процессе гомоталличного воспроизведения, оказались одного пола, таким образом, можно допустить (для надежного обоснования

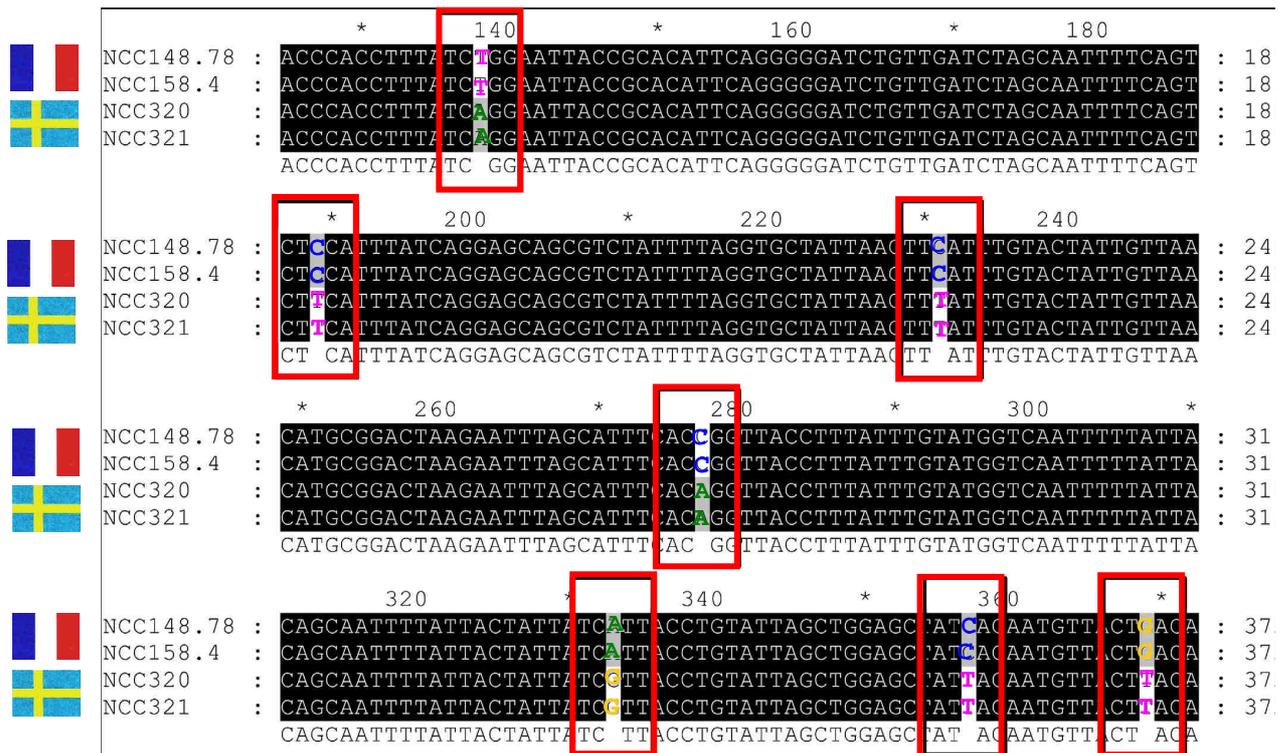


Рисунок 9.1 — Множественное выравнивание фрагментов нуклеотидных последовательностей митохондриального гена *cox1*, полученных для двух клонов (NCC 320 и NCC 321, репродуктивно совместимая пара) шведской популяции и двух клонов (NCC 148.78 и NCC 158.4, репродуктивно совместимая пара) французской популяции *Haslea ostrearia*. Семь позиций, в которых нуклеотиды различаются, обозначены рамками. Указанные различия были характерны для изученных 5 клонов шведской и 11 клонов французской популяций [Gastineau et al., 2013]

требуется большее количество случаев), что пол, который проявил способность к внутриклоновому воспроизведению — гомогаметный (генетически женский). Ранее способность к внутриклоновому воспроизведению мы соотносили с гетерогаметным полом (мужским). Итак, клоны предположительно женского пола, т.е. пола, проявившего в случае с *H. ostrearia* способность к внутриклоновому воспроизведению, ответственны за передачу митохондриальной ДНК.

Более надежные доказательства половой принадлежности клонов, участвующих в унипарентальном наследовании могут быть получены, если в экспериментах будут использованы виды, обладающие морфологической и/или поведенческой гетерогамией. Весьма перспективным в этом отношении представляется изучение наследования

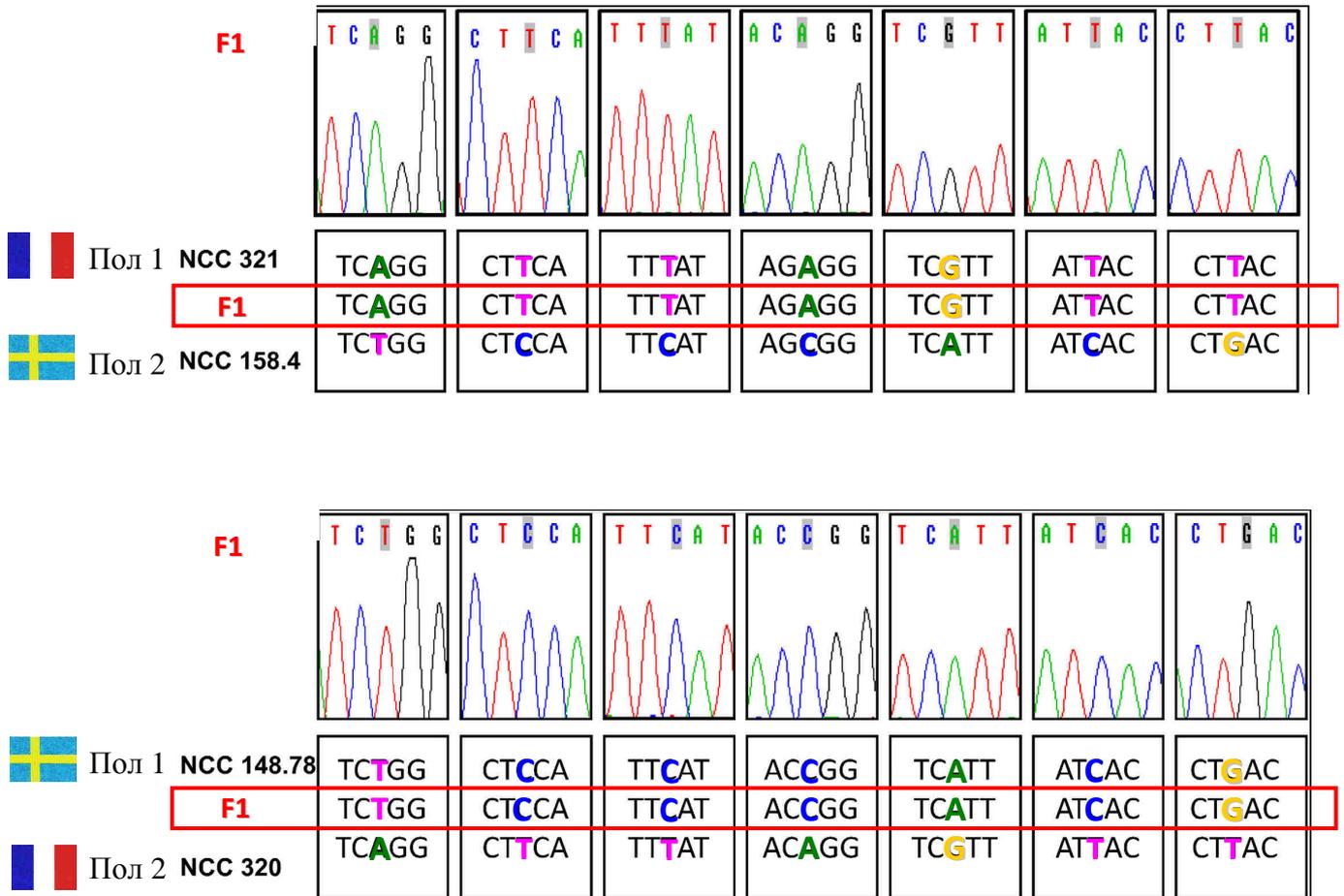


Рисунок 9.2 — Примеры хроматограмм для семи участков, отмеченных на предыдущем рисунке, полученные для фрагментов гена *cox 1* у **F1** гибридного потомства клонов NCC 158.4 и NCC 321 (вверху), а также клонов NCC 148.78 и NCC 320 (внизу). Клоны NCC 321 и NCC 148.78 одного пола, сексуально совместимого с клонами другого пола, NCC 320 и NCC 158.4. Во всех случаях митохондриальный ген *cox 1* наследуется в потомстве от родителей только одного пола, который здесь обозначен как Пол 1 [Gastineau et al., 2013]

митохондрий у *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga*. У этих близкородственных видов явно выражена морфологическая и поведенческая гетерогамия, что позволяет идентифицировать пол на морфологической основе [Рошин, 1994б; Давидович, 2002а; Шоренко и др., 2013]. Кроме того, как уже отмечалось [Давидович, 2005а], у этих видов принадлежность клонов к мужскому полу, установленная по морфологии гамет, подтверждается также их генетической гетерогаметностью. Из бесшовных для решения указанной задачи могут быть рекомендованы *Tabularia tabulata*, *T. fasciculata*, *Ulnaria*



Рисунок 9.3 — Гаметы у *Haslea ostrearia* морфологически и поведенчески изогамны, что не позволяет установить пол конкретного клона по внешним признакам

ulna; у которых морфология гамет связана с полом (см. Раздел "Половой процесс у диатомовых").

Считается доказанным, что митохондрии, как и хлоропласты, появились в клетках современных водорослей в результате эндосимбиотического слияния [Melkonian, 1996; Масюк, Костіков, 2002], о чем прозорливо утверждал более 100 лет тому назад известный диатомолог К.С. Мережковский, обосновав теорию симбиогенеза [Mereschkowsky, 1905; Мережковский, 1909]. В отличие от установленного примера наследования митохондрий, хлоропласты у диатомовых наследуются при половом воспроизведении по-разному. У многих центрических диатомовых наследование хлоропластов в поколениях осуществляется по материнской линии [Jensen *et al.* 2003; Round *et al.* 1990]. Это характерно для тех видов, у которых сперматозоиды формируются мерогенным путем и поэтому не несут хлоропластов, последние остаются с большей частью цитоплазмы в остаточном теле [Drebes, 1977]. У оставшейся части центрических и, по-видимому, у всех пеннатных можно предположить бипарентальное наследование хлоропластов [Jensen *et al.* 2003; Round *et al.* 1990], с небольшим уточнением. На примере *Pseudo-nitzschia delicatissima* показано, что при половом воспроизведении хлоропласты не только наследуются от обоих родителей, но и то, что дальнейшее распределение попавших в зиготу пластид между дочерними клетками происходит в случайном порядке, и ввиду

этого наследование может оказаться как би-, так и юнипарентальным [Levaldi Ghiron *et al.*, 2008].

Таким образом, учитывая различный характер наследования, можно утверждать, что митохондриальная ДНК и хлоропластная ДНК несут разный объем информации о природных популяциях и генетических потоках между ними. Хлоропластная ДНК (у центрических ввиду эпигенетического характера определения пола, а у пеннатных ввиду случайного характера наследования) не может служить маркером при переходе от одной популяции к другой. В отличие от хлоропластной ДНК, интродукция в популяцию митохондриальной ДНК невозможна с отцовским организмом, в то время как, материнская митохондриальная ДНК не исчезает в поколениях, будучи перенесенной в иную популяцию (рисунок 9.4). Это заключение открывает великолепную перспективу для исследований в области филогеографии и реконструкции расселения пеннатных диатомовых.

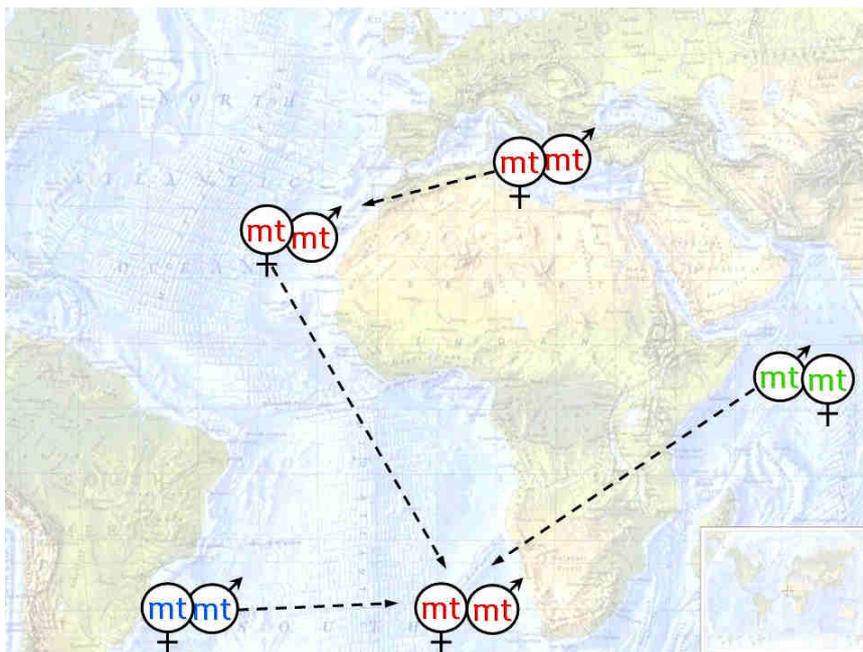


Рисунок 9.4 — Иллюстрация унипарентального переноса (по женской линии) митохондриальных генетических последовательностей. Штриховыми линиями со стрелками показаны пути переноса клеток первопоселенцев (основателей) популяций. Женские и мужские клетки обозначены символами ♀ и ♂ соответственно. Цвет обозначения "mt" свидетельствует о характеристиках генетической последовательности митохондриального гена. Филогенетическое родство будет прослеживаться только между теми популяциями и в тех случаях, когда перенос генов осуществлялся женскими организмами

Раздел 10

РЕПРОДУКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ КАК КРИТЕРИЙ ВИДА У ДИАТОМОВЫХ

Не будет преувеличением сказать, что по-прежнему, как 100 и 200 лет назад, проблемами диатомологии остаются корректная идентификация видов и построение естественной филогенетической системы. В современной литературе, в том числе касающейся диатомовых, можно найти множество концепций вида и соответствующих способов разграничения видов [обсуждается в обзорах de Queiroz, 2007; Alverson, 2008; Silva, 2008; Amato, 2010; Mann, 2010]. Существует мнение, что именно "систематик должен решать, сколько и каких доказательств достаточно, чтобы сделать вывод о том, что две линии разошлись в такой степени, что их следует рассматривать как отдельные виды" [the systematist must decide which and how much evidence is sufficient to conclude that two lineages have diverged to the point that they should be considered separate species", Alverson, 2008, p. 341]. При этом считается, что независимо от применяемой концепции вида, их делимитация всегда будет требовать элемента субъективности [Silva, 2008]. Основная трудность состоит в том, что у диатомовых не так уж много морфологических признаков, позволяющих с уверенностью распознавать виды, и они зачастую настолько слабо выражены, что только эксперт высокого класса в состоянии ими оперировать. Иллюстрацией сказанному могут служить все чаще обнаруживаемые комплексы криптических видов, которые при их детальном изучении распадаются на самостоятельные, вполне "хорошие" виды [Amato *et al.*, 2007; Mann *et al.*, 2008; Quijano-Scheggia *et al.*, 2009; Gastineau *et al.*, 2014b и др.].

Существует несколько подходов, основанных на поиске объективных критериев для разграничения видов, включая:

- качественные морфологические и цитологические признаки;
- количественные, в том числе морфометрические признаки;
- молекулярные данные;
- данные о репродуктивной изоляции.

На последнем параметре остановимся подробнее. Биологическая репродуктивная изоляция — это изоляция, вызванная биологическими причинами, состоящими в неспособности скрещиваться или нежизнеспособности потомства, и она закреплена генетической программой, определяющей такую изоляцию [Майр, 1968, 1974]. Репродуктивная изоляция отображает суть видообразования и служит надежным объективным критерием для разграничения видов. Вид становится очерченным,

самостоятельным с того момента, когда появляется записанная в генетическом наборе биологическая программа, которая обеспечивает репродуктивную изоляцию. С появлением биологической репродуктивной изоляции, в отличие, например, от географической, группы организмов, которые теперь могут называться видами, приобретают свою собственную эволюционную историю, и это расхождение становится необратимым. И наоборот, любое, даже существенное отклонение признаков, включая поведенческие, морфологические, физиологические, вплоть до генетических, не может служить критерием обособленности вида, если нет репродуктивной изоляции. Биологическая концепция вида имеет своих адептов и критиков. Наша задача – выяснить, в какой мере данная концепция применима в отношении диатомовых, каковы имеющиеся ограничения и возможности ее использования.

Ключевым понятием биологической концепции вида является понятие репродуктивной изоляции [Dobzhansky, 1935, 1951; Майр, 1968, 1974]. В упрощенном варианте появление репродуктивной изоляции, обуславливающей эволюционную дивергенцию видов, можно представить следующей схемой (рисунок 10.1). Когда вид

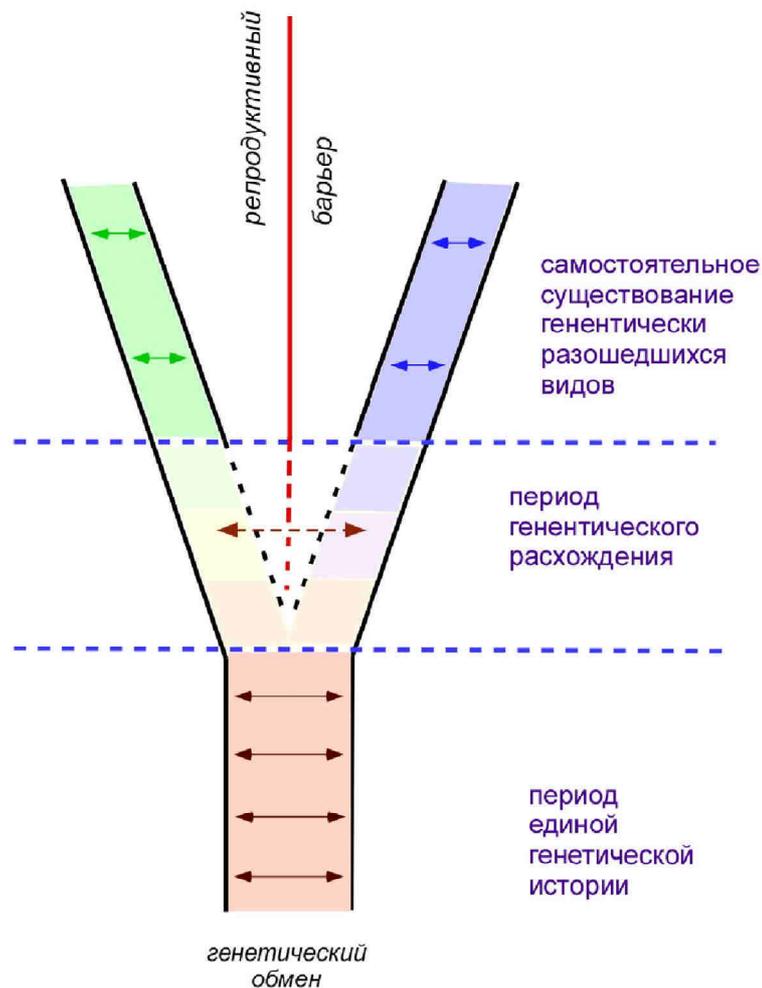


Рисунок 10.1 — Схема эволюционной дивергенции видов

един, между представляющими его организмами и популяциями возможен генетический обмен, который реализуется посредством полового воспроизведения. Единство вида не означает, что генетический обмен реализуется между всеми представляющими его организмами. Принципиально важным является факт способности к такому обмену: до тех пор, пока такая способность сохраняется, вид представляет собой целостную изолированную систему, внутри которой отдельные организмы — открытые подсистемы. Генетическая система вида гораздо шире генетического набора отдельно взятого организма. Популяции также различаются генетическими особенностями. Действие двух факторов — нереализуемость абсолютной панмиксии и стохастически обусловленная генетическая обособленность популяций — постоянно "предлагает" все новые и новые варианты локальных популяционных различий, которые могут стать критически значимыми в плане появления причин, обуславливающих биологическую репродуктивную изоляцию. При возникновении последней локальные популяции более не смогут скрещиваться с другими популяциями и оставлять плодовитое потомство. Генетическое единство вида будет трансформировано, появятся две изолированные генетические системы — два вида. Каждый из них унаследует часть общего генетического пула, эти части будут неравными ни по объему, ни по составу. Появление репродуктивной изоляции может быть более или менее быстрым процессом, зависящим от того, какие механизмы при этом задействованы. Например, изменение пloidности может привести к мгновенному видообразованию. В иных случаях (локальная изоляция) изменения могут накапливаться достаточно медленно, но в итоге привести к появлению свойств, препятствующих скрещиванию с предковыми популяциями. Расхождение видов сопровождается накоплением как внутренних генетических, так и внешних, фенетических (морфологических) различий. Скорость накопления генетических и фенетических различий не находится в прямой связи с процессом и окончательным формированием репродуктивной изоляции. Эти процессы могут протекать с разной скоростью. В итоге, виды могут оказаться уже абсолютно независимыми с биологической точки зрения, но при этом они еще не приобретут достаточного количества как генетических, так и морфологических различий; как следствие, мы сталкиваемся с криптическими видами, видами-двойниками и т.п. Возможно и обратное, когда удаленные популяции приобретают существенные генетические и морфологические различия, заставляющие воспринимать их как самостоятельные виды, но при этом репродуктивной изоляции между ними, на самом деле, не существует. В таком случае, будет правильным с позиций биологической концепции вида трактовать обнаруженные морфотипы и генотипы не как

самостоятельные виды, насколько бы ни были велики различия, а как вариететы, формы и т.п. одного вида. Вышесказанное подчеркивает справедливость замечания о том, что следует избегать описания новых видов на основании одного клона или единственного экземпляра [Паламарь-Мордвинцева, Царенко, 2007].

Здесь мы не будем обсуждать проблемы биологической концепции вида, связанные с аутомиксисом и апомиксисом. Не будем останавливаться на скачкообразной эволюции (полиплоидия), вопросах латерального переноса генов и прочих темах, горячо дискутируемых эволюционистами. Важно прийти к следующему заключению: диатомовые представляют собой ту группу организмов, к которым в большинстве случаев может быть применен критерий репродуктивной совместимости/изоляции.

Следующий пример показывает то, как биологическая концепция вида может быть применена на практике. Давно описана и хорошо известна диатомовая водоросль *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen [Gaillon, 1820]. Она встречается в водоемах, используемых для временного содержания устриц. В процессе питания устрицы накапливают пигмент, синтезируемый водорослью, и приобретают голубовато-зеленый цвет. Занявшись изучением воспроизведения водоросли, мы получили клоны из проб, отобранных на побережье Франции (Бискайский залив, Атлантический океан). Водоросль с характерной сине-зеленой окраской концов клеток встречалась нам также в Черном море. Как и большинство других исследователей [см., например, Мережковский, 1903], на момент начала работ мы не могли предположить иного названия для столь необычно окрашенной водоросли, кроме *H. ostrearia*. Однако, выделив некоторое количество клонов из черноморской популяции в районе Карадага и проведя эксперименты по скрещиванию, мы обнаружили [Davidovich *et al.*, 2012a], что черноморские и атлантические клоны скрещиваются внутри своих популяций, но при этом не было отмечено ни одного успешного межпопуляционного скрещивания (таблица 10.1). Логичное объяснение этому состояло в том, что мы имеем дело с двумя самостоятельными видами. Позднее вид из Черного моря был описан как *Haslea karadagensis* Davidovich, Gastineau et Mouget, sp. nov. [Gastineau *et al.*, 2012]. Морфология и структура створок панциря вновь описанного и уже известного видов не сильно различались, генетические различия оказались более заметными [Gastineau *et al.*, 2016], как и существенные различия в структуре пигментов

Таблица 10.1 — Результаты скрещивания клонов *Haslea karadagensis* и *H.ostrearia*

Наименование клона		<i>Haslea ostrearia</i>							<i>Haslea karadagensis</i>							Локализация											
		I7	Sauv3	S133	H3	HSV13	I2	I5	I6	8.0407-S	8.0417-A	9.0522-I	9.0526-D	9.0602-B	0.0511-C		0.0511-H	8.0408-B	8.0424-A	8.0424-C	8.0424-G	8.0825-M	9.0522-A	0.0511-A			
<i>Haslea ostrearia</i>	I7 (=NCC158.4)*	■								0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Атлантический океан, Франция	
	Sauv3 (=NCC234.1)	0	■							0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	.	.	Атлантический океан, Франция	
	S133 (=NCC148.73)	0	0	■						0	0	0	0	0	0	0	0	Атлантический океан, Франция
	H3 (=NCC157.3)	+	+	+	■					0	0	0	0	0	.	.	0	0	0	0	0	0	0	0	.	.	Атлантический океан, Франция
	HSV13 (=NCC321)	+	.	.	.	■				0	0	0	.	Атлантический океан, Швеция
	I2 (=NCC158.1)	+	+	+	0	.	■			0	0	0	0	0	0	0	0	Атлантический океан, Франция
	I5 (=NCC158.2)	+	+	+	0	.	0	■		0	0	0	0	0	0	0	0	Атлантический океан, Франция
	I6 (=NCC158.3)	+	+	+	0	.	0	0	■	0	0	0	0	0	0	0	0	Атлантический океан, Франция
<i>Haslea karadagensis</i>	8.0407-S	■																								Черное море, Карадаг	
	8.0417-A	0	■																							Черное море, Карадаг	
	9.0522-I	.	.	■																						Черное море, Карадаг	
	9.0526-D	.	.	0	■																					Черное море, Карадаг	
	9.0602-B	.	.	0	0	■																				Черное море, Карадаг	
	0.0511-C	■																			Черное море, Карадаг	
	0.0511-H	0	■																	Черное море, Карадаг	
	8.0408-B	+	+	■																	Черное море, Карадаг
	8.0424-A	+	+	0	■																Черное море, Карадаг
	8.0424-C	+	+	0	0	■															Черное море, Карадаг
	8.0424-G	+	+	0	0	0	■														Черное море, Карадаг
	8.0825-M	+	+	0	0	0	0	■													Черное море, Карадаг
9.0522-A	.	.	+	+	+	Черное море, Карадаг	
0.0511-A	+	+	Черное море, Карадаг	

Примечание. Половое воспроизведение было обнаружено (+) или отсутствовало (0) в смесях клонов; . – опыт по скрещиванию не проводился; = - соответствующие наименования клонов, депонированных в коллекции культур в г. Нант, Франция. Пунктирной линией обозначены поля скрещивания репродуктивно совместимых клонов

[Gastineau *et al.*, 2014c]. Подчеркнем, что первым фактом, заставившим нас усомниться в конспецифичности черноморской и атлантической популяций, явился факт обнаружения репродуктивной изоляции между ними.

В настоящее время к двум видам с характерно окрашенными в синий цвет концами клеток добавился еще один недавно описанный вид, *Haslea provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget, sp. nov., также репродуктивно изолированный от ранее известных видов [Gastineau *et al.*, 2016].

Аналогичное распределение клонов по способности скрещиваться было обнаружено у представителей группы видов, сходных с *Nitzschia longissima* (Brébisson) Grunow. Когда мы приступили к изучению этой группы, то предполагали существование в Черном море только собственно вида *N. longissima*. В первых опытах по скрещиванию была обнаружена, однако, заметная гетерогенность клонов [Давидович, 2002a]. Дальнейшие исследования привели к пониманию того, что в Черном море симпатрически присутствуют два близкородственных, но репродуктивно изолированных вида, *N. longissima* и *N. rectilonga* Takano [Шоренко и др., 2014a].

Таким образом, использование репродуктивного критерия позволяет выявить межвидовые границы, в том числе между симпатрическими видами, даже если их различие на морфологическом уровне не столь очевидно. Это особенно важно для делимитации так называемых криптических видов, видов-двойников. Применение репродуктивного критерия также актуально в случае сильно варьируемых видов, когда необходимо принять решение, касающееся того, что представляет собой конкретная морфологическая вариация: вариант (форму) внутри вида или самостоятельный вид.

Хорошей иллюстрацией применения репродуктивного критерия для оценки конспецифичности морфотипов могут служить результаты изучения бесшовной пеннатной диатомовой *Tabularia fasciculata* [Kaczmarska *et al.*, 2009; Davidovich *et al.*, 2010]. В пробах, взятых с побережья мыса Торментайн, залив Святого Лаврентия (Cape Tormentine, Gulf of St. Lawrence, Канада) на поверхности таллома *Porphyra umbilicalis* (Linnaeus) J. Agardh мы обнаружили популяцию *T. fasciculata*, 66 клонов которой были введены в культуру. Вид считается полиморфным и встречается повсеместно [Snoeijs, 1992]. Клетки, собранные с нескольких квадратных сантиметров, заметно отличались друг от друга по морфологии панцирей, в частности по очертанию створок и плотности расположения штрихов (рисунок 10.2). В целом можно было выделить два хорошо различающихся морфотипа (рисунок 10.3). Клетки одного морфотипа, обозначенного условно как **n**-морфотип, были узкими (обычно менее 5,5 мкм шириной) и линейными по своим очертаниям при

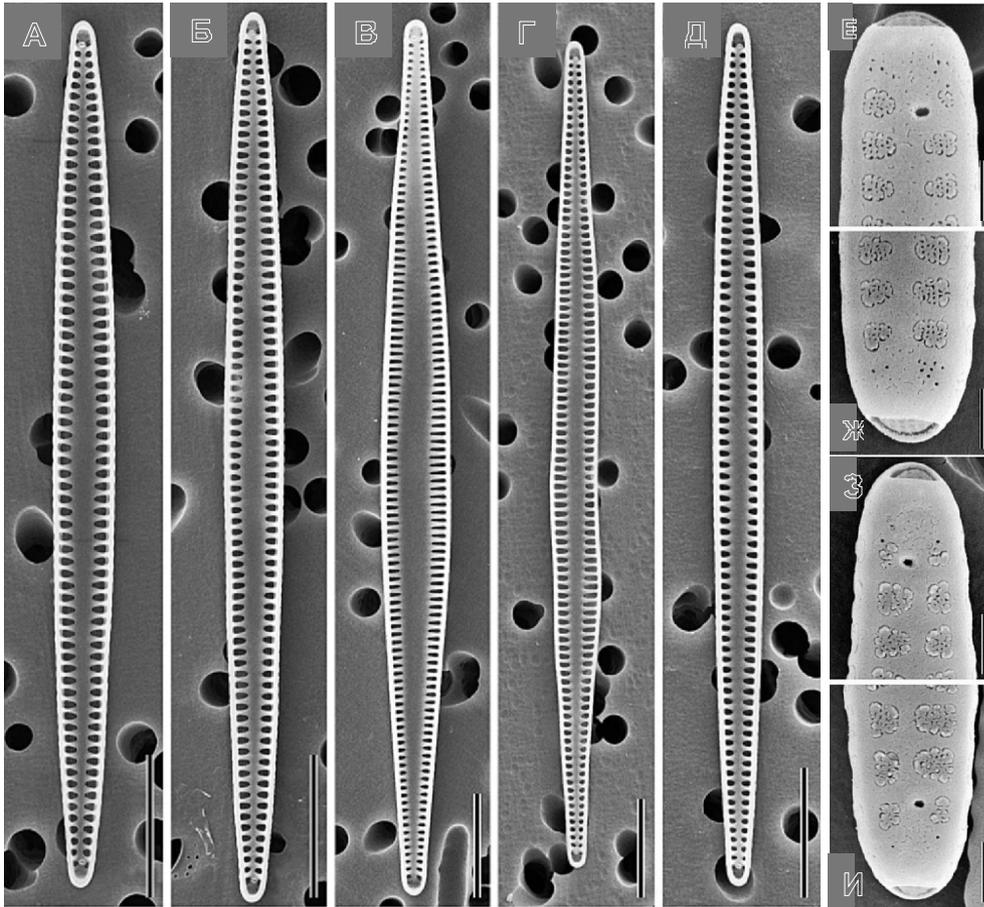


Рисунок 10.2 — Фотографии клеток *Tabularia fasciculata* из разных клонов, полученные при помощи СЭМ [по Kaczmarska et al., 2009]. Створки клеток (А-Д) варьибельны по очертаниям и плотности расположения штрихов. Апикальные концы клеток (Е-И).

Масштаб 10 мкм

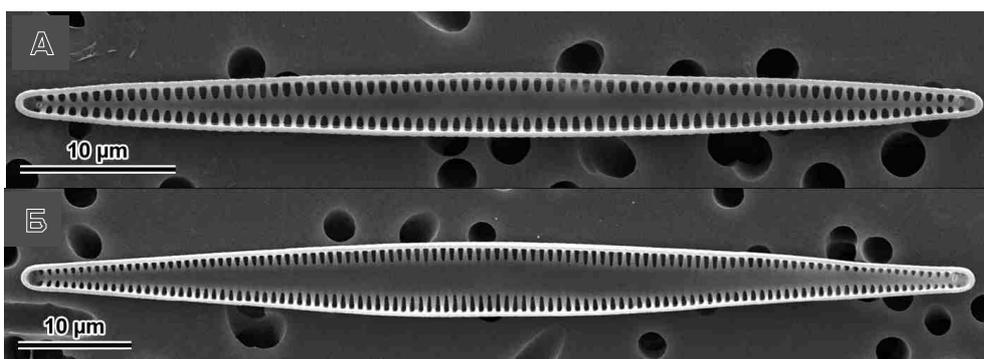


Рисунок 10.3 — Два морфотипа в симпатрической популяции *Tabularia fasciculata* с побережья мыса Торментайн, залив Святого Лаврентия, Канада. СЭМ. (А) **n**-морфотип, для которого характерны узкие линейные по очертанию клетки, с относительно грубыми штрихами и большей частью двумя двугубыми выростами. (Б) **w**-морфотип, створки ланцетные, с нежными штрихами и варьирующим количеством двугубых выростов.

Масштаб 10 мкм

рассмотрении со створки, клетки второго морфотипа (**w**-морфотип) были относительно более широкими и ланцетными. Различались эти два морфотипа и по количеству двугубых выростов: большинство клеток **n**-морфотипа имели два выроста, что у **w**-морфотипа различалось не только между клонами, но и в пределах одного клона. В пределах **w**-морфотипа наблюдались клоны, у которых большинство клеток были с одним выростом, встречались также клоны, у которых клетки имели от нуля до двух выростов. Штрихи у клеток **w**-морфотипа более нежные по сравнению с клетками **n**-морфотипа.

Был выполнен анализ генетических последовательностей (5.8S ген рибосомальной ДНК и ITS2 регион ядерно-кодируемой рибосомальной ДНК), что позволило установить филогенетические отношения между изученными клонами (рисунок 10.4). Дендрограмма показала наличие двух хорошо разделенных ветвей, благодаря чему условно был выделен генотип **A**, соответствующий **n**-морфотипу, и генотип **B**, соответствующий **w**-морфотипу. На плоскости в координатах "ширина клетки" — "плотность штрихов" клоны образуют два хорошо разграниченных кластера (рисунок 10.5). Один соответствует генотипу **A** и **n**-морфотипу преимущественно с двумя двугубыми выростами, а второй — генотипу **B** и **w**-морфотипу с одним или варьирующим числом выростов. Таким образом, прослеживается четкая связь между фенотипом и генотипом.

В отсутствие иных данных, обнаруженные морфологические и генетические различия, могли бы послужить достаточным основанием для разграничения двух морфотипов (фенодимов) на уровне самостоятельных видов. В литературе можно встретить немало примеров, когда новые виды описываются при гораздо меньших на то основаниях. Однако, "критерием истины" в нашем случае будет служить репродуктивная совместимость/несовместимость клонов. В системе скрещивания *Tabularia fasciculata*, как уже выше было сказано выше, преобладает гетероталлический путь воспроизведения, что позволяет в принципе использовать репродуктивный критерий. В результате попарного скрещивания мы установили репродуктивную совместимость клонов *T. fasciculata* (скрещивание с контрольной парой проверено для всех клонов) в сочетаниях, соответствующих полу и независимо от морфотипа (таблица 10.2). Заметим, что клоны, выделенные с побережья Крымского полуострова, охотно скрещивались с западно-атлантическими клонами, в том числе при осуществлении возвратных скрещиваний, когда проверялась способность клонов, полученных от скрещивания в первом поколении (**F1**), скрещиваться с родительскими клонами и другими клонами **F1**. Эта оговорка важна, поскольку, проверяя репродуктивную совместимость/изолированность, надо помнить о возможности межвидовой гибридизации, по крайней мере, в первом поколении [Amato,

Orsini, 2015]. Как показано в предыдущем разделе, несмотря на отсутствие презиготической репродуктивной изоляции, межвидовая стерильность реализуется в последующих поколениях. Следует отметить, что попытки скрестить с *T. fasciculata* клоны близкородственных видов, *T. affinis* и *T. tabulata*, оказались несостоятельными. При этом черноморские клоны *T. fasciculata* и *T. affinis* были получены из одной пробы (абсолютная симпатрия, пространственная и временная).

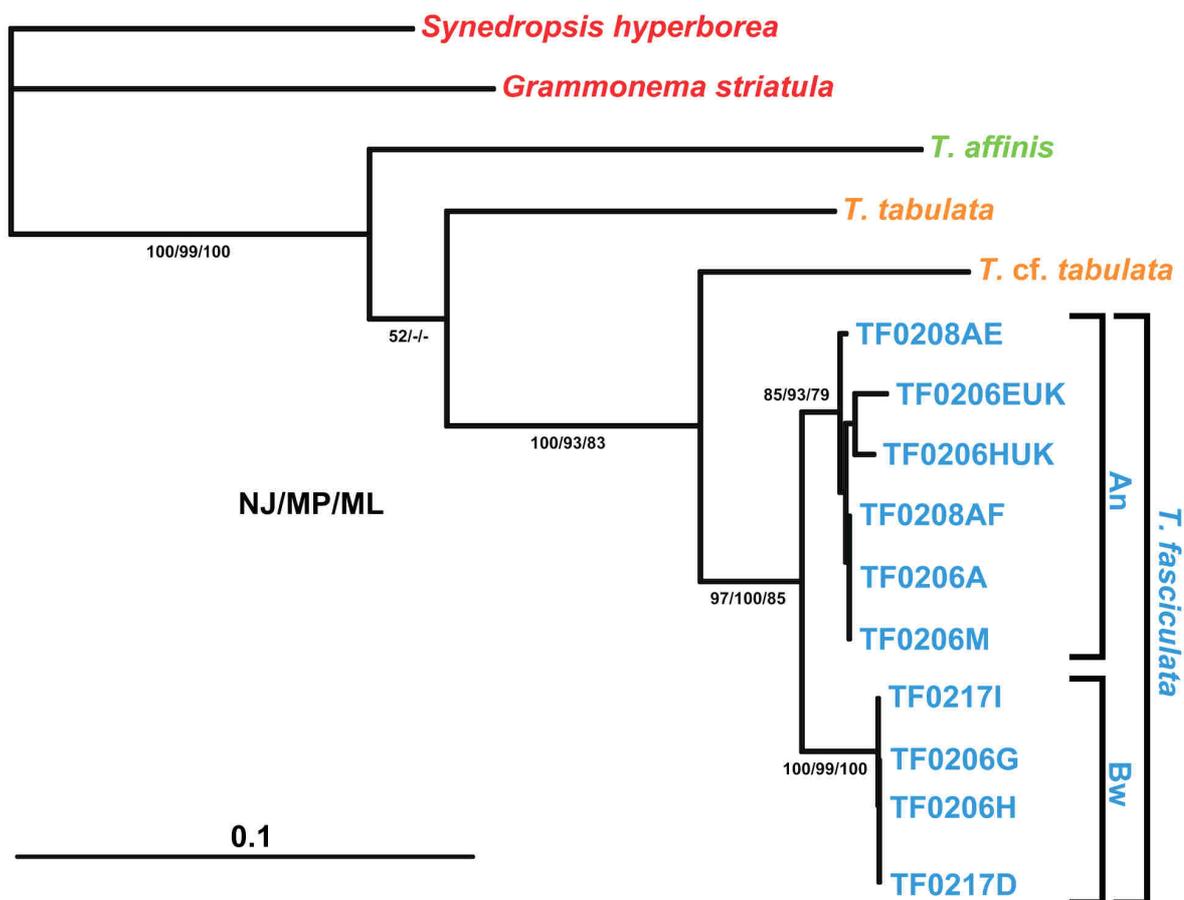


Рисунок 10.4 — Дендрограмма, построенная по "методу объединения соседей" (Neighbor-joining method), для изученных клонов *Tabularia fasciculata* с атлантического побережья Канады (мыс Торментайн), крымского побережья (Карадаг, наименования клонов оканчиваются на -УК) и близкородственных видов из рода *Tabularia*. Для анализа использованы последовательности 5.8S гена рибосомальной ДНК и ITS2 региона ядерно-кодируемой рибосомальной ДНК. *Synedropsis hyperborea* и *Grammonema striatula* выбраны в качестве внешней группы. **An** – генотип **A**, **n**-морфотип, **Bw** – генотип **B**, **w**-морфотип [Kaczmarska *et al.*, 2009]

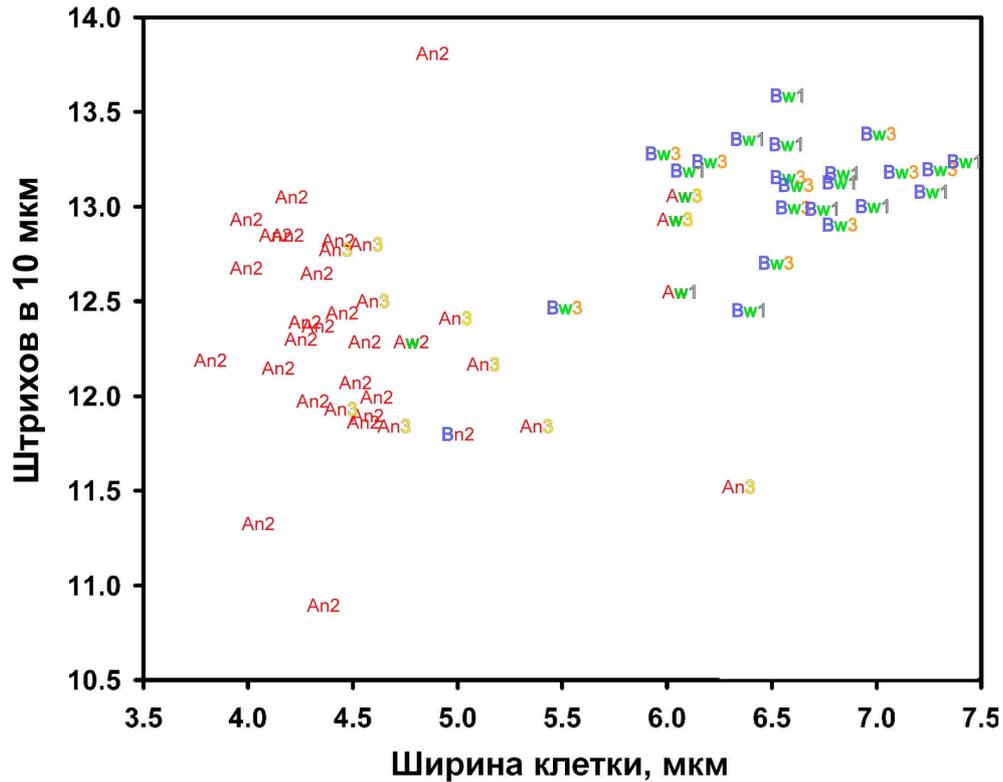


Рисунок 10.5 — Расположение клонов *Tabularia fasciculata* на плоскости в координатах "ширина клетки" – "плотность штрихов". Буквы соответствуют генотипам **A** и **B**, морфотипам **n** и **w**; цифры соответствуют количеству двугубых выростов на клетку - **1**, **2** или варибельное число (**3**) [Kaczmarzka *et al.*, 2009]

В итоге можно констатировать, что существенные морфологические и генетические различия между двумя морфотипами есть ни что иное как внутривидовое варьирование. С точки зрения биологической концепции нет никаких причин разделять эти морфотипы на два самостоятельных вида. Подобные случаи гибридизации были описаны для вида *Eunotia bilunaris sensu lato* [Vanormelingen *et al.*, 2008], шестнадцать симпатрических клонов которого, морфологически и генетически отличающиеся друг от друга, оказались репродуктивно совместимыми в первом и втором поколениях, хотя при этом частота воспроизведения внутри групп, соответствующих определенным морфотипам, была на один-два порядка меньшей. В случае с *E. bilunaris* степень эволюционного расхождения отдельных демов оказалась, таким образом, большей, чем у *T. fasciculata*.

Еще один убедительный пример, доказывающий необходимость использования данных о репродуктивной совместимости при установлении видовых границ у

Nitzschia состоят в том, что они несут множественные хлоропласты и тип их полового процесса цис-анизогамия. *Nitzschia sensu stricto* имеет два хлоропласта и демонстрирует транс-анизогамный тип полового процесса с характерными чертами — образованием специализированных копуляционных каналов. Мы выделили несколько клонов *N. longissima/rectilonga* из разных популяций, включая Черноморскую (Карадаг, Крым), Средиземноморскую (Болоурис, Франция) и Атлантическую (Ля Рошель, Франция). По морфологии уверенно различались *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga*. Напротив, клоны *N. rectilonga* из разных популяций практически не различались между собой по форме и структуре панциря клеток. Анализ нуклеотидных последовательностей гена *rbcL* позволил получить дендрограмму (рисунок 10.6, исходные сиквенсы любезно предоставил Dr. Toyoda), на которой изученные клоны распределились по четырем веткам. Различия между *N. longissima* и *N. rectilonga* кажутся очевидными. Можно допустить расхождение на видовом уровне клонов из Атлантики, сравнивая их с клонами из Черного и

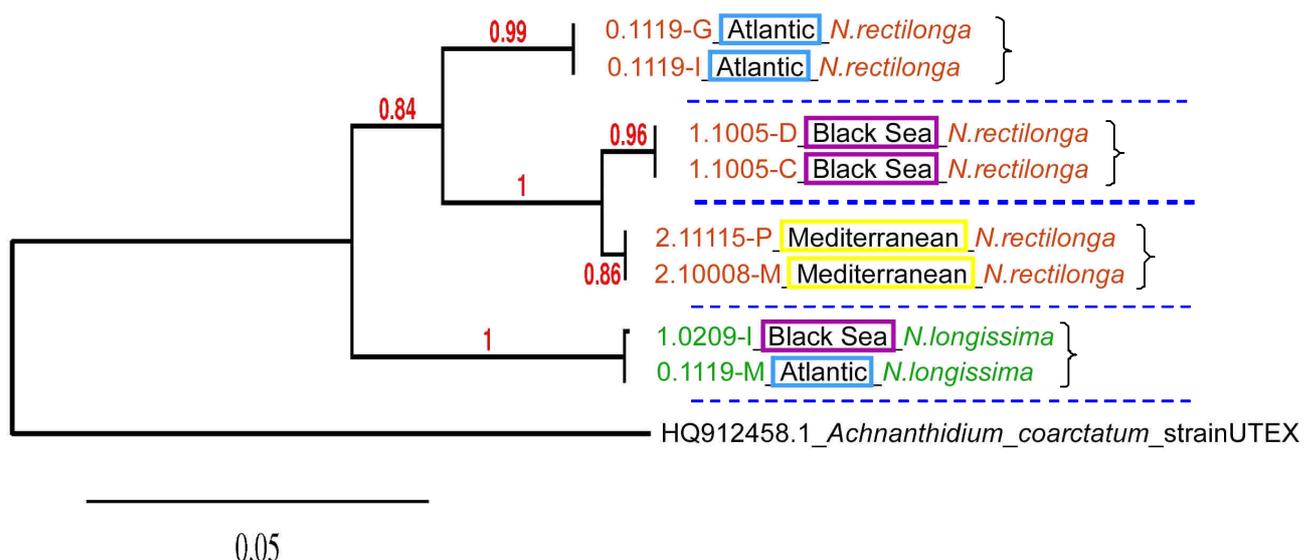


Рисунок 10.6 — Дендрограмма, полученная для клонов *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* из разных популяций (Черное море, Карадаг; Средиземное море, Болоурис; Атлантический океан, Ля Рошель), по результатам анализа гена *rbcL*, выполненного по методу максимального правдоподобия (Maximum likelihood method). В качестве внешней группы выбран *Achnanthisdium coarctatum*, генетическая последовательность получена из базы данных BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Достоверность внутренней ветви оценена посредством бутстрепинга при 100 повторях. Анализ выполнен на платформе Phylogeny.fr (<http://www.phylogeny.fr/>). Фигурные скобки объединяют репродуктивно совместимые клоны. Пунктирные линии означают репродуктивную изоляцию

Средиземного морей. В свою очередь, уверенно заявить о том, что клоны из Черного и Средиземного морей относятся к разным видам, не представляется возможным, судя по топологии и длине ветвей рассматриваемой дендрограммы. В этом случае для принятия решения о делимитации видов необходимы дополнительные доказательства. В свете дивергенции и последующей самостоятельности генетической истории отдельных видов, как главного принципа эволюции, критерий репродуктивной совместимости наилучшим образом подходит для этого. Выполнив эксперименты по скрещиванию, мы нашли, что клоны *N. longissima* из Черного моря репродуктивно совместимы не только между собой, но и с клонами из Атлантики (на схеме в качестве иллюстрации представлена только одна пара клонов). В каждой из популяций *N. rectilonga* клоны участвовали в воспроизведении соответственно их половому типу. Однако, в отличие от *N. longissima*, все изученные популяции *N. rectilonga* оказались репродуктивно изолированными, что дает основания для признания их самостоятельными видами.

Нам не единожды приходилось сталкиваться с ситуацией, когда клоны, выделенные из природной популяции и воспринимавшимися нами вначале как один вид (судя по морфологии панцирей), в ходе исследований оказывались репродуктивно несовместимыми. Дальнейшие исследования приводили к заключению о существовании в пробах близкородственных криптических видов или даже видов ранее не описанных, новых для науки (таблица 10.3). В то же время можно привести примеры, когда популяции, удаленные друг от друга на значительное расстояние, оказываются репродуктивно совместимыми, тем самым подтверждается их конспецифичность (таблица 10.4).

Таблица 10.3 — Делимитация видов вследствие обнаружения репродуктивной изоляции

Первоначальное представление о видовой принадлежности	Разделение видов по результатам экспериментов по скрещиванию	Локализация популяции
<i>Haslea ostrearia</i> (Bory) Simonsen	1) <i>Haslea ostrearia</i> (Bory) Simonsen	Бискайский залив, Атлантический океан
	2) <i>Haslea karadagensis</i> * Davidovich, Gastineau et Mouget	Черное море
	3) <i>Haslea provincialis</i> * Gastineau, Hansen et Mouget	Средиземное море
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow	1) <i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow	Черное море
	2) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Черное море
<i>Nitzschia rectilonga</i> Takano	1) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Бискайский залив, Атлантический океан
	2) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Красное море
	3) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Средиземное море
	4) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Черное море
<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (Hasle) Hasle	1) <i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (Hasle) Hasle	Коллекция ССМР
	2) <i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> * Lundholm, Moestrup et Hasle	Черное море
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams and Round	1) <i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams et Round	Черное море
	2) <i>Tabularia affinis</i> (Kützing) Snoeijs	Черное море

Примечание. * – вновь описанные виды

Таблица 10.4 — Примеры репродуктивной совместимости популяций, удаленных друг от друга на значительное расстояние

Вид	Локализация популяций	Расстояние между популяциями*, тыс. км
<i>Haslea ostrearia</i> (Bory Simonsen)	1) западное побережье Франции, Атлантический океан	(1) – (2) = 1,5
	2) западное побережье Швеции, Северное море, Атлантический океан	(1) – (3) = 5,5
	3) восточное побережье США, Атлантический океан	(1) – (4) = 13,9
	4) западное побережье Австралии, Индийский океан	
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow	1) западное побережье Франции, Атлантический океан	(1) – (2) = 2,8
	2) п-ов Крым, Черное море	
<i>Nitzschia ventricosa</i> Kitton	1) о. Мартиника, Карибское море, Атлантический океан	(1) – (2) = 4,0
	2) юго-восточное побережье США, Мексиканский залив, Атлантический океан	(1) – (3) = 4,8
	3) о. Ля Гомера, Канарские о-ва, Атлантический океан	(1) – (4) = 12,4
	4) о. Мадагаскар, Индийский океан	(3) – (4) = 8,4
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams and Round	1) восточное побережье Канады, Атлантический океан	(1) – (2) = 7,2
	2) п-ов Крым, Черное море	

Примечание. * – указано для популяций, репродуктивная совместимость которых была непосредственно подтверждена в экспериментах

Раздел 11

РЕПРОДУКТИВНЫЕ ГРАНИЦЫ И БИОГЕОГРАФИЯ ДИАТОМОВЫХ

Один из главных вопросов биогеографических исследований диатомовых состоит в том, являются ли эти микроорганизмы космополитами, или же им присуща локальность распределения? Как много видов, которых мы называем космополитами, на самом деле представляют собой видоые комплексы? Как установить пространственные границы между близкородственными видами? Может ли видообразование быть не только аллопатрическим, но и симпатрическим? Для ответа на эти и другие вопросы, безусловно, имеет смысл привлечь понятия и методы репродуктивной биологии диатомовых. Обосновывая целесообразность использования знаний, полученных в области репродуктивной биологии, для изучения расселения видов, можно привести достижения филогеографии в отношении других групп организмов, поскольку для диатомовых такие примеры отсутствуют. Филогеография как направление исследований стала развиваться взрывными темпами после внедрения в практику молекулярных методов анализа. Построение филогенетических кладограмм в совокупности с географическими паттернами распределения популяций позволило воссоздать картину расселения и распространения многих видов животных, растений, грибов. Пожалуй, самый яркий пример — это анализ наследования митохондриальной ДНК, изучение ее гаплотипов и Y-хромосом человека, который показал локализацию прото-популяции и пути расселения *Homo sapiens* по планете (см., например, Richards *et al.*, 1988, Dolukhanov, 2008). Полученные выводы были подтверждены находками на территории Эфиопии ископаемых останков Человека Идалту (*Homo sapiens idaltu*) — подвида, обладавшего рядом архаичных краниологических признаков, который, как предполагается, мог быть непосредственным предком современного подвида *Homo sapiens sapiens* [White *et al.*, 2003]. Следует заметить, что диатомовые подобным образом не исследовались. Принципиальным препятствием для каких-либо реконструкций расселения популяций диатомовых было отсутствие до недавнего времени представлений о унипарентальном наследовании генетических участков. Сейчас, когда получены доказательства унипарентального наследования митохондриальной ДНК (см. раздел "Наследование, связанное с полом"), появляется перспектива выполнения подобных исследований на диатомовых.

По мере накопления фактических данных и развития теоретических представлений стали проявляться проблемы филогеографии, многие из них детально обсуждаются в существующих обзорах [например, Абрамсон, 2007, 2009; Лухтанов, Кузнецова, 2009].

Так, если руководствоваться исключительно дивергенцией выбранных молекулярных маркеров, то очень часто оказывается, что факт и момент их дивергенции определяется гораздо раньше, чем наступило видовое расхождение в понятиях морфологии, репродуктивной или экологической изоляции. Еще одна серьезная проблема, приводящая к несовпадению между филогенией генов и видов, возникает при интрогрессии в геном исследуемого вида генетических маркеров вследствие межвидовой гибридизации или горизонтального генетического переноса, осуществляемого, например, вирусами и бактериями. Так, у *Phaeodactylum tricorneratum* Bohlin, одного из немногих видов диатомовых, у которых был полностью секвенирован геном, задокументировано присутствие сотен генов, полученных от бактерий [Bowler *et al.*, 2008]. Существует проблема полифилии и парафилии, и если полифилия большинством школ не признается как естественная система, то в отношении парафилии действует субъективный фактор — признавать или не признавать парафилетические таксоны и оставлять ли за ними формальное название. Очень часто внутри, на самом деле, единого полиморфного вида на основе анализа небольших гипервариабельных участков нуклеотидных последовательностей выделяют большое число новых видов — так называемые "генетические виды".

В целом, если отвлечься от деталей, становится очевидным, что главная проблема, на самом деле, состоит в нерешенности и неопределенности понятия вида и его границ. Существует множество концепций вида [de Queiroz, 2007; Amato, 2010]. Современный подход в филогеографии базируется на филогенетической концепции, подразумевающей генетическое родство видов и возможность построения в идеале полной филогенетической картины мира, где все ныне живущие и вымершие виды объединены филогенетическими связями. Однако и при этом подходе не всегда удается ответить на вопрос — где пролегают границы между видами. Нет однозначной и универсальной меры различий, которая позволила бы полученные клады признать самостоятельными видами. И как следствие, в силу нерешенности вопроса о биологических границах, не удастся установить пространственные границы. В такой ситуации, возможно, следует еще раз обратиться к биологической концепции вида [Mayr, 1942; Dobzhansky, 1951], которая определяет виды не только как совокупности репродуктивно совместимых организмов, оставляющих плодовитое потомство в поколениях, но и устанавливает границы между видами, выраженные в их репродуктивной изоляции. То, что приводит к возникновению биологической репродуктивной изоляции, определяет механизм ее возникновения, а следствие (сам факт изоляции) служит хорошим критерием для делимитации видов.

Критерий репродуктивной изоляции не универсален (вспомним автогамные виды) и в ряде случаев имеет ограничения прикладного характера, однако важнейшим его преимуществом является то, что он затрагивает сущность процесса видообразования, поскольку самостоятельная эволюционная (филогенетическая) история как раз и создается биологическим барьером, существенно лимитирующим или вовсе исключаящим возможность переноса генетического материала. Более того, этот критерий объективен, он не зависит от мнения и квалификации эксперта, и что весьма важно, данные о репродуктивной совместимости позволяют избежать такой крайности, характерной для филогенетических построений, как чрезмерное дробление видов. Понятие репродуктивной совместимости/изоляции не противоречит филогенетической, эволюционной, морфологической и другим концепциям, и в то же время позволяет обнаружить и доказать факт дивергенции видов. В этом нас убеждают накапливающиеся данные, в частности, касающиеся широко распространенной на Евразийском континенте диатомеи *Ulnaria ulna*, которая до настоящего времени воспринималась как единый вид.

Мы собрали пробы из девяти популяций, расположенных на Евразийском континенте на значительном удалении друг от друга (рисунок 11.1). В результате попарного скрещивания выяснилось, что клоны охотно вступают в гетероталлический половой процесс в комбинациях, отвечающих их половому типу. При этом успешно сочетались клоны из всех изученных популяций (таблица 11.1). Наблюдение за одиночными клонами показало, что многие из них способны к внутриклоновому гаметогенезу, который наблюдался как у мужских, так и женских клонов. Дальше гаметогенеза в женских клонах процесс не шел. В мужских клонах наблюдались все последующие этапы полового воспроизведения, включая формирование зигот, ауксоспор и инициальных клеток. Последнее обстоятельство связано, вероятно, с подвижностью мужских гамет, обусловленной формированием на поверхности гамет цитоплазматических выростов [Podunay *et al.*, 2014]. Аналогичные выросты были впервые открыты у близкородственного вида *Tabularia fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2012b, см. раздел "Движение гамет"]. Внутрикловое воспроизведение *U. ulna* наблюдалось изредка и давало небольшое количество генеративных клеток, в отличие от него межкловое воспроизведение было обильным и при благоприятных внешних условиях происходило при каждом посеве смеси клонов противоположного пола.

Полученное гибридное потомство в первом поколении (гибриды *F1*) проверили на предмет скрещиваемости с клонами всех популяций, в том числе родительских (возвратное скрещивание). Обнаружилось, что гибриды *F1* способны скрещиваться почти

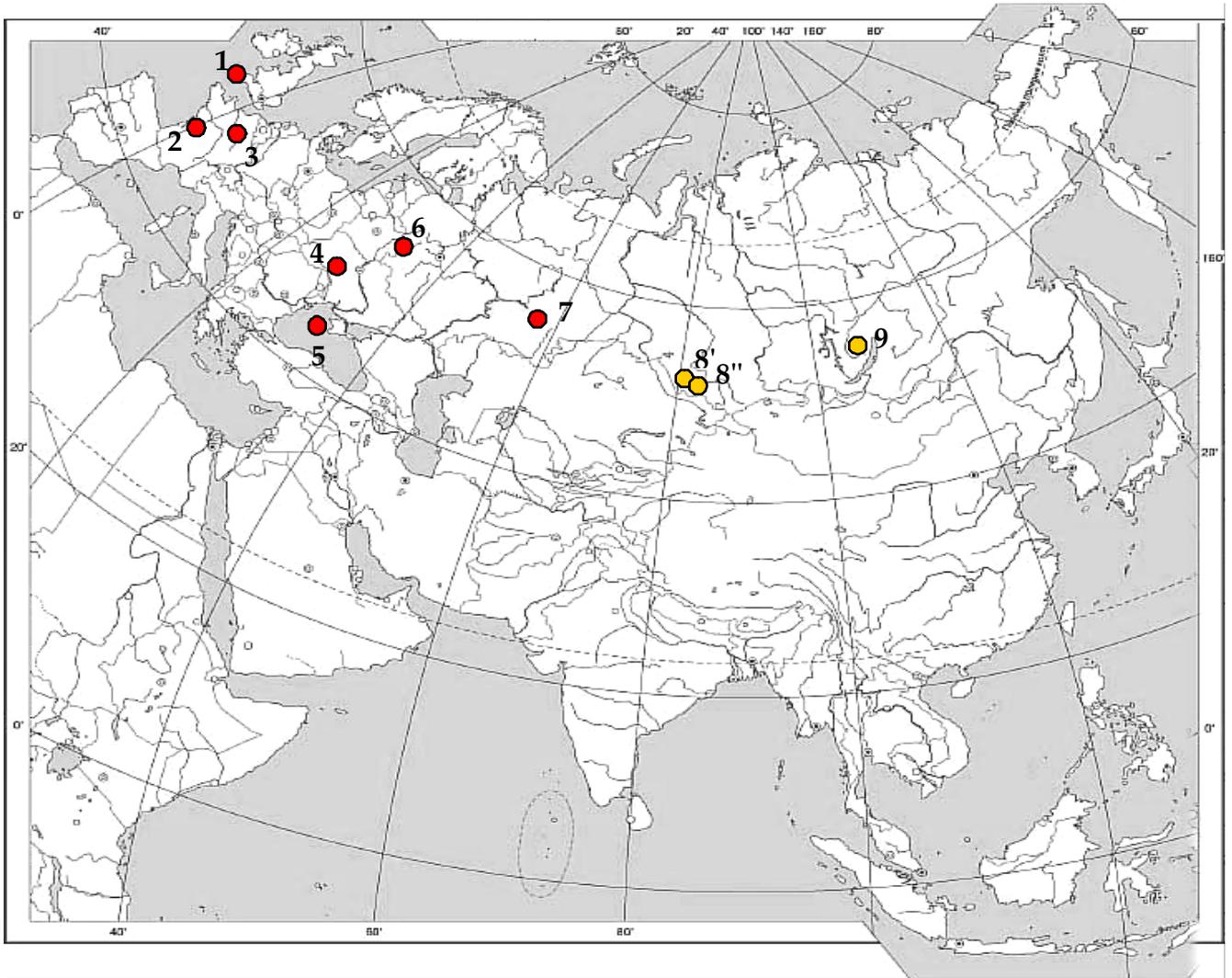


Рисунок 11.1 — Локализация изученных популяций *Ulnaria ulna* на Евразийском континенте: 1 – небольшая река в г. Кардифф, Уэльс (Соединенное Королевство); 2 – река Ля Сарт (La Sarthe) в районе г. Ле Ман, Франция; 3 – канал в г. Гент, Бельгия; 4 – река Днепр в районе г. Киев, Украина; 5 – горные источники, Крым, Россия; 6 – река Москва в районе г. Звенигород, Россия; 7 – река Адуй, Россия; 8' – река Обь в районе г. Барнаул, Россия; 8'' – река Бия, Россия (8' и 8'' рассматриваются как одна популяция); 9 – озеро Фролиха, впадающее в озеро Байкал, Россия. Красным и желтым цветами показаны две группы популяций, между которыми обнаруживается репродуктивная изоляция во втором поколении

со всеми популяциями, если они получены без участия восточноевразийских родительских клонов, т.е. клонов из популяций 8', 8'' и 9 (см. рисунок 11.1). Гибриды,

Таблица 11.1 — Случаи межклонового воспроизведения в парных комбинациях клонов, полученных из географически удаленных популяций *Ulnaria ulna*

Имя клона	Тип скрещ.	<u>B.75/2</u>	<u>B.155</u>	2.0419-F	2.0419-J	2.0423-C	<u>2.0419-A</u>	2.0419-C	<u>9.0424-A</u>	<u>9.0427-B</u>	<u>0.0416-B</u>	<u>0.0421-A</u>	<u>8.0626-D</u>	<u>9.0330-A</u>	9.0424-C	9.0424-E	9.0427-G	0.0416-C	<u>0.0513-B</u>	<u>0.0513-A</u>	<u>0.0513-C</u>	<u>2.0903-A</u>	2.0903-E	2.0903-F	2.0903-H	2.1130-C	2.1130-H	<u>2.1130-D</u>	<u>2.1130-E</u>	1.0929-F	1.0929-A	<u>1.0929-D</u>	1.0929-G		
		red	red	red	red	red	blue	blue	red	red	red	red	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	red	blue	blue	red	blue	blue	blue	red	red	blue	blue	red	red	blue	blue	
<u>B.75/2</u>	red																																		
<u>B.155</u>	red	0																																	
оз. Фролиха, впадающее в оз. Байкал, Россия																																			
2.0419-F	red																																		
2.0419-J	red			0																															
2.0423-C	red				0																														
<u>2.0419-A</u>	blue	2			3	2																													
2.0419-C	blue	2			2	2	2	0																											
небольшая река в г. Кардифф, Уэльс (Соединенное Королевство)																																			
<u>9.0424-A</u>	red			0	0	0	2	2																											
<u>9.0427-B</u>	red				0		0		0																										
<u>0.0416-B</u>	red				0		0		0	0																									
<u>0.0421-A</u>	red				0	0	0	2	0	0	0																								
горные источники, Крым, Россия																																			
<u>8.0626-D</u>	blue								3	2	2	1																							
<u>9.0330-A</u>	blue								3	1	0	1	0																						
9.0424-C	blue								1	2	1	2	0	0																					
9.0424-E	blue	2			2	2	0	0	2	1	2	2	0	0	0																				
9.0427-G	blue								2	2	2	2	0	0	0	0																			
<u>0.0416-C</u>	blue	2			1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<u>0.0513-B</u>	red	0			0	0	0	3	3	0	0	0	0	2	2	2	3	1	3																
0.0513-A	blue				0	0	0	0	0	2		2				0			0	2															
0.0513-C	blue	2			0	2	1		3	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0														
р. Днепр в районе г. Киев, Украина																																			
2.0903-A	red	0			0	0	3	3	0		0																								
2.0903-E	blue	2			2	2	2	0	3		2																								
2.0903-F	blue					3	0													2		0													
2.0903-H	blue	3			2	3	2	0	0	2		2							2		0														
канал в г. Гент, Бельгия																																			
2.1130-C	red	0				0	3				0				2	2			0																
2.1130-H	red	0	0					2							1	2			0																
<u>2.1130-D</u>	blue	3			2	3	2	0	0	2		2				0	0	0	3																
<u>2.1130-E</u>	blue	2						0								0	0	0																	
р. Ля Сарт, г. Ле Ман, Франция																																			
1.0929-F	red	0			0	0	0	2	2	0		0			2	2			0		2														
1.0929-A	red	0			0	0	0	2		0					2	3			0		2														
<u>1.0929-D</u>	blue	2			3	2	2	0	0	2		1	2			0		0	3	0	0														
<u>1.0929-G</u>	blue				0	2	2	0	0	2		2	2			0		0	3	0	0														
р. Москва, г. Звенигород, Россия																																			

Примечание. Подчеркнуты клоны, способные к внутриклоновой репродукции (последнее не показано в таблице); чтобы избежать полярности в оценке типов скрещивания, они условно обозначены как "red" и "blue"; скрещивания клонов одной популяции показаны на темно-сером фоне; сексуально совместимые межпопуляционные группы скрещивания – на светло-сером фоне; пустые клетки – нет данных; оценка результативности полового воспроизведения в баллах: 0 – нет, 1 – редко (1-5 случаев в смеси), 2 – нередко (5-25 случаев), 3 – обильно (более 25)

Таблица 11.2 — Возвратные скрещивания гибридов *F1*, полученных в межпопуляционных скрещиваниях родительских популяций

<i>F1</i> гибриды	Возвратные скрещивания с популяциями							
	UK	BE	FR	RU1	RU2	RU3	RU4	RU5
BE + RU1		+	+	+	+			–
BE + RU2		+		+	+			+
BE + RU3	+	+	+			+		+
FR + RU1			+	+	+			
FR + RU2		+	+	+	+			+
FR + RU3	+		+			+	+	+
RU1 + RU3	+	+	+	+		+		
UK + BE	+	+	+		+			–
UK + FR	+	+	+		+			+
UK + RU1	+			+	+			+
UK + RU2	+	+			+			
UK + RU3	+		+		+	+		+
RU4 + UK	–		–				–	–
RU4 + RU1				–		–	–	–
RU4 + RU3	–		–			–	–	–
RU5 + UK	–	–	–					–
RU5 + BE	–	–	–	–	–			
RU5 + FR	–	–	–	–	–			
RU5 + RU2	–	–	–	–	–			–
RU5 + RU3	–	–	–	–		–	–	–
RU5 + RU4	–		–	–	–	–	– (?)	+

Примечание. Локализация родительских популяций: BE – Бельгия, Гент; FR – Франция, Ле Ман; UK – Соединенное Королевство, Кардифф; RU1 – Крым; RU2 – Россия, р. Москва; RU3 – Россия, р. Адуй; **RU4** – Россия, р. Бия; **RU5** – Россия, оз. Фролиха Байкал; восточно евразийские популяции выделены жирным шрифтом; пустые клетки – данные отсутствуют; пунктирная линия охватывает нефертильные гибриды

полученные с участием восточноевразийских клонов, оказались нефертильными в скрещиваниях с западноевразийскими популяциями. Единственный положительный результат возвратного скрещивания был достигнут при скрещивании гибрида восьмой и девятой популяций с популяцией из оз. Фролиха (таблица 11.2). Итак, между восточно- и западноевразийскими популяциями существует репродуктивный барьер. Репродуктивная изоляция наблюдается во втором поколении: в первом поколении гибридизация еще возможна, однако дальнейший обмен и передача генетического материала следующим поколениям исключены.

Таким образом, мы приблизились к пониманию того, что *Ulnaria ulna* на Евразийском континенте существует не как целостный вид, а представлена, как минимум, двумя

репродуктивно изолированными группами, которые, согласно биологической концепции, следует считать самостоятельными видами.

Примеры репродуктивной совместимости популяций, отстоящих друг от друга в Мировом океане на тысячи километров, также нередки (см. предыдущий раздел). Помимо уже упомянутой в предыдущей главе *Tabularia fasciculata*, черноморская (район Карадага) и западно-атлантическая (мыс Торментайн) популяции которой скрещивались в первом и во втором поколениях, подобную совместимость мы обнаружили между популяциями *Haslea ostrearia* (рисунок 11.2), локализованными на восточном побережье Северной Америки (остров Род, Rhod Island), западном побережье Франции, заливы Марен-Олерон (Marennes-Oléron Bay) и Бурньёф (Bourgneuf Bay), западном побережье Швеции, залив Каттегат (Kattegat Bay), и, как недавно мы установили (таблица 11.3), — на побережье Западной Австралии, залив Лешенолт (Leschenault Estuary). Совместимость американской

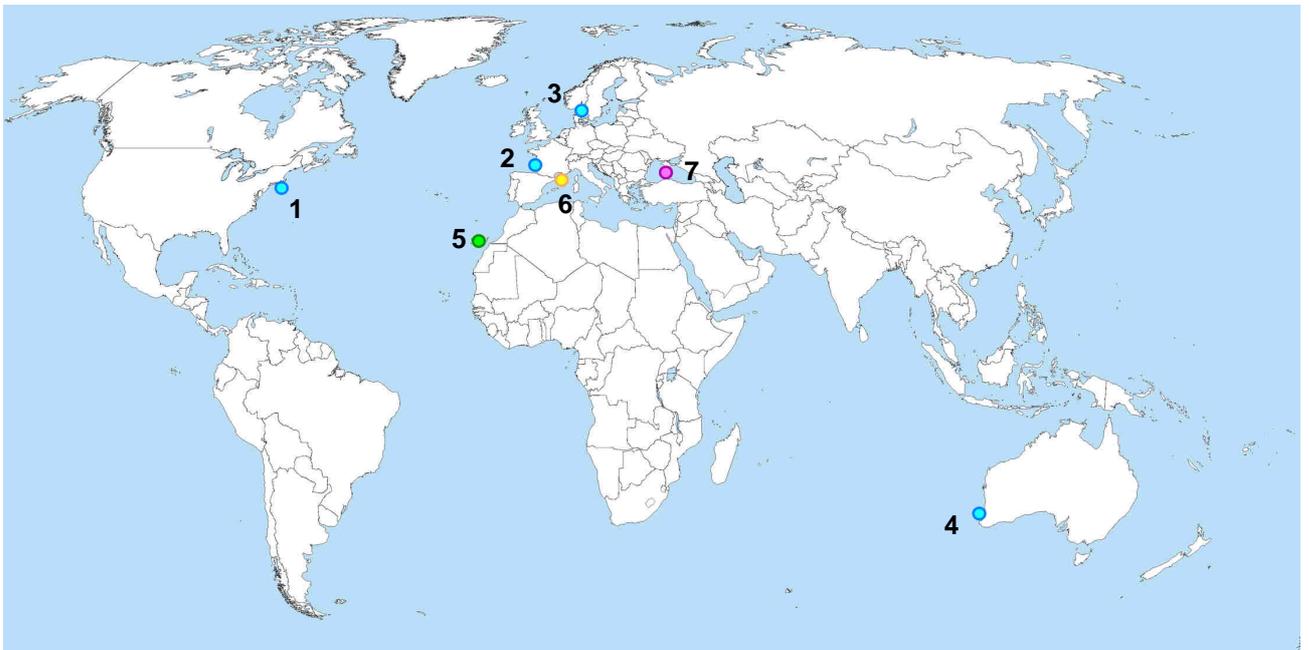


Рисунок 11.2 — Локализация изученных популяций *Haslea* в Мировом океане.

Репродуктивно совместимые популяции *H. ostrearia* (обозначены одним цветом): 1 – восточное побережье Северной Америки, остров Род (Rhod Island); 2 – западное побережье Франции, заливы Марен-Олерон (Marennes-Oléron Bay) и Бурньёф (Bourgneuf Bay), 3 – западное побережье Швеции, залив Каттегат (Kattegat Bay); 4 – побережье Западной Австралии (Leschenault Estuary). Репродуктивно изолированные популяции (виды): 5 – *H. silbo* sp. ined., остров Ла Гомера, архипелаг Канарских островов; 6 – *H. provincialis*, пляж Боулоурис (beaches of Boulouris), юг Франции; 7 – *H. karadagensis*, Карадаг, Крым.

Таблица 11.3 — Репродуктивная совместимость клонов *Haslea ostrearia*, полученных из географически удаленных друг от друга популяций – с западных побережий Австралии и Франции

Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	OZ																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	9A2																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	9AA1																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	9AA4																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	10A1																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	10AA2																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	11AA5																				
Indian Ocean, Australia, Leschenault Estuary	11AAA3																				
Atlantic Ocean, Bay of Biscay	10																				
Atlantic Ocean, Noirmoutier	3.0326-C																				
Atlantic Ocean, La Rochelle	3.0422-B																				
Локализация популяции	Клон																				
		OZ	9A2	9AA1	9AA4	10A1	10AA2	11AA5	11AAA3	10	3.0326-C	3.0422-B									

Примечание. Красный и синий цвет названий клонов условно обозначает репродуктивно совместимые (комплементарные) скрещивающиеся типы. Представлена балльная оценка интенсивности аукоспоробразования (0 – нет аукоспор, 1 – единичные аукоспоры, 2 – порядка десяти, 3 – несколько десятков аукоспор на чашку Петри, пустые клетки – нет данных)

и австралийской популяций с европейскими популяциями проверена пока только в первом поколении.

Следует заметить, что морфометрические характеристики позволяют достаточно четко разделить эти популяции; так, клетки австралийских клонов выглядят, по сравнению с атлантическими, относительно более широкими, особенно в конце жизненного цикла (рисунок 11.3).

Репродуктивная совместимость географически удаленных популяций была показана для морских видов *Pseudo-nitzschia pungens* complex [Casteleyn *et al.*, 2008], и пресноводной *Sellaphora pupula* capitata deme [Mann, 1999], что не отрицает, однако,

локального эндемизма для других видов [Vanormelingen *et al.*, 2008] и даже родов [Vyverman *et al.*, 2007]. Изучение *Haslea*, собранной из других мест обитания позволило установить наличие не только репродуктивно совместимых, но и репродуктивно изолированных популяций (см. рисунок 11.2 и таблицы 10.1, 11.3). Это привело к открытию и описанию нового вида, *Haslea karadagensis*, воспринимавшейся вначале как черноморская популяция *H. ostrearia*. Кроме того, мы обнаружили еще как минимум две репродуктивно изолированные популяции. Одна из них, средиземноморская, недавно описана как *Haslea provincialis* Gastineau, Hansen et Mouget [Gastineau *et al.*, 2016]. Вторая репродуктивно изолированная популяция, с Канарских островов, формально еще не приобрела статус вида.

Там где возможно, мы анализировали помимо морфологии и репродуктивной совместимости, генетические последовательности. Из дендрограммы для *Tabularia fasciculata* (см. рисунок 10.4) видно, что расхождения в последовательностях рибосоиальных ДНК между репродуктивно совместимыми трансатлантическими популяциями сравнительно невелики. В случае с *Haslea* было установлено [Gastineau *et al.*,

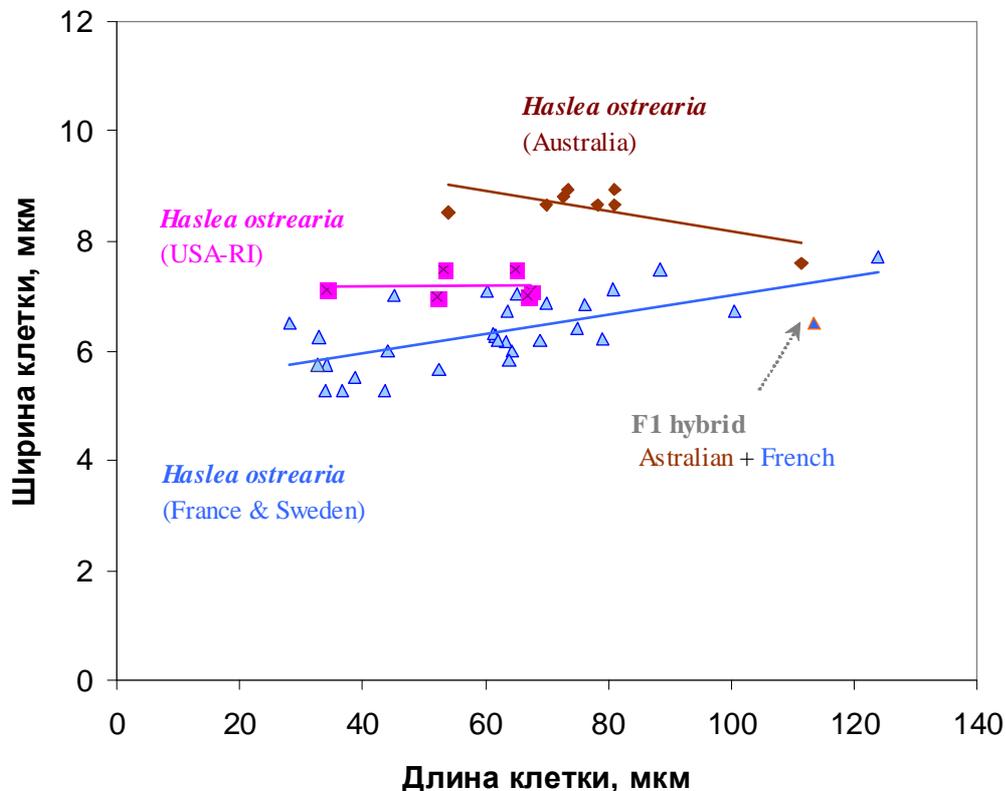


Рисунок 11.3 — Соотношение длины и ширины клеток из репродуктивно совместимых популяций *Haslea ostrearia*, локализованных в Мировом океане так, как показано на предыдущем рисунке

2014b)], что у изученных репродуктивно изолированных популяций накопились значительные генетические расхождения в таком консервативном гене, как хлоропластный ген *rbcL* (рисунок 11.4).

По нашему мнению, решение о разграничении видов, особенно если речь идет об описании новых видов должно базироваться на применении комплексного подхода, объединяющего использование нескольких критериев, прежде всего, морфологического, генетического и репродуктивного. Учитывая это, выделение новых видов в роде *Haslea* можно считать достаточно обоснованным. В роде *Haslea* обоснованность делимитации видов дополнительно подтверждается различием оптических характеристик и структуры мареннин-подобных пигментов [Gastineau *et al.*, 2014c].

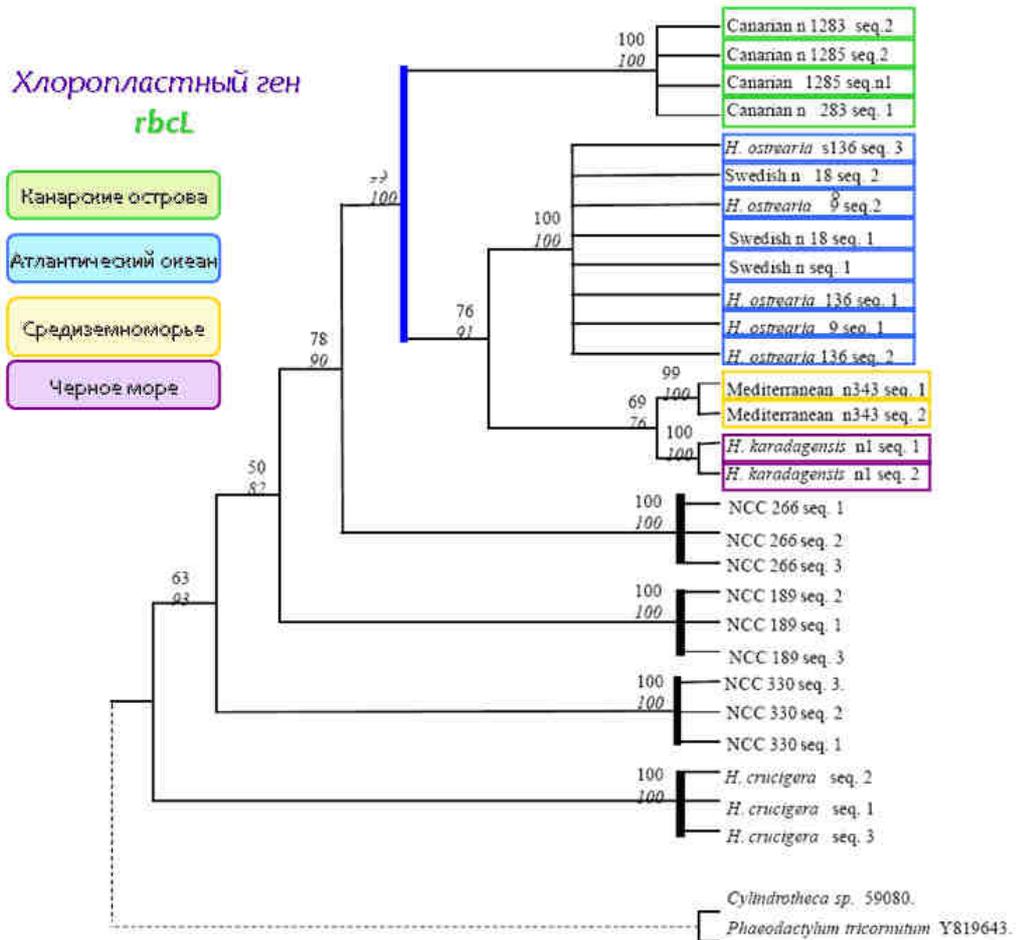


Рисунок 11.4 — Дендрограмма, построенная по результатам анализа последовательностей хлоропластного гена *rbcL* для клонов из пяти популяций *Haslea*. Канарская, средиземноморская и черноморская популяции репродуктивно изолированы друг от друга и от двух атлантических популяций; последние репродуктивно совместимы

Раздел 12

РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ФИЛОГЕНИЯ ДИАТОМОВЫХ

Современная систематика диатомовых представляет скорее простой перечень видов с весьма лаконичными диагнозами, нежели всестороннее, углубленное и исчерпывающее описание всевозможных характеристик каждого вида, не ограничивающееся морфологией панциря, с четким указанием межвидовых границ. Отчасти такая ситуация объясняется сложностью установления видовых границ у диатомовых по имеющимся критериям, отчасти — недостаточно устоявшимися концептуальными представлениями о том, что такое вид. Проблемы морфологической систематики и стремление построить естественную филогенетическую систему заставляют искать новые подходы. Одним из таких многообещающих подходов выступает молекулярно-генетический, позволяющий кардинально пересмотреть, подтвердив или опровергнув, многие существующие представления о систематике диатомовых [Mann, Evans, 2007; Alverson, 2008]. Молекулярно-генетический подход не вызывает возражений при рассмотрении филогенетических позиций высоких рангов — на уровне семейств и выше, однако он не столь однозначен при изучении межвидовых границ в пределах одного рода, особенно если расхождение видов произошло недавно, или же возникновение видовой обособленности не сопровождалось существенными генетическими (равно как морфологическими, физиологическими и проч.) расхождениями. И речь в данном случае идет не о чувствительности метода, которая, на самом деле, очень высока и позволяет установить даже межклоновые различия. Проблема состоит в выборе концепции для интерпретации данных. Для молекулярного биолога критический уровень расхождений между генетическими последовательностями — это некая условная граница, определяемая в процентах расхождений. Однако, уровень расхождений, который рассматривают как критический, устанавливается изначально на основе классического морфологического подхода. С точки зрения биологической концепции виды приобретают собственную эволюционную историю в результате появления биологической репродуктивной изоляции. Чем дольше продолжается собственная эволюционная история, тем больше различий накапливается, тем легче различить виды. Вполне очевидно, что репродуктивная несовместимость, включая стерильность в поколениях по причине генетической несовместимости, может служить хорошим критерием состоявшегося расхождения видов, равно как репродуктивная совместимость доказывает видовое единство. Критерий репродуктивной совместимости/несовместимости, разумеется, имеет свои ограничения и

его нелегко применять на практике, особенно при выполнении рутинных исследований, однако для выяснения принципиальных вопросов он может оказаться весьма важным, и в некоторых случаях единственно верным.

Сама по себе репродуктивная совместимость реализуется в ходе последовательности превращений с клетками, которая описывается как половой процесс. Половой процесс у диатомовых изучен крайне недостаточно, если вести речь о количестве видов, для которых он описан — менее 1% от общего количества известных видов. Несмотря на это, уже понятны некоторые закономерности, в частности, установлены и классифицированы типы полового процесса [Geitler, 1973]. Вряд ли следует доказывать, что расхождение в типах полового процесса безусловно подразумевает половую несовместимость, поэтому обнаружение существенной разницы в типах полового процесса дает основания для разделения таксономических единиц. Главный вопрос, который при этом возникает, — на каком таксономическом уровне следует рассматривать наблюдающиеся расхождения. Данные о типах и деталях полового процесса несут значимую информацию для идентификации таксонов разного ранга, начиная от видового и заканчивая уровнем класса. Предпринимались неоднократные попытки свести типы полового процесса в определенные системы [Мережковский, 1903; Mann, 1993a]. Сегодня наиболее полной для пениатных диатомовых является система Гайтлера [Geitler, 1957, 1973; Mann, 1993a]; в систему центрических последние дополнения сделал Мизуно [Mizuno, 2006, 2008]. Использование типа полового процесса вместе с другими подходами (морфологическим, генетическим) не только желательно, но и необходимо для построения естественной системы диатомовых водорослей. К сожалению, собранные к настоящему времени данные о репродукции диатомовых скудны и фрагментарны, и сетования по поводу их отсутствия часто встречаются в работах по филогении этой группы [Medlin *et al.*, 2008b; Mizuno, 2008 и др.].

Опыт нашей работы и литературные данные [Geitler, 1973; Mann, 1993] склоняют к выводу о том, что тип полового процесса являются существенной родовой характеристикой. Наличие двух типов полового процесса (нельзя путать с типами гаметогенеза) может быть связано с разными путями воспроизведения, а именно, гомоталлическим и гетероталлическим [например, Podunay *et al.*, 2014]. Однако, при рассмотрении только одного из путей воспроизведения у видов, представляющих один род, не наблюдается принципиальных расхождений в типах полового процесса, за некоторыми исключениями, требующими отдельного рассмотрения. Половой процесс, ввиду своей консервативности в эволюционном плане, может служить хорошей основой

для выяснения родственных отношений между видами и выяснения принадлежности к тому или иному таксону, в частности, родовой принадлежности конкретных видов. Приведем несколько примеров.

В современной систематике диатомовых водорослей семейство *Cymbellaceae* Greville, 1833 включает 14, преимущественно пресноводных, родов [Родионова и др., 2012]. Первое описание полового процесса у представителей семейства *Cymbellaceae* было опубликовано Картером [Carter, 1856] и касалось *Cymbella pediculus* Kützing. Из этого описания следует, что в процессе полового воспроизведения участвуют две клетки, и они могут быть неравных размеров. Последнее обстоятельство свидетельствует о том, что процесс гетероталлический, т.е. в нем принимают участие клетки разных клонов (генетических линий). Гаметангиальная пара, выделяя слизь, формирует слизистую капсулу. Морфология и поведение гамет не были установлены. Отсутствуют также сведения о количестве гамет, образующихся в каждой гаметангии, однако, судя по двум формирующимся зиготам и, соответственно, двум аукоспорам в гаметангиальной паре, можно уверенно говорить о том, что в процессе участвуют четыре гаметы, по две из каждого гаметангия. Аукоспоры растут параллельно створкам гаметангиев. Перизониум имеет четко выраженные поперечные кольца. *Cymbella pediculus* Kützing в настоящее время расценивается как таксономический синоним *Amphora pediculus* (Kützing) Grunow ex A.Schmidt [Guiry, Guiry, 2014]. Однако, с точки зрения репродуктивной биологии эти два рода существенно различаются.

Наиболее полно воспроизведение рода *Cymbella* C.Agardh изучено Л. Гайтлером, описавшим детали полового процесса у более, чем десяти видов, включая *Cymbella affinis* Kützing, *C. amphicephala* Näegeli (сейчас *Cymbopleura amphicephala* (Nägeli) Krammer), *C. aspera* (Ehrenberg) Cleve, *C. cesatii* (Rabenhorst) Grunow (сейчас *Encyonopsis cesatii* (Rabenhorst) Krammer), *C. cistula* (Ehrenberg) O.Kirchner, *C. cymbiformis* C.Agardh, *C. delicatula* Kützing (сейчас *Delicata delicatula* (Kützing) Krammer), *C. ehrenbergii* Kützing (сейчас *Cymbopleura inaequalis* (Ehrenberg) Krammer), *C. gracilis* (Rabenhorst) Cleve (сейчас *Encyonema gracile* Kirchner), *C. lacustris* (C.Agardh) Cleve (сейчас *Encyonema lacustre* (C.Agardh) F.W.Mills), *C. sinuata* W.Gregory (сейчас *Reimeria sinuata* (Gregory) Kociolek & Stoermer), *C. ventricosa* (C.Agardh) C.Agardh (сейчас *Encyonema ventricosum* (C.Agardh) Grunow) [Geitler, 1927, 1932, 1953, 1954, 1956, 1967; 1981, Geitler, Mack, 1953]. Гайтлер установил, что у всех представителей рода воспроизведение происходит, согласно разработанной им классификации [Geitler, 1973], по типу **Ialaa**. В некоторых случаях наблюдалось также педогамное гомоталлическое воспроизведение. Воспроизведение по

типу **Ialaa** подразумевает участие двух гаметангиев, в каждом из них формируется по две гаметы, которые после попарного слияния образуют две зиготы, прорастающие затем в две ауксоспоры. Гаметы в каждой гаметангии функционально анизогамны (одна активная, другая пассивная). При формировании гамет происходит их перегруппировка. Сливаются гаметы попарно по транс-типу. Гаметангиальная пара образует слизистую капсулу, никаких копуляционных каналов не обнаруживается. Это исчерпывающее описание позволяет сопоставить типы полового процесса у рода *Symbella* и других родов семейства Symbellaceae и порядка Symbellales.

На примере *Amphora arcus* Gregory [Mann, 1994c] можно видеть, что у *Amphora*, в отличие от *Symbella*, воспроизведение изогамное, гаметы одинаковы как по морфологии, так и по поведению, ауксоспоры растут перпендикулярно створкам гаметангиев, и это соответствует типу **IB1a** в системе Гайтлера. В рамках биологической концепции вида столь существенные различия в типах полового процесса, являющиеся базовыми, а не дополнительными (как, например, педогамия) не могут наблюдаться в пределах одного рода, и поэтому можно сделать вывод о том, что *Symbella pediculus* Kützing, изучавшаяся Картером, не соответствует *Amphora pediculus* (Kützing) Grunow ex A.Schmidt, либо *S. pediculus* ошибочно отнесена к *Amphora*.

За последние полвека из обширного рода *Nitzschia* Hassall, в понимании *sensu lato*, было выделено несколько самостоятельных более узких в таксономическом смысле родов. Один из них, получивший название *Pseudo-nitzschia* H.Peragallo, долгое время одними исследователями рассматривался, следуя Хустедту [Hustedt, 1958], как секция рода *Nitzschia* Hassall, другие придавали ему ранг рода, как это сделали братья Перагалло [Peragallo, Peragallo, 1900]. Хасле с соавторами [Hasle, 1994; Hasle *et al.*, 1996], принимая во внимание планктонный образ жизни, совокупность морфологических признаков, способность формировать колонии обосновала необходимость выделения этой группы водорослей в отдельный род. Описание репродукции представителей этого рода является, по нашему мнению, важнейшим аргументом и хорошей иллюстрацией правильности такого вывода. Действительно, если обратиться к доступным по репродукции представителям рода *Nitzschia* данным, детально проанализированным Д. Манном в нескольких работах [Mann, 1986a, 1986b], то выяснится, что у *Nitzschia sensu stricto* половой процесс протекает с образованием копуляционных каналов. Данный тип полового процесса в определенной мере представляет "вершину" эволюции, понимая под этим развитость специализированных копуляционных структур. Представители *Nitzschia*, как и большинство пеннатных, раздельнополы; в паре клеток-гаметангиев, участвующих в

воспроизведении, формируются по две гаметы, причем одна гамета активна и перемещается в ходе полового процесса по копуляционному каналу в клетку-гаметангий полового партнера, где сливается с пассивной гаметой. Навстречу перемещается активная гамета клетки-гаметангия полового партнера. Такой тип полового процесса классифицируется как транс-тип. Зиготы, а в дальнейшем и ауксоспоры, формируются каждая в створках своего гаметангия; ауксоспоры растут параллельно апикальным осям клеток-гаметангиев (рисунок 12.1). В отличие от *Nitzschia sensu stricto* у всех изученных представителей рода *Pseudo-nitzschia* наблюдался один и тот же тип полового процесса — цис-анизогамия [Davidovich, Bates, 1998a, b; Chepurnov *et al.*, 2005; Amato, Montresor 2008; Levialdi Ghiron, 2008; Quijano-Scheggia *et al.*, 2009a; Quijano-Scheggia *et al.*, 2009b; Holtermann *et al.*, 2010; Sarno *et al.*, 2010; Scalco *et al.*, 2014; Sabatino *et al.*, 2015]. Этот тип анизогамии принципиально отличен от предыдущего по крайней мере по трем позициям: а) распределение активных и пассивных гамет и направление их движения; б) место сингамии и расположения зигот; в) направление роста ауксоспор относительно створок родительских гаметангиев. Столь существенные отличия в типах полового процесса говорят о глубоком расхождении родов *Nitzschia* и *Pseudo-nitzschia*. Это расхождение подтверждается современной информацией об их молекулярно-генетических последовательностях [например, Mann *et al.*, 2013].

По мере накопления данных становится все более очевидным, что тип полового процесса является отличительной и очень консервативной родовой характеристикой.

При этом значимыми признаками при описании полового процесса являются:

- количество клеток-гаметангиев, участвующих в половом процессе, и способ их взаимодействия (образуют гаметангиальные пары или нет);
- взаимное расположение гаметангиев;
- наличие общей слизистой капсулы, копуляционных каналов;
- количество гамет, продуцируемых каждым гаметангием;
- способ формирования гамет (апикальное или трансапикальное направление деления протопласта клетки-гаметангия; прикрепленность гамет к створкам гаметангия),
- наличие половой дифференциации при формировании гамет;
- активность и направление перемещения гамет;
- место сингамии и место расположения зигот в отношении створок гаметангиев;
- характер прикрепления и взаимного расположения (направление роста) ауксоспор и створок родительских гаметангиев.

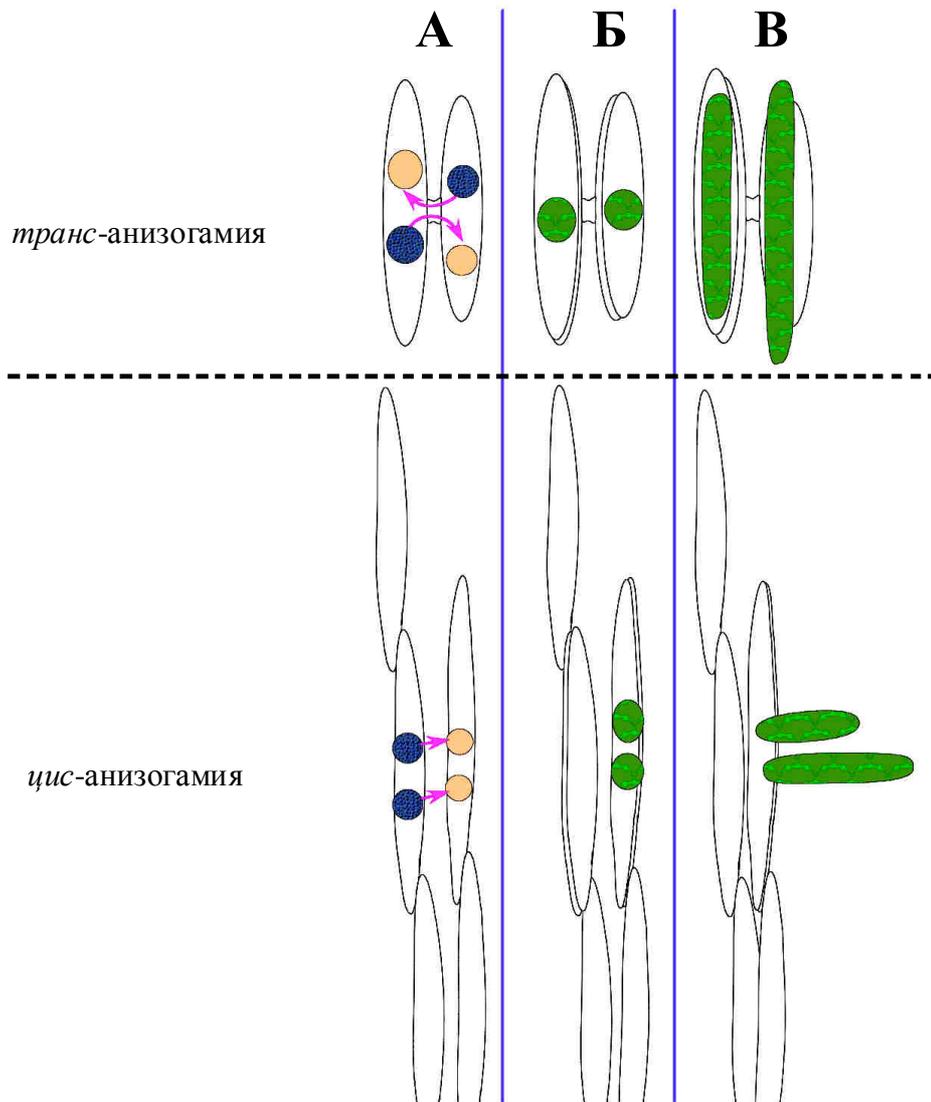


Рисунок 12.1 — Схема *цис*- и *транс*-анизогамии у диатомовых, воспроизводящихся аллогамно. **А** – направление движения гамет (активные гаметы темные, пассивные светлые); **Б** – расположение зигот; **В** – направление роста аукоспор относительно створок гаметангиев. Верхняя схема (*транс*-анизогамия) соответствует роду *Nitzschia sensu stricto*; нижняя схема (*цис*-анизогамия) соответствует роду *Pseudo-nitzschia*

У центрических диатомовых водорослей к этому добавляется еще тип сперматогенеза (мерогенный или гологенный) и тип оогенеза (с равным, неравным или отсутствием цитокинеза в процессе первого мейотического деления).

В совокупности всех цитологических деталей, если добавить к этому еще размеры клеток, свойственные кардинальным пунктам жизненного цикла, и временные параметры, описывающие протекание процессов, мы получим высоковидоспецифичную характеристику. У близкородственных видов различия незначительные и касаются мелких

деталей. Используя отдельные (типовые) черты, можно составить описание типов полового процесса. Для каждого рода характерен конкретный тип полового процесса (таблица 12.1, см. также раздел "Половой процесс у диатомовых).

Несколько замечаний следует высказать по поводу апомиксиса и аутомиксиса, включающего аутогамию и педогамию. В пределах одного вида эти типы аукоспоруляции чаще всего наблюдались как дополнительные к другим типам [например, Geitler, 1939a, б; Podunay *et al.*, 2014]. Хотя аутомиксис отмечался в разных линиях диатомовых [Drebes, 1977; Geitler, 1985], этот тип воспроизведения рассматривается как редко встречающийся [Cherurnov *et al.*, 2004; Mann *et al.*, 2013]. Частота его проявления зависит от вида, и даже от клона. Известны примеры, когда одна или несколько изолированных популяций вида воспроизводились аутомиктически, в то время как все остальные — аллогамно [Mann *et al.*, 2013]. Аутомиксис — это неаллогамный половой процесс, т.е. протекающий в одной клетке. Однако, он может происходить в клоне, воспроизводящемся в основном аллогамным способом [Mann, 1994a], когда клеткам-гаметангиями по каким-то причинам не удалось спариться, или их взаимодействие оказалось прерванным. Разумеется, при таких обстоятельствах, аутомиксис не может быть родовой характеристикой. Д. Манн с соавторами [Mann *et al.* 2013] назвали его "спорадически встречающимся" среди диатомовых разных линий. Случаи облигатного аутомиксиса известны, но являются весьма редкими [Geitler, 1960].

Тип полового процесса может служить важнейшим критерием не только для рода, но и для таксонов более высокого ранга. Так, например, Г. Хасле с соавторами [Hasle *et al.*, 1983] считала формирование жгутиковых спермиев у представителей семейства *Sumatosiraceae* принципиальным доказательством их принадлежности к центрическим диатомовым. На основе данных генетического анализа недавно было вновь актуализировано сомнение относительно таксономического положения родов *Ardissonea* De Notaris, *Climacosphenia* Ehrenberg, *Toxarium* J.W.Bailey, относящихся в системе Раунда с соавторами [Round *et al.*, 1990] к семейству *Climacospheniaceae* Round, класс *Fragilariophyceae* Round. В ведущем американском фикологическом журнале "Journal of Phycology" вышли две статьи мэтров диатомологии, в которых утверждался вывод о принадлежности группы *Ardissonea-Climacosphenia-Toxarium* к би- и мультиполярным центрическим диатомовым [Kooistra *et al.*, 2003; Medlin *et al.*, 2008b]. Об этом говорили результаты анализа генетических последовательностей ядерных генов, кодирующих рибосомальную РНК. Все это заставило пересмотреть представление об эволюции

Таблица 12.1 — Количество и поведение гамет (формула гамет), продуцируемых гаметангиями при аллогамном воспроизведении, у представителей некоторых родов пеннатных диатомовых

Род	Вид	Формула гамет	Источник
<i>Achnanthes</i> Bory	<i>A. cf. angustata</i> Grev.	2+2	Chepurnov et al., 2004
	<i>A. javanica</i> f. <i>constricta</i> Grun.	2+(2)	Chepurnov et al., 2004
	<i>A. javanica</i> f. <i>subconstricta</i> Grun.	2+(2)	Mizuno, 1994 ¹
	<i>A. longipes</i> C.Agardh	2+2	Рошин, 1994; Chepurnov, Mann, 1997
<i>Cocconeis</i> Ehrenberg	<i>C. pellucida</i> Grun.	1+(1)	Mizuno, 1998 ²
	<i>C. placentula</i> var. <i>klinoraphis</i> Geitl.	1+1	Fritsch, 1935 ³
	<i>C. placentula</i> var. <i>placentula</i> Ehr.	1+(1)	Edlund, Bixby, 2001
	<i>C. placentula</i> var. <i>pseudolineata</i> Geitl.	1+(1)	Mizuno, Okuda, 1985 ⁴
	<i>C. scutellum</i> var. <i>scutellum</i> Ehr.	1+1	Mizuno, 1987 ⁵
<i>Craticula</i> Grunow	<i>C. cuspidata</i> (Kütz.) D.G.Mann	2+2	Mann, Stickle, 1991 ⁶
	<i>C. halophila</i> (Grun. Ex Van Heurck) D.G.Mann	2+2	Mann, Stickle, 1991
<i>Cymbella</i> C.A.Agardh	<i>C. affinis</i> Kütz.	1(1)+1(1)	Geitler, 1973
	<i>C. aspera</i> (Ehr.) Cleve	1(1)+1(1)	Geitler, 1973
	<i>C. cistula</i> (Ehr.) O.Kirchner	1(1)+1(1)	Geitler, 1973
	<i>C. cymbiformis</i> C.Agardh	1(1)+1(1)	Geitler, 1973
<i>Diploneis</i> Ehrenberg ex Cleve	<i>D. didyma</i> (Ehr.) Ehr.	2+2	Mizuno, 1994

	<i>D. papula</i> (A.W.F.Schmidt) Cleve	2+(2)	Idei et al., 2013 ¹
<i>Eunotia</i> Ehrenberg	<i>E. arcus</i> Ehr.	1+1	Geitler, 1951a ²
	<i>E. bilunaris</i> (Ehr.) Mills	1+1	Mann et al., 2003 ³
	<i>E. flexuosa</i> (Bréb.) Kütz.	1+1	Geitler, 1951b ⁴
	<i>E. formica</i> Ehr.	1+1	Geitler, 1932 ⁵
	<i>E. multiplastidica</i> Mayama	1+1	Mayama, 1992 ⁶
	<i>E. pectinalis</i> (Dillw.) Rabenh.	1+1	Thwaites, 1847 ⁷ ; Smith, 1856 ⁸
	<i>E. pectinalis</i> var. <i>polyplastidica</i> Geitl.	1+1	Geitler, 1958 ⁹
	<i>E. tropica</i> Hustedt	1+1	Idei, 1993 ¹⁰ ; Mann et al., 2003
<i>Haslea</i> Simonsen	<i>H. crucigera</i> (W. Smith) Simonsen	2+2	von Karsten, 1897 ¹¹
	<i>H. karadagensis</i> Davidovich, Gastineau & Mouget	2+2	Davidovich et al., 2012
	<i>H. ostrearia</i> (Bory) Simonsen	2+2	Davidovich et al., 2009
	<i>H. provincialis</i> Gastineau, Hansen & Mouget	2+2	Gastineau et al., 2016
	<i>H. subagnita</i> (Pr.-Lavr.) Makar. et Kar.	2+2	Чепурнов, 1993 ¹²
<i>Licmophora</i> C.A.Agardh	<i>L. abbreviata</i> C.Agardh	2+(2)	Рошин, 1994; Чепурнов, 1997 ¹³
	<i>L. communis</i> (Heib.) Grun.	2+(2)	Chernov, Mann, 2004 ¹⁴
	<i>L. dalmatica</i> (Kütz.) Grun.	2+(2)	Chernov, Mann, 2004
	<i>L. ehrenbergii</i> (Kütz.) Grun.	2+(2)	Чепурнов, 1997
	<i>L. gracilis</i> var. <i>anglica</i> (Kütz) Peragal.	2+(2)	Mann, 1982 ¹⁵
<i>Mastogloia</i> Thwaites ex W.	<i>M. binotata</i> (Grun.) Cleve	2+(2)	Mann, 1993
Smith	<i>M. smithii</i> Thw.	2+(2)	Stickle, 1986
<i>Pseudo-nitzschia</i> H.Peragallo	<i>P. brasiliiana</i> Lundholm, Hasle et G. A. Fryxell	2+(2)	Quijano-Scheggia et al., 2009 ¹⁶

Окончание Таблицы 12.1

	<i>P. calliantha</i> Lundholm, Moestrup & Hasle	2+(2)	Davidovich, Bates, 1998
	<i>P. delicatissima</i> (P.T. Cleve) Heiden	2+(2)	Amato et al., 2003 ¹
	<i>P. fraudulenta</i> (P.T. Cleve) Hasle	2+(2)	Chepurnov et al., 2004
	<i>P. mannii</i> Amato & Montresor	2+(2)	Amato, Montresor, 2008 ²
	<i>P. multiseriis</i> (Hasle) Hasle	2+(2)	Davidovich, Bates, 1998
	<i>P. multistriata</i> (Takano) Takano	2+(2)	D' Alelio et al., 2009 ³
	<i>P. pungens</i> (Grun. ex P.T. Cleve) Hasle	2+(2)	Chepurnov et al., 2005 ⁴
	<i>P. seriata</i> (P.T. Cleve) H. Perag.	2+(2)	Chepurnov et al., 2004b ⁵
	<i>P. subcurvata</i> (Hasle) Hasle	2+(2)	Holtermann et al., 2010 ⁶
<i>Rhabdonema</i>	<i>R. adriaticum</i> Kütz.	2+(2)	von Stosch, 1958 ⁷ , 1962 ⁸
	<i>R. arcuatum</i> (Lyngb.) Kütz.	2+(2)	von Stosch, 1958, 1962 ⁹
	<i>R. minutum</i> Kütz.	2+(2)	von Stosch, 1958 ¹⁰ , 1962 ¹¹
<i>Stauroneis</i> Ehrenberg	<i>S. anceps</i> Ehr.	2+2	Mann, 1996 ¹²
	<i>S. anceps</i> var. <i>siberica</i> Grun.	2+2	Mann, 1996
	<i>S. legumen</i> (Ehr.) Kütz.	2+2	Mann, Stickle, 1995 ¹³
	<i>S. phoenicenteron</i> (Nitzsch.) Ehr.	2+2	Mann, Stickle, 1995
<i>Synedra</i> Ehrenberg	<i>S. amphicephala</i> Kütz.	2+(2)	Geitler, 1958 ¹⁴
	<i>S. rumpens</i> var. <i>fragilarioides</i> Grun.	2+(2)	Geitler, 1952 ¹⁵
<i>Tabularia</i> (Kützing)	<i>T. fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams and Round	2+(2)	Davidovich et al., 2010
D.M.Williams & Round	<i>T. tabulata</i> (C.A. Agardh) Snoeijs	2+(2)	Давидович, Давидович, 2010

Примечание. Формула гамет включает количество гамет, продуцируемых каждым гаметангием, и их поведение (активные гаметы показаны без скобок, пассивные – в скобках). Случаи аутомиксиса и апомиксиса не указаны. В таблицу не включены сборные рода *Navicula* и *Nitzschia*. Сокращения фамилий авторов даны согласно рекомендациям Царенко [Царенко, 2010¹]

пеннатной (удлиненной) формы клеток у диатомовых. Сделано логичное предположение о том, что у диатомовых такая форма возникла дважды. Один раз это привело к появлению биполярных центрических, а второй раз сформировалась монофилетическая группа собственно пеннатных, весьма успешная, которая в настоящее время представлена наибольшим числом видов. Надо сказать, что авторы и сами не были до конца уверены в бесспорности своих выводов, потому что одним из основных заключений работы Медлин с соавторами было следующее [Medlin *et al.*, 2008b, p. 1340]: «Studies of sexual reproduction are needed to determine whether *Ardissonea*, *Climacosphenia*, and *Toxarium* achieve their elongate shape by similar means to each other and to true pennates». Однако, одним из основных препятствий в изучении этой группы была, по их мнению, проблема содержания видов *Ardissonea* и *Climacosphenia* в культуре. Поэтому предлагалось обратить внимание на поиск случаев их воспроизведения в природных популяциях. На самом деле, в природе случаи воспроизведения наблюдаются редко, ввиду краткосрочности и сложностей обнаружения событий [Edlund, Stoermer, 1997]. Тем более проблематично проследить все этапы полового процесса. В отличие от *Ardissonea* и *Climacosphenia*, *Toxarium* оказалось возможным содержать в культуре, однако по истечении нескольких лет наблюдений и экспериментов Л. Медлин с соавторами так и не удалось инициировать половое воспроизведение, клоны оставались в вегетативной фазе [Medlin *et al.*, 2008b].

В классических системах [Hustedt, 1961–1966, Simonsen, 1979] различие делалось между центрическими и пеннатными диатомовыми, последние делились на шовных и бесшовных. Р. Симонсен [Simonsen, 1979] описал филогенетические отношения между семействами, опираясь в основном на данные стратиграфических исследований геологических отложений, репродуктивную и морфологическую информацию, полученную при помощи световой микроскопии, уделяя большое внимание структурным элементам створок. Он сгруппировал диатомовых в 21 семейство, разбив их на два порядка Centrales и Pennales, предполагая, что пеннатные произошли от центрических. В более поздней таксономической схеме Раунда, которая исторически была последней в домолекулярную эпоху, построенной по данным сканирующей электронной микроскопии, центрические, бесшовные и шовные диатомовые приобрели равный таксономический уровень, но все были выведены из пула "Ur-диатомовых" прародителей. Со временем несоответствие классификаций, ориентированных больше на удобство идентификации видов (таксономия), и тех, которые отражают естественные тренды эволюции, и представляют собой монофилетические системы, становилось все более очевидным [Williams & Kociolek, 2007; Williams, 2009a, 2009b]. Введение в практику молекулярных методов привело к нескольким попыткам ревизии

высших таксонов диатомовых на основе молекулярно-филогенетического анализа [например, Kooistra *et al.*, 2003; Medlin, Kaczmarska, 2004; Adl *et al.*, 2005; Medlin *et al.*, 2008a; Theriot *et al.*, 2010], что сделало ситуацию еще более интригующей, обозначив проблему бинарного разбиения на центрические и пеннатные. Приняв за основу рДНК-филогению в совокупности с репродуктивными и цитологическими характеристиками, Л. Медлин и И. Качмарска [Medlin, Kaczmarska, 2004] предложили систему, в которой отдел Bacillariophyta разбит на два подотдела: Coscinodiscophytina, объединяющий радиальных центрических, и Bacillariophytina, объединяющий диатомовых, которые обнаруживают полярность в форме створок. Подотдел Bacillariophytina, в свою очередь, разделен на два класса: Mediophyceae и Bacillariophyceae. Класс Mediophyceae включает би-/мультиполярных центрических и радиальных Thalassiosirales, в то время как пеннатные диатомовые, шовные и бесшовные, объединены в класс Bacillariophyceae.

Позиция *Ardissonaea* De Notaris, *Toxarium* De Notaris и *Climacosphenia* Ehrenberg в этом контексте оказывается весьма любопытной. Представители указанных родов имеют биполярную симметрию и по форме сильно удлинённых клеток напоминают пеннатных диатомей. Далее, их клетки обычно прикрепляются к субстрату одним концом посредством слизистой подушки и могут перемещаться, за счет выделяемой слизи, находясь в вертикальном или наклонном положении [Pickett-Heaps *et al.*, 1991; Kooistra *et al.*, 2003]. Однако, в соответствии с полученными филогенетическими деревьями [Medlin *et al.*, 2008b] *Ardissonaea* образует вместе с *Climacosphenia* и *Toxarium* хорошо поддержанную ветвь, которая достоверно размещается среди центрических диатомовых, в позиции между мультиполярными и биполярными центрическими [Kooistra *et al.*, 2003; Medlin *et al.*, 2008b; Theriot *et al.*, 2010]. Более того, представители этой клады обнаруживают некоторые морфологические черты, приписываемые обычно центрическим диатомовым: наличие множественных хлоропластов, отсутствие щелевидных выростов, явных поровых полей и медианного стернума.

С точки зрения репродуктивной биологии, центрические и пеннатные диатомовые принципиально отличаются по способу полового воспроизведения и типам полового процесса. Центрические одноклеточны, для них типичен гомоталлизм, пол детерминирован эпигенетически. В отличие от центрических, пеннатные раздельнополы, пол детерминирован генетически и гетероталлический путь воспроизведения наиболее характерен. Однако, самым, пожалуй, очевидным является различие типов полового процесса. Все центрические — типично оогамны (за исключением случаев апомиксиса), в то время как у пеннатных наблюдается относительная изогамия и никогда не отмечалось случаев формирования

подвижных жгутиковых сперматозоидов. Приняв во внимание такое принципиальное различие, мы обретаем альтернативный подход к решению вопроса о принадлежности группы *Ardissonaea–Climacosphenia–Toxarium*. Для ряда исследователей опыт инициирования полового воспроизведения у представителей этой группы оказался неудачным, более того, даже само содержание клонов в культуре было проблемным [Medlin *et al.*, 2008b]. Нам удалось получить половое воспроизведение в смешанных посевах клонов *Ardissonaea crystallina* (C. Agardh) Grunow. Детали полового процесса описаны в недавно вышедшей работе [Davidovich *et al.*, 2017]. Следует подчеркнуть, что тип полового процесса у *A. crystallina* не оогамный. Более того, особенности построения перизониума [Kaczmaraska *et al.*, 2018] заставляют согласиться с воззрениями Медлин и Качмарской [Medlin, Kaczmaraska, 2004] об особом статусе Mediophyceae. Судя по данным о воспроизведении, Mediophyceae имеет большее родство с пеннатными диатомовыми, чем с центрическими, что в системе Медлин и Качмарской справедливо подчеркнуто сведением их в один подотдел Bacillariophytina.

Обнаружение неоогамного типа полового процесса среди водорослей, которых относят к центрическим (точнее, полярным центрическим) предполагает два взаимоисключающих объяснения:

1) Появление неоогамного полового процесса у *Ardissonaea* (и, возможно, всех Toxariales) является результатом параллельной эволюции (гомоплазией в широком толковании), т.е. независимом возникновении признаков и свойств у организмов различных таксономических групп при параллельных, независимых эволюционных процессах.

2) Современные представители Toxariales имели общих предков с представителями пеннатных. В настоящее время, из-за ограниченности имеющихся в распоряжении генетических данных — молекулярные последовательности для многих ключевых видов отсутствуют — не удается, однако, построить филогенетические деревья, отражающие более тесное родство токсариид и пеннатных диатомовых.

Завершая данный раздел, представляется важным еще раз обратиться к выводу, сделанному Д.Манном [Mann, 1993a, p. 18]: "Классификация моделей аукоспороборазования имеет большое значение в содействии дискуссии, но ее не следует использовать в качестве основы для систематики". Мы понимаем эту мысль так, что нет особенностей или признаков в типах полового процесса, которые носили бы универсальный характер и были бы применимы для всех сомнительных случаев, равно как и для построения общей системы диатомовых. Здесь, как и в случае использования других критериев (морфология панциря, строение и форма хлоропластов, набор пигментов и проч.), существуют определенные

ограничения, и кроме того, в каждой конкретной ситуации вес или значимость критерия могут меняться. Поэтому, разумным представляется всесторонний подход, при котором сведения о репродукции видов могут оказаться в определенных случаях критически важными для интерпретации филогенетической позиции того или иного таксона. Кроме того, следует отметить крайнюю скудость наших знаний об эволюции самих характеристик, связанных с половым воспроизведением. Например, система Гайтлера [Geitler, 1957, 1973] — это лишь "пробный камень" в осмыслении того, как происходила эволюция типов полового процесса у диатомовых. Ее надо расценивать, в большей мере, как классификацию, удобную с практической точки зрения, включающую, однако, элементы анализа возможных путей эволюции [Mann, 1993a].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В области знаний, которую мы называем "репродуктивная биология диатомовых" накоплен значительный массив фактических данных, написаны обзорные и обобщающие работы [Geitler, 1935; Stosch, 1950; Wiese, 1969; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Рошин, 1994б; Чепурнов, 1997; Edlund & Stoermer, 1997; Давидович, 2002б; Cherpurnov *et al.*, 2004; Mizuno, 2006; Amato, 2010; Mann, 2011], сформировался круг задач и перспективы исследований, зародились новые тенденции [Давидович, 2009]. Сегодня можно говорить о том, что *de facto* сложилось новое направление, отраженное в совокупности научных трудов, пока еще формально не вошедшее в учебные пособия и учебные планы как самостоятельный предмет, но уже заслуживающее отдельного рассмотрения. Объектом исследования этого направления являются диатомовые водоросли, которые представляют мощную монофилетическую и весьма своеобразную эволюционную ветвь. Как уже отмечалось, диатомовые смогли за сравнительно короткий эволюционный период (около 200 млн. лет) достигнуть непревзойденного среди одноклеточных автотрофов видового богатства. Причины этого обсуждаются [Mann *et al.*, 2004; Mann, Vanormelingen, 2013], однако до настоящего времени по этому вопросу нет обоснованных выводов. Принимая во внимание облигатность и исключительную роль полового воспроизведения в жизненном цикле абсолютного большинства диатомовых, мы вправе предположить, что именно в этом направлении следует сосредоточить усилия в поиске причин, объясняющих расцвет этой филогенетической группы. Понимание механизмов эволюции генетических локусов, отвечающих за индукцию полового процесса может привести к логичному объяснению быстрого в эволюционном плане появления репродуктивных барьеров, т.е. по сути формирования межвидовых границ [Goodenough, Heitman, 2014]. Самым "простым" из таких механизмов может быть контроль клеточного цикла и переключение от митоза к мейозу, связанное с синтезом индуцирующих половое воспроизведение феромонов. Благодаря начавшимся в этом направлении исследованиям получены первые многообещающие результаты [Sato *et al.*, 2011; Gillard *et al.*, 2012; Frenkel *et al.*, 2014].

Еще одно направление исследований, которое надо обозначить как весьма перспективное, связано с изучением путей эволюции способов и механизмов детерминации пола. В пределах одной, в целом монофилетической группы диатомовых, мы видим разные проявления способов детерминации пола и соответственно типов полового процесса. У радиальных центральных, считающихся более древними среди диатомовых, пол детерминируется эпигенетически, а половой процесс — типичная

оогамия. В то же время у более молодых пеннатных пол детерминирован генетически, половой процесс относительно изогамный и, в отличие от центрических, гаметы не имеют жгутиков. Недавно обнаруженный нами неоогамный способ гетероталлического воспроизведения у *Ardissonea crystallina* [Davidovich *et al.*, 2016; Davidovich *et al.*, 2017] — представителя радиальных центрических — ставит вопрос о параллельной и независимой эволюции типов полового процесса у видов, находящихся на концах филогенетически глубоко разделенных ветвей эволюционного древа. Более того, вместе с изменением типа полового процесса у *A. crystallina* радикальным образом изменился способ детерминации пола — вместо эпигенетического он стал генетическим. В системе скрещивания доминирующим стал гетероталлический путь. Таким образом, полученные данные актуализируют изучение эволюции механизмов детерминации пола, как общебиологического явления, используя для этого представителей Toxariales.

Наличие пола и полового воспроизведения у эукариот относится к тем фундаментальным вопросам биологии, которые до настоящего времени не нашли исчерпывающего объяснения. Более того, ряд обобщений, например, о путях эволюции пола, полового процесса, механизмов детерминации пола невозможно сделать без учета данных, полученных для диатомовых водорослей. Несомненная эволюционная успешность группы заставляет искать объяснения, и как нам представляется, не в последнюю очередь этот успех связан с половым воспроизведением и формированием репродуктивных барьеров. Диатомовые, могут представлять модельную группу для поиска ответа на вопрос о том, какова последовательность эволюционных преобразований в тандеме анизогамия–типы скрещивания, и в целом для объяснения причин проявления диморфизма гамет.

Со способом детерминации пола у диатомовых тесно связана такая общебиологическая проблема, как во многом еще неясная эволюционная история эпигенетических механизмов. Недавний прогресс, достигнутый в эпигенетических исследованиях, обнаружил проявление эпигенетических особенностей у глубоко в эволюционном плане расходящихся групп организмов, включая Stramenopiles, растений и животных. Диатомовые, отдаленно связанные с другими супергруппами эукариот, сохраняют некоторые из эпигенетических механизмов, обнаруженные у млекопитающих и растений, что указывает на их фундаментальную роль в формировании геномов видов в разных временных масштабах эволюции [Rastogi *et al.*, 2015]. Обладая уникальным различием способов детерминации пола — у центрических, как уже неоднократно упоминалось, наблюдается эпигенетическая регуляция пола, а у пеннатных он

предопределен генетически — диатомовые могут выступить в качестве модельной группы, которая поможет понять эволюционную историю эпигенетической регуляции.

Понятие пола включает в себя два фундаментальных явления: половой процесс (обеспечивающий слияние генетической информации двух клеток) и половую дифференциацию (разделение этой информации на две части) [Геодакян, 2000]. Половой процесс и половая дифференциация — это разные явления и, по сути, они диаметрально противоположны. Первое создает (увеличивает) разнообразие генотипов, а второе уменьшает его вдвое. В зависимости от выраженности этих явлений организмы можно разделить на бесполое, обоеполое (гермафродитные) и раздельнополое (двудомные). Репродуктивным преимуществом бесполой формы является количество потомства, преимущество гермафродитных форм — в максимальном разнообразии. Переход от гермафродитизма к двудомному состоянию приводит к потере, по меньшей мере, половины разнообразия. Следовательно, главный вопрос заключается не в том, чтобы объяснить преимущества сексуальных форм (гермафродитизм + двудомность) над бесполоыми, а в том, чтобы показать эволюционные преимущества сексуальной дифференциации, то есть преимущества существования двух отдельных полов, по сравнению с гермафродитами. Здесь опять уместно обратиться к теории В.А. Геодакяна [Геодакян, 1965, 2000], и диатомовые в этом отношении могут выступить модельной группой, поскольку у них представлен весь спектр репродуктивных отношений.

Биогеографические исследования последнего десятилетия показали, что в природе одновременно с видами-космополитами [Casteleyn *et al.*, 2008; Evans *et al.*, 2009; Poulíčková *et al.*, 2010] существуют виды, ареал которых в большей или меньшей степени ограничен [Vyverman *et al.*, 2007; Kooistra *et al.*, 2008]. У диатомовых водорослей, в связи со сложностью их дифференциации по морфологическим или генетическим признакам, способность к скрещиванию клонов из разных популяций выступает важным доказательством принадлежности к виду и может быть подтверждена только путем непосредственного эксперимента. Поэтому в разворачивающихся во все больших масштабах биогеографических исследованиях эксперименты по скрещиванию и связанные с этим исследования в области репродукции диатомовых должны быть, на наш взгляд, не просто желательными, а крайне необходимыми. Тесным образом с биогеографией связаны исследования в области филогеографии, к которым диатомологи практически еще не приступили. Подтвержденный нами механизм унипарентального наследования митохондриальных генетических маркеров открывает возможность для оценки генетических дистанций между удаленными популяциями и реконструкции их расселения.

Как уже отмечено выше, методы репродуктивной биологии крайне эффективны при изучении криптических комплексов, видов двойников. В отношении диатомовых отдельные примеры таких исследований можно привести [например, Amato *et al.*, 2007], однако, степень использования такого подхода пока крайне низка. Возможность переноса признаков в поколениях также определяется у большинства видов диатомовых репродуктивной совместимостью клонов. Отбирая пробы в природе, особенно из популяций, далеко расположенных друг от друга, нельзя быть уверенным в аутентичности искомым видам. В связи с этим, а также учитывая существование криптических комплексов, выделение отдельных видов из природных проб иногда становится проблематичным [Amato *et al.*, 2007, Rimet *et al.*, 2014].

Перспективными и важными представляются исследования в области репродуктивной биологии, связанные с практическим культивированием диатомовых. Несмотря на огромное видовое разнообразие, в настоящее время всего лишь несколько видов диатомовых используют для массового культивирования. Одним из существенных препятствий, которое тормозит прогресс в освоении и эксплуатации новых объектов культивирования, является очень низкий уровень знаний, касающихся их биологии воспроизведения, и в частности жизненных циклов, систем скрещивания и процесса полового воспроизведения. Эффективным и целесообразным, имеющим наибольший технологический и производственный потенциал, представляется содержание культур в виде клонов (штаммов). При этом подразумевается решение двух задач: во-первых, получение (выделение из природной среды, селекция, генетическое конструирование) наиболее эффективных генетических линий и, во-вторых, длительное содержание штаммов в культуре без изменения их генетической чистоты.

Использование тех или иных микроорганизмов в культуре предполагает реализацию следующих этапов: 1) выделение отдельных штаммов из природной среды, 2) определение условий, оптимизирующих рост организмов и продукцию искомым веществ, 3) изменение свойств культивируемых организмов путем изменения их генетических характеристик, 4) поддержание в культуре измененных организмов без потери приобретенных ими свойств.

Изменить свойства культивируемых организмов можно несколькими путями. Прежде всего, это классическая селекция с использованием скрещивания как основного механизма изменения генетического разнообразия. На каком-то этапе эффективным признавался мутагенез с использованием химических и радиационных мутагенных факторов. В настоящее время значительный прогресс достигнут в манипуляциях на молекулярно-генетическом уровне (генная инженерия). У диатомовых это касается, например,

генетической трансформации, направленной на приобретение устойчивости к антибиотикам [Apt *et al.*, 1996], изменение структуры кремнеземной клеточной стенки [Poulsen *et al.*, 2006, 2007] и прочее.

В природе сохраняется генетическая чистота вида. Для этого существует, во-первых, репродуктивный барьер, препятствующий скрещиванию неродственных форм и действующий на всех уровнях от молекулярного до популяционного. Во-вторых, на внутриклеточном и молекулярном уровнях работает механизм репарации “поврежденных” по разным причинам молекул — носителей наследственной информации. Особенно эффективно это происходит при половом воспроизведении.

Методами генной инженерии удастся преодолеть репродуктивный барьер между видами, внедрив часть генетического материала, полученного от вида-донора, виду-реципиенту. Однако любой ген-модифицированный организм (клон) может утратить свои “ценные” свойства после скрещивания с другими клонами или внутриклонового воспроизведения, поэтому представления о жизненном цикле и месте полового воспроизведения в нем являются критически важными для поддержания в культуре экономически эффективных объектов, в частности полученных путем генной инженерии.

Несмотря на успехи генной инженерии и возможности генной модификации и трансгеноза, всякий биотехнологический процесс по-прежнему требует предварительной разработки методов культивирования представителей конкретного вида. Вид является носителем определенного генетического набора, распределенного среди всех представителей этого вида. Выделение одного или нескольких представителей из одной или нескольких популяций не гарантирует того, что будет найден объект, наиболее удачный для культивирования. Кроме того, с точки зрения классической генетики, предполагающей скрещивание и селекцию организмов, представляется весьма целесообразным использование нескольких генетических линий конкретного вида. В связи с этим на первый план выходит задача установления видовых границ.

Поэтому для последующего использования в биотехнологических целях оправданным будет сбор и введение в культуру нескольких клонов (генетически однородных линий) из разных мест обитания вида. Это даст возможность отобрать наиболее продуктивные, устойчивые и, помимо того, репродуктивно совместимые клоны, что обеспечит возможность дальнейшей селекции.

Таким образом, в репродуктивной биологии диатомовых водорослей сложилось, несколько направлений, каждое из них можно оценить как весьма перспективное в плане получения новых знаний. Традиционным и в то же время до конца не исчерпанным

остается изучение жизненных циклов, включающее установление характерных для вида максимальных и минимальных размеров, определение размерного диапазона, при котором возможна сексуальная индукция, определение скорости изменения размеров клеток, продолжительности отдельных фаз и общей продолжительности жизненного цикла. Все это требует долговременной, иногда многолетней работы с культурами. По-прежнему актуальным остается изучение процесса полового воспроизведения у разных видов диатомовых. Поле деятельности здесь огромное, половое воспроизведение наблюдалось и в разной мере описано у сравнительно небольшого числа (как уже сказано, менее трехсот) из десятков тысяч известных видов диатомовых. Описание типов полового процесса, изучение цитологических особенностей гаметогенеза и аукоспоробразования, механизма движения гамет возможно при работе с живыми пробами, но предпочтительней проводить с культурами водорослей. Система скрещивания видов, включающая возможные пути воспроизведения (гомо- и гетероталлический) — еще одно важное направление исследований, которые можно выполнить только при наличии клоновых культур. Актуальная задача — изучение генетических основ определения и проявления пола у диатомовых. С полом связано наследование отдельных органелл, в частности, митохондрий; исследования диатомовых в этом направлении только начинаются. Наряду с изучением биоразнообразия локальных акваторий, представляется перспективным изучение генетических, морфологических особенностей и репродукции отдельных видов диатомовых, полученных из разных мест Мирового океана. Используя принципы репродуктивной биологии, мы получаем надежную основу для изучения ареалов отдельных видов. Согласно биологической концепции вида, видовые границы, по сути, представлены биологическими репродуктивными барьерами. Их можно в ряде случаев установить экспериментально, что дает материал не только для таксономической идентификации и разграничения видов, но и биогеографического анализа. Установленный нами факт унипарентального наследования митохондрий дает надежную основу для филогеографии и реконструкции географического расселения популяций. Использование репродуктивных границ для идентификации и описания видов соответствует мировой тенденции в этом вопросе, определяющейся во многом работами Д.Г. Манна и его последователей [например, Mann *et al.*, 2004], и отраженной в современных обзорных статьях [Amato, 2010; Mann, 2010]. Репродуктивные границы, наряду с морфологическими и генетическими различиями, выступают третьим краеугольным камнем таксономии диатомовых. Диатомовые — быстро эволюционирующая группа организмов. Изучение репродукции диатомовых, несомненно, позволит пролить свет на многие вопросы,

касающиеся их эволюции. В практической деятельности, сталкиваясь с вопросами, связанными с содержанием, эффективным культивированием, прогнозируемым и управляемым прохождением жизненного цикла, генетическими и селекционными работами с диатомовыми, специалисты все чаще вынуждены обращаться к принципиальным знаниям о биологии их воспроизведения.

Исследования, связанные с полом и половым воспроизведением диатомовых водорослей, продолжаются уже три столетия. За это время накоплен значительный фактический материал, разработаны соответствующие методы и подходы, представлены для обсуждения некоторые концепции, сложилась специфическая терминология, опубликовано порядка тысячи работ — все это в совокупности позволяет говорить о том, что сформировалось самостоятельное направление, имеющее конкретный предмет и объекты исследования, располагающее определенной методологией. Анализ сведений, имеющихся в публикациях и полученных самостоятельно, позволил нам структурировать эту область знаний, которую мы определяем как репродуктивная биология диатомовых, обозначив отдельные, более узкие направления исследований, соответствующие основным разделам диссертации.

Полученные данные, установленные закономерности, обобщения имеют смысл не только в рамках репродуктивной биологии диатомовых. Они имеют потенциал гораздо более широкого применения, и, несомненно, окажутся востребованными теми, кто занимается таксономией, систематикой, биогеографией, филогенией, эволюцией диатомовых, их практическим биотехнологическим использованием.

В завершение следует сказать, что, несмотря на столетнюю историю, репродуктивная биология диатомовых как направление исследований далеко не исчерпала себя. Об этом свидетельствует экспоненциально нарастающее количество публикаций по теме и появление новых задач, связанных с решением фундаментальных и прикладных вопросов.

ВЫВОДЫ

- 1) У диатомовых процесс полового воспроизведения, рассматриваемый во всей совокупности цитологических проявлений, а в некоторых случаях отдельные его детали являются достаточно надежной родоспецифической характеристикой.
- 2) Общая тенденция эволюции типов полового процесса у диатомовых — от оогамии у центрических к изогамии у пеннатных — сопряжена с изменением характера детерминации пола. У центрических пол детерминируется эпигенетически, у пеннатных — генетически. Нами установлено, что пол у исследованных пеннатных диатомовых (*Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow, *N. rectilonga* Takano, *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) Williams and Round, *T. tabulata* (C.A. Agardh) Snoeijjs; *Ulnaria ulna* (Nitzsch) P. Compère) детерминирован диплогенотипически и у мужских клонов является гетерогаметным, а у женских — гомогаметным по половым факторам.
- 3) Изменение фаз жизненного цикла диатомовых сопряжено с изменением размеров клеток. На представительной выборке из 65 видов показано, что критическая граница перехода из дорепродуктивной в репродуктивную фазу у большинства из них лежит на уровне 50% от максимального видоспецифического размера. Это означает, что максимальные и минимальные размеры клеток в диапазоне размеров, характерных для вида, должны различаться как минимум вдвое.
- 4) Установлено, что у некоторых видов (в частности, *Tabularia fasciculata*, *T. tabulata*) размер инициальных клеток зависит от размера родительских, поэтому потенциальная продолжительность жизненного цикла у таких видов также будет зависеть от размера родительских клеток.
- 5) Различия между видами по средним скоростям уменьшения размеров и диапазонам размеров клеток в жизненном цикле более полутора порядков, в то же время относительная скорость уменьшения размеров (по отношению к общему диапазону), расчетная продолжительность всей жизненной истории и расчетная продолжительность дорепродуктивной фазы различаются всего в 3–3,5 раза.
- 6) В природных популяциях у большинства исследованных нами видов пеннатных диатомовых чаще всего наблюдается полимодальное распределение длины клеток с очевидным доминированием по численности классов со средними размерами, соответствующими репродуктивной фазе жизненного цикла.

- 7) Репродуктивная совместимость может быть обнаружена между клонами, существенно различающимися по морфологическим и/или генетическим признакам (продемонстрировано на примере *T. fasciculata*), и в то же время, клоны, воспринимающиеся по морфологическим критериям как принадлежащие одному виду, могут быть репродуктивно изолированными (например, комплекс *Nitzschia "rectilonga"*). Критерий репродуктивной совместимости/изоляции, который является одним из основных при решении спорных вопросов делимитации видов, следует признать действенным в отношении диатомовых, в том числе при изучении комплексов криптических видов.
- 8) Для ряда видов (*Haslea ostrearia* (Bory) Simonsen, *N. longissima*, *Nitzschia ventricosa* Kitton, *T. fasciculata*) показана репродуктивная совместимость популяций, находящихся друг от друга на расстоянии нескольких тысяч километров.
- 9) При сохранении возможности гибридизации в первом поколении, установлена репродуктивная изоляция западно- и восточноевразийских популяций во втором поколении, что свидетельствует о наметившемся/завершающемся разделении *U. ulna* на Евразийском континенте на два новых вида.
- 10) Наследование митохондрий у раздельнополых диатомовых (установлено на примере *H. ostrearia*) связано с полом и носит унипарентальный характер. Пока неясно по линии какого пола передаются митохондрии.
- 11) Проблема доставки гамет к месту сингамии у ряда неподвижных бесшовных пеннатных диатомовых (*T. fasciculata*, *T. tabulata*, *Ulnaria acus* (Kützing) M. Aboal, *U. ulna*) решается за счет вновь открытого типа движения гамет, ранее у эукариот не описанного. Этот тип движения связан с периодическим формированием на поверхности гамет тонких длинных цитоплазматических выростов, напоминающих аксоподии.
- 12) Открыт неоогамный тип полового процесса у гетероталлически воспроизводящегося представителя полярных центральных (*Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow), что свидетельствует о возможности конвергентной (по отношению к пеннатным диатомовым) эволюции независимых филогенетических ветвей, приводящей к потере жгутиковых сперматозоидов, переходу от оогамии к изогамии, изменению системы скрещивания (гомоталлизм заменяется гетероталлизмом) и смене характера детерминации пола (эпигенетическая детерминация замещается генетической).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДИК	– дифференциально-интерференционный контраст
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
НИР	– научно-исследовательская работа
СМ	– световая микроскопия
СЭМ	– сканирующая электронная микроскопия
dH ₂ O	– дистиллированная вода
и др.	– и другие
кл.	– клетка (клеток)
рис.	– рисунок
см.	– смотри
табл.	– таблица
<i>et al.</i>	– (латинское " <i>et alia</i> ") и другие
<i>in prep.</i>	– (английское " <i>in preparation</i> ") в подготовке
<i>N</i>	– число измерений
<i>rbcL</i>	– ген хлоропластной ДНК, кодирующий большую субъединицу рибулозы-1,5-бифосфат карбоксилазы/оксигеназы
♂	– принадлежность к мужскому полу
♀	– принадлежность к женскому полу

Единицы измерения

делений·сут ⁻¹	– делений в сутки
кл·мм ²	– число клеток на квадратный миллиметр
клк	– килолюкс (освещённость)
мкм	– микрометр
Моль·м ⁻² ·с ⁻¹	– моль квантов света на квадратный метр в секунду (мкМоль – микромоль)

ТЕРМИНОЛОГИЯ ПО РЕПРОДУКТИВНОЙ БИОЛОГИИ ДИАТОМОВЫХ

К настоящему времени в области репродуктивной биологии диатомовых накопился существенный запас терминов. Ряд из них имеют общебиологический смысл, хотя при этом требуют уточнений в применении к диатомовым; многие специфичны для данной группы. Половое воспроизведение имеет свои особенности, характеризующие каждую группу эукариотических организмов, поэтому возникает потребность в определении терминов для каждой из них. В отношении диатомовых терминология, касающаяся их полового воспроизведения, стала складываться, начиная с середины 19 века [Thwaites, 1847; Griffith, 1855; Smith, 1853, 1856; Carter, 1856, 1865; Pritchard, 1861; Lüders, 1862]. Многие термины, употреблявшиеся в то время, кажутся сегодня непривычными, например, процесс полового воспроизведения описывался исключительно как "конъюгация", а ауксоспоры назывались "спорангиями". В недавних обзорах и монографиях можно встретить солидный понятийный аппарат [Geitler, 1973; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Mann, 1993a; Edlund, Stoermer, 1997; Chepurnov *et al.*, 2004; Mann *et al.*, 2004; Amato, 2010; Montresor *et al.*, 2016]. В русскоязычной литературе последние работы, в которых более-менее основательно рассматривалось употребление терминов по воспроизведению диатомовых, относятся к середине прошлого века или чуть более позднему периоду [Диатомовый анализ, 1950; Прошкина-Лавренко, 1955; 1963; Диатомовые водоросли СССР, 1974]. Очень кратко рассмотрено половое воспроизведение диатомовых в справочнике "Водоросли" [Вассер и др., 1989] и немногих других, более поздних пособиях, чаще всего учебного плана. Учитывая современное состояние знаний в этой области, можно отметить, что некоторые трактовки и определения, приведенные в указанных работах, сейчас представляется устаревшими, а иногда и ошибочными (например, понятие о так называемых "микроспорах"). В англоязычной (и мировой) литературе последней, наиболее полной, можно сказать, исчерпывающей сводкой по терминологии, касающейся репродукции диатомовых, следует признать недавно вышедшую работу И. Качмарской с соавторами [Kaczmarska *et al.*, 2013]. В русскоязычной литературе современные аналоги, к сожалению, отсутствуют.

Образование половых клеток, как правило, связано с прохождением мейоза на каком-то из этапов жизненного цикла организма (клона). У диатомовых жизненный цикл диплобионтный с гаметической редукцией, это означает, что в нем доминирует диплоидная фаза; гаплоидны гаметы, которые существуют относительно короткое время.

У диатомовых жизненный цикл простой, смена поколений отсутствует, поэтому под жизненным циклом у диатомовых обычно понимается последовательность состояний клона в онтогенезе. Чаще всего началом жизненного цикла считают момент появления инициальной клетки; заканчивается жизненный цикл клона с исчезновением последней вегетативной клетки. Встречается иная трактовка жизненного цикла, как последовательности событий от формирования инициальной клетки до инициальной клетки в следующем поколении. При таком понимании продолжительность жизненного цикла будет различной для клеток одного клона, она будет зависеть от момента вступления клеток в процесс полового воспроизведения. Если вслед за репродуктивной фазой возможна пострепродуктивная фаза — ее отношение к жизненному циклу можно охарактеризовать только в рамках первой приведенной трактовки.

Некоторая противоречивость в понимании терминов может возникнуть между диатомологами и микологами. Так, в частности, в микологии под гаметангиогамией, подразумевается процесс слияния недифференцированных на гаметы гаметангиев. В случае диатомей речь идет о формировании пар клеток-гаметангиев, в каждой из которых затем формируются гаметы. Специалисты, занимающиеся изучением пола, принципов его детерминации и эволюции у широкого спектра организмов [Beukeboom, Perrin, 2014], также считают, что в случае с диатомовыми, более корректным было бы употребление термина "гаметоцит" вместо термина "гаметангий". Однако на практике термин гаметангий (гаметангиальная клетка, клетка-гаметангий) закрепился в области репродуктивной биологии [Cherurnov *et al.*, 2004] и используется для обозначения обычной (неспециализированной) клетки, участвующей в процессе полового воспроизведения, в ходе которого в ней осуществляется мейоз и формируются гаметы.

Может вызвать возражение описание генетической сущности пола. В микологии привычно использование понятия скрещивающегося типа (mt, mating type). Считается, что генетически определяется не пол, а тип спаривания. Допускается существование не только двух, а гораздо большего числа типов спаривания. Очень часто, в том числе и диатомологи, говоря о поле, подразумевают исключительно морфологические (поведенческие) различия [Kaczmarzka *et al.*, 2013]. Вместе с тем, если углубиться до генетической основы пола, то можно показать, что генетическая конструкция атрибутивна полу, определенному морфологически. Так, изучив схемы наследования пола у цис-анизогамных бесшовных пеннатных *Tabularia fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2010], *T. tabulata* [Давидович, Давидович, 2010], *Ulnaria ulna* [Podunay *et al.*, 2014] и шовных пеннатных *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* [Давидович, 2002а, 2005а], мы нашли, что

мужской пол (принадлежность установлена по активному поведению и соответствующей морфологии гамет) является гетерогаметным, а женский (имеющий пассивные гаметы, остающиеся в створках клеток-гаметангиев) — гомогаметным.

В случае, когда в клетках-гаметангиях формируются одна подвижная и одна неподвижная гаметы (транс-анизогамные виды), морфологическая трактовка пола заставляет говорить о гермафродитизме или косексуальности клеток [Kaczmarska *et al.*, 2013], подразумевая тем самым наличие пола у гамет. Однако, при скрещивании клонов транс-анизогамных видов выясняется, что существует два комплементарных половых типа, более того, маловероятно, что каждая из двух гамет выделяет свой (присущий определенному полу) тип феромонов; более вероятно (судя по спариванию клеток-гаметангиев), что тип феромонов связан с половым типом гаметоцитов, а не гамет [Mann, Черупнов, 2005]. Иными словами, можно вести речь о наличии пола у клона, а не у гамет, причем пол у клона — в случае диплогенотипической детерминации — будет определяться генетически. В случае морфологических различий гамет важно помнить, что не всегда размер или характер активности гамет служит идентификатором пола. В отсутствие внешних проявлений пола и представлений о генетической схеме половой детерминации допустимо говорить о скрещивающихся типах. Генетическую основу пола транс-анизогамных видов еще предстоит познать.

Незначительные расхождения существуют между нашим пониманием внутриклонового и гомоталлического воспроизведения и тем, как их определяют И. Качмарска с соавторами [Kaczmarska *et al.*, 2013]. Для нас эти два термина синонимичны, наши зарубежные коллеги считают, что гомоталлическое воспроизведение может быть только аллогамным, в то время, как внутриклоновое воспроизведение допускает как аллогамию, так и аутомиксис.

В отношении некоторых терминов в настоящее время ведутся дискуссии. Например, И. Качмарска с соавторами рекомендовала отказаться от понятия проперезониум, объединив его с перезониумом [Kaczmarska *et al.*, 2013]. Л. Медлин, напротив, считает, что оба термина следует оставить [Medlin, 2016], поскольку, несмотря на то, что структура кремнеземных элементов в виде колец похожа, их организация и расположение заметно отличаются в двух группах: у базальной линии (basal lineage) бесшовных (т.е. полярных центрических), и у центральной линии (core lineage) бесшовных (т.е. бесшовных пеннатных), что, несомненно, филогенетически информативно.

Еще одно пояснение, которое необходимо сделать, касается терминов "клон" и "штамм". Эти термины можно считать синонимами, однако, в нашем понимании между

ними существует небольшое различие. Клон, по определению, — это потомство одной клетки, полученное в результате неполового размножения, причем у одноклеточных клон существует чаще всего диффузно, как совокупность всех клеток, которые находятся в отрыве друг от друга, хотя могут в иных случаях формировать колонии. Клон следует воспринимать как все потомство одной клетки. У диатомовых у всякого клона есть инициальная (начальная) клетка с уникальной, присущей только ей генетической комбинацией, получившейся в результате полового воспроизведения. Генотип всех клеток клона абсолютно идентичен, если только не происходит какая-нибудь мутация (событие, заметим, достаточно редкое). Выделяя инициальную клетку, мы начинаем изучение клона с самого начала. Выделяя одну случайную клетку из природной популяции, мы получаем субклон, но учитывая генетическую идентичность, подразумеваем, что эта клетка (субклон) представляет собой клон, существующий в природе, с такими же (прежде всего генетическими) характеристиками. Штамм, в нашем понимании, — это тоже "субклон". Однако о клоне мы говорим как о существующей в природе реальности, в то время как штамм — в значительной мере субъективная выборка, воплощенная в конкретной лабораторной культуре, он существует только в лаборатории. Главная особенность штамма, ради которой его культивируют, часто с целью практического использования, — определенные физиолого-биохимические свойства, и только затем речь идет о генетической композиции. У бактерий и многих других микроорганизмов, включая водоросли, половое воспроизведение не является обязательным и столь частым в жизненном цикле, как у диатомовых, и у них не прослеживается та инициальная клетка, от которой начинается собственная генетическая история. Штамм — это "срез" в генетической истории, которая не связана так тесно как у диатомовых с половым воспроизведением и рекомбинацией генов. Отметим, что термин "клон" гораздо шире распространен в диатомологической литературе, чем "штамм" (см., например [Edlund, Stoermer, 1997; Chepurnov *et al.*, 2004; Amato, 2010; Kaczmarek *et al.*, 2013]).

Очевидно, что важнейшим принципом всякой терминологии является согласованное понимание отдельных терминов всеми специалистами. Также очевидно, что добиться этого на практике очень сложно, всегда существуют варианты трактовок и даже противоречивые мнения. Поэтому ниже мы приводим словарь основных терминов в том современном понимании, которое сформировалось среди диатомологов, работающих на Карадаге [Давидович, 2017]. Термины относятся к таким вопросам репродуктивной биологии диатомовых, как жизненные циклы, половой процесс, система скрещивания, пол (включая вопросы детерминации и наследования пола, а также наследования, связанного с

полом), половое воспроизведение. Термины представлены в алфавитном порядке, указаны синонимы, даны англоязычные эквиваленты. В случае синонимов описание значения дается для термина, следующего первым по алфавиту.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

- автогамия** (= аутогамия) — autogamy : Форма автомиксиса, при которой в одной клетке-гаметангии в результате ацитокинетического мейоза (без образования гамет) формируются гаплоидные ядра, которые сливаются; образуется зигота, затем ауксоспора.
- автомиксис** (= аутомиксис) — automixis : Способ полового воспроизведения, при котором зигота образуется за счет слияния гамет (педогамия) или гаплоидных ядер (автогамия), сформировавшихся в одной клетке-гаметангии. А. обеспечивает крайнюю степень инбридинга.
- аксеничная культура** — axenic culture : Моновидовая культура (одного вида), свободная от других живых организмов, в том числе бактерий, грибов, вирусов.
- аллогамия** — allogamy : Участие в половом процессе двух клеток-гаметангиев, независимо от того, происходят они из одного (гейтоногамия) или разных клонов (ксеногамия), т.е. генетически идентичны или различаются.
- алломиксис** — allomixis : Слияние гамет, сформированных в разных клетках-гаметангиях; по определению алломиксис подразумевает бипарентальное ауксоспорообразование.
- альгологически чистая** (= моновидовая, одновидовая) **культура** — algologically pure (unialgal) culture : Культура одного вида водоросли, в которой возможно присутствие других живых организмов, в том числе простейших, бактерий, грибов, вирусов, но не допускается присутствие других видов водорослей.
- амфимиксис** — amphimixis : Половое воспроизведение, при котором новый организм образуется путем слияния отцовской и материнской гамет.
- андромиксис** — andromixis : Половое воспроизведение в случае гетероталлической системы скрещивания, когда один из полов (мужской) способен воспроизводиться гомоталлически, но аллогамно.
- анизогамия** (= гетерогамия) — anisogamy : Различие гамет по размеру, форме и/или поведению; различают соответственно размерную, морфологическую и поведенческую (физиологическую) анизогамию (гетерогамию).
- анизометрическое расширение** — anisometric expansion : Характер роста ауксоспоры, неравномерный во все стороны, например, би- или мультиполярный.
- апомиксис** — apomixis : Ауксоспоруляция, при которой формирование ауккоспор внешне выглядит как и в случае алло- или аутомиктической ауксоспоруляции, но при этом мейоз замещен псевдомейозом (процессом, напоминающим мейотическую профазу, но без

уменьшения ploидности), сопровождающимся митотическим делением или дифференциацией псевдозиготы из диплоидной вегетативной клетки. А., хотя и связан с формированием аукоспор, по сути, не является половым воспроизведением.

асексуальная аукоспоруляция (= бесполоя аукоспоруляция, вегетативное аукоспорообразование) — asexual auxosporulation : Образование клеток, способных увеличиваться в размерах подобно аукоспорам, не связанное с половым процессом. Термин спорный с той точки зрения, что аукоспора — следующий этап развития клетки после зиготы — является, по сути, продуктом полового воспроизведения. См. также Вегетативное укрупнение клеток.

аукоспора — auxospore : Растущая клетка (в первоначальном понимании «прорастающая спора»). Клетка на этапе от момента, когда зигота трогается в рост, до момента, когда внутри нее заканчивается формирование инициальной клетки. Обычно аукоспоры являются результатом полового воспроизведения, однако в ряде случаев рассматривают асексуальное формирование аукоспор.

аукоспорообразование (= аукоспоруляция) — auxospore formation : Процесс формирования аукоспор.

аукоспоруляция — auxosporulation : См. Аукоспорообразование.

аутбридинг — outbreeding : Неродственное скрещивание.

аутогамия — autogamy : См. Аутогамия.

аутомиксис — automixis — См. Аутомиксис.

ацитокинетический мейоз — acytokinetic meiosis : Мейоз, не сопровождающийся цитокинезом (делением протопласта). А.м. наблюдают при аутогамном воспроизведении.

ацитокинетический митоз — acytokinetic mitosis : Митотическое деление ядра, не сопровождающееся делением клетки. Наблюдают в ряде случаев в процессе гаметогенеза. Формирование тек панциря инициальной клетки сопровождается А.м.

бесполоя аукоспоруляция — asexual auxosporulation : См. Асексуальная аукоспоруляция.

бипарентальный (= двуродительский) — biparental : Происходящий от обоих родителей.

бипарентальное аукоспорообразование — biparental auxosporulation : Процесс формирования аукоспор, в котором участвуют два клона, комплементарные (противоположные) по полу (половому типу). Некоторые авторы (например, Kaczmarek *et al.*, 2013) определяют бипарентальную аукоспоруляцию как процесс формирования аукоспор в результате слияния гамет, произошедших из двух родительских клеток, а не клонов, т. е. аукоспоруляцию в результате алломиксиса.

биполярное расширение — bipolar expansion : Характер роста ауксоспоры, рост происходит по одной оси в противоположных направлениях.

бисексуальные клоны — bisexual clones : Клоны, которые проявляют пол (тип скрещивания) того или иного рода в зависимости от пола полового партнера, с которым они взаимодействуют. Способ детерминации пола в таких случаях неясен.

вегетативная фаза (период) жизненного цикла (= дорепродуктивная фаза (период) жизненного цикла) : Начальная фаза жизненного цикла от максимальных размеров клеток до верхней границы сексуального диапазона; в течение В.ф.ж.ц. происходит исключительно вегетативное деление клеток.

вегетативное ауксоспорообразование — vegetative auxosporulation : См. Асексуальная ауксоспоруляция.

вегетативное деление — vegetative division : Процесс деления клетки, сопровождаемый митозом.

вегетативное размножение — vegetative propagation : Размножение путем вегетативного (бесполого) деления клеток.

вегетативное укрупнение клеток — vegetative cell enlargement : Неполовой путь восстановления размеров. Протопласт клетки выходит из панциря и увеличивается в размерах, при этом правильная ауккоспора не формируется, и размер клетки увеличивается не столь существенно, как при нормальном ауккоспорообразовании. Иногда В.у.к. называют асексуальным (вегетативным) ауккоспорообразованием, однако детальные цитологические исследования на предмет формирования перизониума или иных структур, характерных для ауккоспор, и в том и в другом случае отсутствуют. В.у.к. отмечают нечасто и лишь у некоторых видов.

верхняя граница размерного диапазона ауккоспорообразования — upper sexual size threshold : Верхняя граница размерного диапазона клеток, соответствующего репродуктивной фазе жизненного цикла.

внутриклоновое воспроизведение (= гомоталлическое воспроизведение) — intraclonal reproduction : Воспроизведение, происходящее в клоне, без участия других клонов; может быть как аллогамным, так и аутомиктическим. Некоторые авторы считают, что гомоталлическое воспроизведение подразумевает исключительно аллогамию (хотя и внутриклоновую), а В.в. рассматривают более широко, включая аутомиксис.

воспроизведение (= репродукция) — reproduction : Биологический процесс посредством и в результате которого новые организмы — потомство — порождается их родителями.

Существует две формы репродукции (воспроизведения): асексуальная (бесполая) и сексуальная (половая).

гамета — gamete : Половая клетка с гаплоидным набором хромосом; у диатомовых водорослей (и у других диплобионтов) образуется в результате мейоза.

гаметангиальная клетка (= гаметангий, гаметоцит) — gametangial cell : Клетка, в которой происходит формирование гамет; у диатомовых водорослей (как у всех диплобионтов) гаметы формируются в результате мейоза.

гаметангиальная пара — gametangial pair : Пара клеток-гаметангиев, выступающая в роли половых партнеров. Формирование Г.п. характерно для шовных пеннатных диатомовых, у которых клетки подвижны, и половые партнеры могут сблизиться (процесс взаимодействия регулируется выделяемыми феромонами). Может наблюдаться и у бесшовных (например, *Licmophora*), когда формирование Г.п. происходит за счет случайного расположения клеток в непосредственной близости, позволяющей клеткам осуществить необходимый контакт. Нередко при формировании Г.п. в контакте находится более двух клеток-гаметангиев.

гаметангий — gametangium : См. Гаметангиальная клетка.

гаметангиогамия — gametangiogamy : Процесс активного поиска и спаривания гаметангиальных клеток (а не гамет как таковых); наблюдается у подвижных пеннатных диатомовых. Благодаря Г. решается вопрос доставки гамет (обладающих ограниченной подвижностью, в отличие, например, от мужских гамет у центрических диатомовых, имеющих жгутик) к месту сингамии.

гаметогенез — gametogenesis : Процесс формирования гамет. В случае анизогамии (гетерогамии) различают женский и мужской Г.

гаметогонангий — gametogonangium : Клетка (у оогамных диатомовых), из которой или в которой формируется гаметангий (сперматогоний или оогоний); в первом случае это сперматогонангий, во втором — оогонангий.

гаметоцит — gametocyte : См. Гаметангиальная клетка.

гапобионт — haplobiont : Организм, у которого наблюдается гапобионтный жизненный цикл. Диатомовые водоросли — диплоидные гапобионты.

гапобионтный жизненный цикл — haplobiontic life cycle : Жизненный цикл, в котором доминирует одна (диплоидная или гаплоидная) фаза.

гаплоид — haploid : Организм или клетка с одинарным набором хромосом.

- гаплоидный партеногенез** — haploid parthenogenesis : Развитие неслившихся гамет в гаплоидную аукоспору и затем инициальную клетку. Последняя может осуществить несколько делений, но клон быстро погибает ввиду нежизнеспособности клеток.
- гаплонт** — haplont : Организм, клетки которого в вегетативном состоянии гаплоидны.
- гейтоногамия** — geitonogamy : Вариант аллогамии, при котором в оплодотворении участвуют генетически идентичные клетки (происходящие из одного клона).
- генеративная фаза** (= генеративный период; = репродуктивный период) **жизненного цикла** — generative phase of the life cycle : Фаза жизненного цикла, связанная с половым воспроизведением.
- генеративный период жизненного цикла** — generative period of the life cycle : См. Генеративная фаза жизненного цикла.
- генотипическая детерминация полов** — genotypic sex determination : Детерминация полов вследствие генетических различий между индивидуальными организмами (клетками, клонами).
- гермафродиты** (= полисексуальные клоны) — hermaphrodites : Клоны, у которых индивидуальные клетки проявляют различные половые фенотипы, что может происходить одновременно (одновременный гермафродитизм) или в разные моменты жизненного цикла (последовательный гермафродитизм). Транс-анизогамный половой процесс нельзя рассматривать как признак гермафродитизма у диатомовых.
- гетерогаметность** — heterogamy : Система детерминации пола, при которой один из полов несет гетерогенные половые факторы (М и F) или хромосомы (X и Y).
- гетерогаметный пол** — heterogametic (= heterogamic, heterogamous) sex : В случае диплогенотипической детерминации пол, у которого в процессе полового воспроизведения формируются гаметы, несущие разные половые детерминанты; применительно к диатомовым, F и M, т. е. гетерогаметы. У изученных цис-анизогамных пениатных диатомовых гетерогаметность соответствует мужскому полу, определяемому по морфологическим признакам. В результате комплементарного слияния гамет образуется зигота, несущая оба половых фактора (FM, гетерозигота по половым факторам).
- гетерогаметы** — heterogametes : Термин используется в двух разных смыслах: (1) гаметы, образующиеся в процессе полового воспроизведения и несущие разные половые детерминанты, F и M; (2) гаметы, различающиеся размером и/или формой. При использовании этого термина требуется уточнять вложенный смысл.
- гетерогамия** — heterogamy : См. Анизогамия.

гетерозигота — heterozygote : Зигота, имеющая различающиеся аллели какого-то конкретного гена (генов) в гомологичных хромосомах. У диатомовых половые хромосомы не выявлены; можно допустить, что Г. в отношении половых факторов — это зигота, содержащая оба половых фактора (FM), полученных в результате комплементарного слияния гетерогамет, т. е. гамет, несущих разные половые факторы, F и M, рассматриваемые как аллели одного гена.

гетероталлизм (= *реже*: гетероталлия; = раздельнополость) — heterothallism :

Дифференцировка (разделение) клонов на два (у диатомовых) или более пола или половых типа. В случае Г. половое воспроизведение осуществляется при взаимодействии клеток комплементарных половых типов, происходящих из разных клонов. Г. означает невозможность скрещивания двух генетически идентичных клеток (клеток одного клона).

гетероталлическое воспроизведение — heterothallic reproduction : Воспроизведение, в котором участвуют репродуктивно совместимые клоны, относящиеся к противоположным полам или комплементарным типам спаривания. Г.в. по определению является межклоновым.

гетероталлия — heterothally : См. Гетероталлизм.

гибридная зона (= зона гибридизации) — hybrid zone : Область перекрытия ареалов генетически различающихся популяций, в которой они контактируют и дают гибридное потомство.

гомогаметный пол — homogametic (= homogamic, homogamous) sex : Пол, который характеризуется формированием гамет, одинаковых в отношении половых факторов. Г.п. у диатомовых расценивается как женский (в соответствии с морфологией и поведением гамет у изученных анизогамных видов) и определяется в диплоидной клетке сочетанием двух одинаковых половых детерминант (FF), распределение которых между гаметами дает гомогаметы, несущие одинаковые детерминанты F; в случае слияния таких гамет образуется зигота, несущая одинаковые половые факторы (FF).

гомозигота — homozygote — Зигота, имеющая два идентичных аллеля какого-либо конкретного гена, при этом она может быть гетерозиготной в отношении других генов.

гомозиготный пол — homozygotic sex : См. Гомогаметный пол.

гомоталлизм (= *реже*: гомоталлия; = обоеполость) — homothallism : Способность производить гаметы обоих полов (комплементарных типов спаривания) и/или воспроизводиться внутри клона. Потенциальные половые партнеры (клетки-гаметангии, гаметы), происходящие из одного клона, генетически идентичны. Яркий пример Г : центрические диатомовые, которые способны формировать мужские и женские гаметы в

одном клоне. Г. бывает абсолютным (например, при аутомиксисе), но в ряде случаев (например, при оогамии) Г. не отрицает интербридинга («перекрестного» скрещивания) с участием нескольких клонов.

гомоталлическое воспроизведение — homothallic reproduction : См. Внутриклоновое воспроизведение.

гомоталлия — homothally : См. Гомоталлизм.

границы размерного диапазона ауксоспорообразования — sexual size thresholds : Границы размерного диапазона клеток, соответствующего репродуктивной фазе клеточного цикла.

двудомность (= раздельнополость) — dioecy : Распределение половых функций, при котором мужской и женский гаметогенез связан соответственно с мужскими и женскими организмами, пол которых детерминирован генетически. Воспроизведение возможно только с участием двух организмов, комплементарных по полу. Термин, по сути, является синонимом понятия гетероталлизм, однако в отношении диатомовых употребляется нечасто; обычно применяется к высшим растениям.

двуродительский — biparental.— См. Бипарентальный.

двухэтапное ауксоспорообразование — two-step auxosporulation : Ауксоспоруляция в два этапа, когда клетки, недавно появившиеся в популяции в результате полового воспроизведения, оказываются способными к следующему ауксоспорообразованию. Это связано с тем, что размер инициальных клеток, появившихся на первом этапе, все еще укладывается в диапазон размеров, позволяющих ауксоспорообразование. В ходе Д.а. формируются инициальные клетки двух размеров.

дикариотическая клетка — dikaryotic cell : Клетка, содержащая два еще не слившихся ядра. У диатомовых в дикариотическом состоянии находятся клетки на стадии зиготы и ауккоспоры.

диплобионт — diplobiont : Организм, у которого наблюдается диплобионтный жизненный цикл.

диплобионтный жизненный цикл — diplobiontic life cycle : Жизненный цикл, в котором присутствуют диплоидная и гаплоидная фазы, в которых организмы могут различаться не только набором хромосом, но и морфотипом.

диплогенотипическое определение (диплогенотипическая детерминация) **пола** — diplogenotypical sex determination : Определение пола диплоидного организма двумя половыми факторами, условно мужским (М) и женским (F). У изученных пennisatных диатомовых мужской пол является гетерогаметным (FM), а женский — гомогаметным (FF).

диплоидность — diploidy : Наличие в клетке двойного наборов хромосом, свойственных виду.

диплоид — diploid : Организм или клетка с двойным набором хромосом.

диплонт — diplont : Организм, клетки которого в вегетативном состоянии диплоидны.

диплонтный жизненный цикл — diplontic life cycle : Жизненный цикл (наблюдается, в частности, у диатомовых), в котором доминирует диплоидная фаза, в течение которой клетки размножаются путем вегетативного деления (сопровождается митозом); короткая по продолжительности репродуктивная фаза связана с формированием путем редукционного деления (мейоза) гаплоидных гамет и последующим их слиянием (сингамией).

дифференциация пола — sex differentiation : Развитие (проявление) отличительных половых признаков.

дифференцирующие митозы — deauperating cell divisions : Несколько последовательных делений сперматогонангия, не сопровождающихся ростом образованных клеток, в результате чего они уменьшаются в размерах и в конечном итоге дают первичные сперматоциты.

добавочные створки — supernumerary valves : Серия створок, формирующихся дополнительно при ацитокINETических митозах. Часто наблюдаются в переросшей культуре.

дорепродуктивная фаза жизненного цикла — pre-reproductive phase : См. Вегетативная фаза жизненного цикла.

женские гаметы — female gametes : Гаметы женского типа, который тривиально определяется по морфологии и/или поведению гамет. В случае оогамии центрических диатомовых Ж.г : это яйцеклетки. Пол у центрических генотипически не детерминирован, генетический набор мужских и женских гамет идентичен. У пеннатных пол детерминирован генотипически, поэтому правильнее соотносить женские гаметы с женскими клонами (клонами женского пола), т. е. теми, которые несут женские половые факторы в комбинации FF. В случае транс-анизогамии, с точки зрения генетических детерминант, ошибочно называть активную гамету в гаметангии мужской, а пассивную — женской, т. к. генотипически предопределен пол конкретного клона и, соответственно, конкретного гаметангия, а не гаметы. Женский пол гомогаметный (все гаметы несут F-фактор пола).

женский гаметангий — female gametangium : Клетка, в которой образуются женские гаметы.

женский клон — female clone : Клон, пол которого определен как женский. У пениннатных пол детерминирован генотипически и остается неизменным на протяжении всего онтогенеза. В отношении центрических, у которых пол генотипически не детерминирован, можно говорить о том, что клон, вследствие эпигенетической регуляции, является женским на определенном этапе онтогенеза.

жизненный цикл — life cycle : В общем смысле Ж.ц : закономерная смена всех поколений (онтогенезов). Ж.ц : это видовая характеристика. У диатомовых Ж.ц. простой, смена поколений отсутствует, основную часть жизненного цикла они проводят в диплоидном состоянии (диплонты), гаплоидны только гаметы, т. е. диатомовые водоросли являются диплоидными гапобионтами. Ввиду отсутствия смены поколений под Ж.ц. у диатомовых иногда понимают последовательность состояний клетки в онтогенезе. Началом Ж.ц. в таком случае следует считать момент появления инициальной клетки; заканчивается Ж.ц. клона с исчезновением последней вегетативной клетки из числа тех, которые не вступили в половой процесс. Другая трактовка определяет Ж.ц. как последовательность событий от формирования инициальной клетки до инициальной клетки в следующем поколении. При такой формулировке продолжительность Ж.ц. для клеток одного клона может быть различной, что зависит от момента вступления клеток в процесс полового воспроизведения. Обе трактовки непротиворечивы, когда онтогенез клона заканчивается репродуктивной фазой, однако, если вслед за ней возможна пострепродуктивная фаза, ее отношение к жизненному циклу можно охарактеризовать только в рамках первой приведенной трактовки.

закрытый жизненный цикл — closed life cycle : Тип жизненного цикла, который завершается репродуктивной фазой, пострепродуктивной фазы нет.

затраты полового воспроизведения — cost of sex : Затраты (потери) клеток в связи с половым воспроизведением. У диатомовых З.п.в. велики, т. к. соотношение количества потомков, полученных в результате полового воспроизведения и количества родительских клеток, участвовавших в нем, обычно меньше единицы. По этой причине половое воспроизведение нельзя считать размножением.

зигота — zygote : Диплоидная клетка — продукт слияния гамет (или ядер в случае автогамии).

зона гибридизации — hybrid zone : См. Гибридная зона.

изогамия — isogamy : Сходство гамет по размеру, форме и/или поведению; соответственно различают размерную, морфологическую и поведенческую (или физиологическую) изогамию.

- изометрическое расширение** — isometric expansion : Характер роста ауксоспоры, равномерный во все стороны.
- инбридинг** — inbreeding : Близкородственное скрещивание.
- инициальная гипотека** — initial hypotheca : Гипотека инициальной клетки.
- инициальная клетка** — initial cell : Клетка, которая формируется в полностью выросшей ауксоспоре в результате образования инициальной эпитеки и затем инициальной гипотеки; она приступает к вегетативному делению и дает начало новому клону с уникальной (единственной в своем роде) генетической комбинацией. Формирование тек инициальной клетки сопровождается ацитокинетическими митозами. Инициальные клетки обычно немного отличаются морфологически от обычных вегетативных клеток.
- инициальная створка** — initial valve : Створка (эпитека или гипотека) инициальной клетки.
- инициальная эпитека** — initial epitheca : Эпитека инициальной клетки.
- инициальный панцирь** — initial frustule : Панцирь инициальной клетки.
- инкунабула** — incunabula : Оболочка зиготы, состоящая из первичной оболочки зиготы и вторично образованных элементов до начала роста ауксоспоры.
- интеркалярная ауккоспора** — intercalary auxospore : Ауккоспора, расположенная в цепочке (колонии) клеток, с обеих сторон контактирующая с теками гаметангия, в котором она развилась.
- кардинальные пункты** (= кардинальные точки) — cardinal points : Критические значения размеров клеток (длины у пеннатных и диаметра у центральных), связанные со сменой вегетативной и генеративной фаз жизненного цикла. Различают такие К.п., как максимальный размер клеток в жизненном цикле, соответствующий размеру инициальных клеток; верхняя граница диапазона размеров клеток, допускающих половое воспроизведение; нижняя граница указанного диапазона; минимальный размер клеток.
- кардинальные точки** — cardinal points : См. Кардинальные пункты.
- кариогамия** — karyogamy : Слияние ядер, которое происходит после плазмогамии половых клеток (гамет); у диатомовых в случае автогамного полового процесса плазмогамия отсутствует.
- клон** — clone : Все потомство одной клетки, полученное неполовым путем (вегетативное деление). В генетическом смысле все клетки клона абсолютно идентичны (генетические реплики). У диатомовых в природных условиях клон распределен диффузно, имеет свое начало (конкретная инициальная клетка) и конечную продолжительность существования, связанную с прохождением жизненного цикла. Применяя термин К. в лабораторной

практике, надо помнить, что, выделяя из природной популяции в лабораторную культуру одну клетку (если она не инициальная), мы создаем субклон (часть клона).

клонирование — cloning : Получение клонов. У диатомовых К. на практике означает процесс выделения одной вегетативно делящейся клетки (не связанный с искусственной заменой ядра или иными генетическими манипуляциями).

колпачки инкунабулы — incunabular caps : Две половинки (остатки) инкунабулы, расположенные на концах растущей ауксоспоры в виде колпачков. У пеннатных диатомовых часто при трогании в рост («прорастании») ауксоспоры инкунабула разрывается по экватору, и две ее половинки прикрывают концы растущей ауксоспоры. Иногда эти колпачки называют «колпачки перизония», «полярные колпачки», «апикальные колпачки», что не совсем корректно, т. к. структурно и по происхождению они не связаны с перизониумом.

контаминация — contamination : Загрязнение культуры посторонними организмами (контаминантами).

конъюгация — conjugation : У диатомовых — прямой контакт между клетками (без их слияния), позволяющий обмениваться генетическим материалом. В ряде случаев при К. формируются копуляционные структуры.

копуляционная капсула — copulation capsule : То же, что и копуляционная оболочка, но в виде относительно более плотной капсулы вокруг гаметангиальной пары у некоторых пеннатных видов; образуется слизистыми выделениями клеток. К.к. хорошо различается в световом микроскопе без применения специальных методов контрастирования. У некоторых видов К.к. состоит из двух разных по консистенции слоев.

Копуляционная оболочка — copulation envelope : Копуляционная структура в виде оболочки вокруг гаметангиальной пары, образованная слизистыми выделениями клеток. К.о. прозрачна, иногда плохо различается в световом микроскопе без применения специальных методов контрастирования; присутствует у ряда пеннатных видов.

копуляционные каналы — copulation tubes : Каналы, которые формируются между гаметангиальными клетками для передачи по ним гамет. Типичны для представителей рода *Nitzschia* s. str.

копуляционное отверстие — copulation aperture : Проем (щель, раствор) между створками гаметангиальной клетки (появляющийся, например, в результате приоткрытия створок) для облегчения процесса оплодотворения.

копуляционные папиллы — copulation papillae : Сосковидные выросты цитоплазмы в поясковой зоне гаметангиев, растущие в направлении клеток-гаметангиев половых партнеров, по достижении которых формируют копуляционные каналы.

копуляционные структуры — copulation structures : Копуляционные оболочки, копуляционные каналы, копуляционные папиллы и другие структуры, образуемые клетками гаметангиальной пары для обеспечения успешного оплодотворения.

копуляция гаметангиев — copulation : Процесс спаривания гаметангиев, сопровождающийся формированием копуляционных структур.

косексуальность — cosexuality : Сочетание мужской и женской функций в одном организме (клоне). Дифференциация гамет, произведенных одним гаметангием, на пассивную и активную (транс-анизонамия) не означает К. до тех пор, пока не будет доказана их гетерогаметность в генетическом смысле.

ксеногамия (= перекрестное оплодотворение) — xenogamy : Вариант аллогамного оплодотворения у гомоталличных видов, когда в сингамии участвуют гаметы, происходящие из разных клонов.

латеральная ауксоспора — lateral auxospore : Ауксоспора, образованная в поясковой зоне в середине клетки и растущая за пределами клетки вбок (перпендикулярно) по отношению к клетке-гаметангию.

максимальный видоспецифический размер — maximal species-specific size : Размер наибольшей инициальной клетки. Поскольку размер инициальных клеток зависит от многих факторов, рассматривается наибольшая инициальная клетка, которая может быть получена, что представляет собой крайнюю форму реализации генетического потенциала в данных условиях.

межклоновое воспроизведение (скрещивание) — interclonal reproduction :

Воспроизведение, в котором участвуют два клон (или более). М.в. наблюдается при гетероталлизме или в случае перекрестного оплодотворения при гомоталлизме.

мейоз — meiosis : Способ деления ядра, в результате которого происходит двукратное уменьшение (редукция) числа хромосом, и после цитокинеза клетка переходит из диплоидного состояния в гаплоидное.

мерогенный сперматогенез — merogenous spermatogenesis : Сперматогенез, при котором после второго мейотического деления формируются сперматиды, превращающиеся затем в сперматозоиды, и одно или два остаточных тела. У видов с М.с. спермии часто не имеют хлоропластов (последние сосредоточены в остаточных телах).

митоз — mitosis : Способ деления ядер клеток, в результате которого оба дочерних ядра получают идентичный родительскому набор хромосом.

многофакторная (= поли(мульти)генная) **детерминация пола** — multigenic sex determination : Детерминация пола, основанная на нескольких генах.

моногения — monogeny : Продуцирование потомства только одного полового типа.

моногенная (= однофакторная) **детерминация пола** — monogenic sex determination :

Механизм детерминации пола, предполагаемый, в частности, у пеннатных диатомовых, при котором пол определяется единственным генетическим фактором, обычно одним локусом с двумя аллелями.

моновидовая культура — monospecific culture : См. Альгологически чистая культура.

моносексуальные (= однополые) **клоны** — monosexual clones : Клоны, которые обнаруживают только один из возможных полов (типов скрещивания).

мужские гаметы — male gametes : Гаметы мужского типа, последний тривиально определяется по морфологии и/или поведению гамет. В случае оогамии у центрических диатомовых М.г : это сперматозоиды. Пол у центрических генотипически не детерминирован, генетический набор мужских и женских гамет идентичен. У пеннатных пол детерминирован генотипически, поэтому правильнее соотносить мужские гаметы с мужскими клонами (клонами мужского пола, несущими мужской и женский половые факторы в комбинации MF). В случае транс-анизогамии ошибочно называть с точки зрения генетических детерминант активную гамету в гаметангии мужской, а пассивную — женской; т. к. генотипически предопределен пол конкретного клона, и соответственно, конкретного гаметангия, а не гаметы. Мужской пол гетерогаметный (в гаметангии одна гамета несет М-фактор, другая F-фактор пола).

мужской гаметангий — male gametangium : Клетка-гаметангий мужского клона.

мужской клон — male clone : Клон, пол которого определен как мужской. У пеннатных пол детерминирован генотипически и остается неизменным на протяжении всего онтогенеза. В отношении центрических, у которых пол генотипически не детерминирован, можно говорить о том, что клон, вследствие эпигенетической регуляции, является мужским на определенном этапе онтогенеза.

мультигенная детерминация пола — multigenic sex determination : См. Многофакторная детерминация пола.

мультиполярное расширение — multipolar expansion : Характер роста ауксоспоры, рост происходит по трем или более направлениям.

неравный цитокинез — unequal cytokinesis : Неравное деление клеток в процессе митоза, приводящее к появлению двух диплоидных клеток разного размера. Н.ц. обычен при формировании покоящихся спор, также наблюдается в процессе гаметогенеза у некоторых видов диатомовых.

нижняя граница размерного диапазона ауксоспорообразования — lower sexual size threshold : Нижняя граница размерного диапазона клеток, соответствующего репродуктивной фазе клеточного цикла.

оболочка ауккоспоры — auxospore envelope : Многослойная, достаточно сложно структурированная оболочка, включающая органические и кремнеземные элементы: перизониум, элементы инкунабулы.

одновидовая культура — monospecific culture : См. Альгологически чистая культура.

однодомность — monopussy : Способность клона производить как мужские, так и женские гаметы, а соответственно, если мужской и женский гаметогенез идут одновременно — воспроизводиться внутриклоново (гомоталлически). Иногда термин О. используют как синоним гомоталлизма, но, вероятно, имеет смысл под гомоталлизмом понимать внутриклоновое воспроизведение более широко, например, когда гаметы не дифференцируются на мужские и женские (случай педогамии) или их нет вообще (аутогамия). Однодомность говорит о том, что пол клона генотипически не детерминирован.

однополые клоны — unisexual clones : См. Моносексуальные клоны.

однополярное (= униполярное) расширение — unipolar expansion : Характер роста ауккоспоры, рост происходит по одной оси только в одном направлении.

однородительский (= унипарентальный) — uniparental : Происходящий от одного из родителей.

однородительское (= унипарентальное) ауксоспорообразование — uniparental auxosporulation : Процесс формирования ауккоспор одной родительской клеткой, например, в результате аутомиксиса или апомиксиса.

однородительское (= унипарентальное) наследование — uniparental inheritance : Наследование по линии родителей одного пола (например, только по «материнской» линии); в частности, показано — пока на примере только одного вида диатомей — унипарентальное наследование митохондрий.

однофакторная детерминация пола — monofactorial sex determination : См. Моногенная детерминация пола.

- онтогенез** — ontogenesis : Процесс развития с момента зарождения до конца жизни. У диатомовых понятие О. разумно применять в отношении развития конкретного клона, от момента появления инициальной клетки до исчезновения последней вегетативной клетки этого клона. В онтогенезе клон проходит несколько фаз (дорепродуктивная, репродуктивная, в ряде случаев — пострепродуктивная).
- онтогенез ауксоспоры** — auxospore ontogeny : Развитие ауксоспоры от момента оплодотворения (плазмोगамия гамет) до момента непосредственно предшествующего освобождению инициальной клетки из оболочек ауксоспоры.
- оогамия** — oogamy : Тип полового процесса, при котором сливаются резко отличающиеся друг от друга половые гаметы — крупная неподвижная яйцеклетка с мелкой, обычно подвижной мужской половой клеткой (сперматозоидом). Последние у диатомовых обычно лишены хлоропластов. О. представляет собой крайне выраженную форму анизогамии.
- оогенез** — oogenesis : Процесс формирования женских гамет. Встречается у оогамных видов центрических диатомовых.
- оогонангий** — oogonangium : У оогамных диатомовых клетка, которая дает гаметангий женского типа (оогоний).
- оогоний** — oogonium : Гаметангий у оогамных диатомовых, в котором формируются гаметы женского типа (яйцеклетки).
- ооцит** — oocyte : Клетка-оогоний на этапе формирования яйцеклетки. Различают первичные (результат митоза) и вторичные (результат первого мейотического деления) ооциты.
- оплодотворение** — fertilization : В общем смысле — слияние двух гаплоидных половых клеток (гамет) с образованием диплоидной зиготы.
- остаточные клетки** — residual cells : Сравнительно небольшие клетки, содержащие одно или два ядра (гаплоидных или диплоидных) и незначительное количество цитоплазмы. Обычно возникают как результат неравного цитокинеза, например, при формировании гамет, покоящихся спор и т. п. Функциональность их до конца не выяснена.
- остаточные тела** — residual bodies : Части клетки, образующиеся в процессе гаметогенеза и не содержащие ядер (в отличие от остаточных клеток), но иногда содержащие хлоропласты (см. Мерогенный сперматогенез).
- открытый жизненный цикл** — open life cycle : Тип жизненного цикла, в котором за репродуктивной фазой следует пострепродуктивная, иными словами, отсутствует нижний размерный порог полового диапазона, т. е. даже самые мелкие жизнеспособные клетки способны к половому воспроизведению.

- педогамия** — paedogamy : Форма аутомиксиса, при которой в одной клетке-гаметангии формируются две гаметы, которые затем сливаются, образуя зиготу.
- первичная оболочка зиготы** — primary zygote wall : Оболочка зиготы, состоящая из тонкого органического слоя снаружи плазмалеммы. Элементы оболочки гамет, если наличествуют, также могут быть включены в П.о.з. Последняя является основной частью инкунабулы или полностью составляет инкунабулу.
- перегруппировка гамет** — gamete rearrangement : Перемещение гамет в клетке в процессе гаметогенеза у пеннатных диатомовых. Гаметы, после деления лежащие по обе стороны от плоскости деления, перемещаются в апикальные позиции, т. е. к полюсам клетки-гаметангии.
- переключение типов спаривания** — mating-type switching : Механизм, позволяющий проявлять альтернативные типы спаривания генетически идентичными клетками.
- перекрестное оплодотворение** — cross-fertilization : См. Ксеногамия.
- перизониум** — perizonium : Кремнеземная часть оболочки ауксоспоры, состоящая из продольных и поперечных (у некоторых видов только продольных или только поперечных) элементов; выполняет роль экзоскелета. Известен у пеннатных диатомовых. Формируется в процессе роста ауксоспоры, определяет направление роста. Вначале закладывается первичное кольцо, к которому по обеим сторонам последовательно добавляется несколько вторичных колец, тем самым задается биполярный рост ауксоспоры вдоль апикальной оси. Вместе с поперечными кольцами откладываются продольные первичные и вторичные ленты П.
- периоды жизненного цикла** (= стадии, фазы, этапы жизненного цикла) — life cycle periods : Части жизненного цикла, на протяжении которых клетки имеют определенное физиологическое состояние. Обычно различают дорепродуктивный, репродуктивный (или генеративный) и пострепродуктивный П.ж.ц. В очень редких случаях облигатно присутствует период покоя (споры, покоящиеся клетки).
- пикноз** — pyknosis : Нормальный процесс деструкции избыточных ядер; наблюдается, например, в процессе гаметогенеза.
- пикнотические ядра** — pyknotic nuclei : Дегенерирующие избыточные ядра, образующиеся, например, в гаметах в процессе гаметогенеза. П.я. меньших размеров и при окрашивании выглядят более уплотненными по сравнению с обычными (функциональными) ядрами.
- плазмогамия** — plasmogamy : Слияние протопластов клеток.
- плазмодий** — plasmodium : Протопласт, содержащий несколько ядер, образующихся в результате ацитокинетического ядерного деления сперматогонангии.

пластинки инкунабулы — *incunabular plates* : Элементы инкунабулы, представляющие собой широкие пластинки, почти полностью покрывающие зиготу латерально.

поведенческая (= физиологическая) анизогамия — *behavioural anisogamy* : Один из случаев анизогамии, когда гаметы различаются поведением (активностью), но при этом могут быть морфологически и по размеру неразличимы.

покоящиеся клетки — *resting cells* : Физиологически и цитологически модифицированные клетки, характеризующиеся метаболическим/фотосинтетическим покоем и уплотненным протопластом.

покоящиеся споры — *resting spores* : Специализированные клетки с низкой физиологической (метаболической/фотосинтетической) активностью, имеют грубо кремненные створки, морфологически отличаются от обычных вегетативных клеток. Чаще всего встречаются у центрических видов диатомовых. Образуются в процессе митоза, включая ацитокинетический. Образование П.с. не связано с половым воспроизведением. Различают три типа П.с. (экзогенные, эндогенные и полуэндогенные) в зависимости от их генезиса.

пол — *sex* : В общем смысле — совокупность генетически и/или эпигенетически детерминированных признаков особи, определяющих ее роль в процессе полового воспроизведения. У центрических диатомовых пол определяется эпигенетически: один и тот же клон может продуцировать как мужские, так и женские гаметы, резко отличающиеся по размеру, морфологии и поведению (оогамия). У пеннатных диатомовых пол клона детерминирован генотипически и не меняется на протяжении всей жизненной истории. Вегетативно делящиеся клетки не имеют фенотипических признаков пола. У центрических и небольшого числа видов пеннатных диатомовых морфологические (включая поведенческие и/или физиологические) признаки пола проявляются на этапе гаметогенеза. Как правило, мужской пол соотносится с активными гаметами (у центрических это несущие жгутик сперматозоиды), однако надо иметь в виду, что у транс-анизогамных видов пеннатных из двух гамет, сформированных в мужском гаметангии, одна гамета активна, а вторая пассивна, что не означает их разнополости. Пол пеннатных, очевидно, детерминирован двумя половыми факторами, условно М и F, распределенных по двум разным хромосомам, так что при наследовании мужской пол задается сочетанием факторов MF, т. е. является гетерогаметным, а женский пол — факторов FF, т. е. является гомогаметным.

полигенная детерминация пола — *polygenic sex determination* : См. Многофакторная детерминация пола.

полисексуальные клоны — polysexual clones : См. Гермафродиты.

половая детерминанта (= половой фактор) — sex determinant : Аллельная форма гена, определяющего генетическую основу пола клона. В случае диплогенотипической детерминации пола (у пеннатных диатомовых) сочетание половых факторов FM определяет мужской пол, сочетание половых факторов FF — женский пол.

половая совместимость — sexual compatibility : Способность к скрещиванию (половому воспроизведению) двух клеток (клонов) противоположного (комплементарного) типа спаривания.

половое воспроизведение (= процесс полового воспроизведения) — sexual reproduction : Рассматривается как процесс, связанный поэтапно с взаимодействием клеток — половых партнеров (обмен феромонами, спаривание — если характерно), формированием гамет (гаметогенез), их слиянием (сингамия) и последующим образованием зигот и специфических только для диатомовых ауксоспор (ауксоспорообразование) и инициальных клеток. В некоторых случаях (аутогамия) этап формирования гамет может отсутствовать. У диатомовых П.в. ошибочно называть «половым размножением», поскольку число клеток, появившихся в результате П.в., меньше или равно числу родительских клеток. С позиций генетики П.в : это смешение геномов, рекомбинация и передача их следующему поколению.

половой процесс — sexual process : Часть процесса полового воспроизведения от начала гаметогенеза до момента оплодотворения.

половой фактор — sex factor : См. Половая детерминанта.

полоски (ленты) инкунабулы — incunabular strips : Структура в оболочке инкунабулы, сформированная узкими лентами, нерегулярно покрывающими в несколько слоев зиготу и ауккоспору на ранних этапах развития. Перизониум, в отличие от нее, имеет регулярно расположенные элементы. П.и. обнаружены у биполярных центральных и шовных пеннатных диатомовых.

полуинтеркалярная ауккоспора — semi-intercalary auxospore : Ауккоспора в цепочке клеток, с одной стороны контактирующая с текой гаметангии, а с другой — с сестринской ауккоспорой, развивающейся в том же гаметангии.

полуэндогенные покоящиеся споры — semi-endogenous resting spores : Парные споры, гиповальва которых окружена одной из тек панциря родительской клетки, а эпивальва обращена наружу и не прикрыта текой родительской клетки.

поперечный перизониум — transverse perizonium : Система кремнеземных элементов перизониума, представляющих собой кольца, плоскость которых поперечна апикальной

оси растущей ауксоспоры. Вначале закладывается первичное кольцо, к которому по обеим сторонам вдоль апикальной оси последовательно добавляются несколько вторичных колец, иногда можно дифференцировать и третичные кольца. Первичное кольцо обычно шире и массивнее. Кольца бывают замкнутые и незамкнутые. В случае незамкнутых колец, все они расположены разомкнутой стороной в одном латеральном направлении, формируя так называемую щель перизониума, иногда довольно широкую. Та сторона перизониума, где расположена щель, считается вентральной. Эпивальва инициальной клетки, которая формируется первой, откладывается на дорсальной стороне. У бесшовных пеннатных, клетки которых не способны двигаться, незамкнутость колец, вероятно, способствует освобождению начинающих делиться инициальных клеток из перизониума. В случае, когда клетки подвижны, они выползают из перизониума через апикальный полюс, отбрасывая прикрывающий его колпачок инкунабулы.

постзиготическая стерильность — *post-zygotic sterility* : Стерильность при скрещиваниях, обусловленная действием механизмов, вызывающих гибель потомков или их стерильность при последующих скрещиваниях.

постинициальные клетки — *post-initial cells* : Первые клетки, появившиеся в результате вегетативного деления инициальной клетки.

пострепродуктивная фаза жизненного цикла — *post-reproductive phase* : Фаза жизненного цикла, наступающая после генеративной фазы. Термин корректен в рамках трактовки жизненного цикла как смены характерного для вида онтогенеза в поколениях. В рамках другой трактовки жизненного цикла — как повторяющихся циклов развития от выбранной фазы до той же фазы в следующем поколении — термин лишен смысла, поскольку из пострепродуктивной фазы невозможен переход к следующему поколению.

презиготическая стерильность — *pre-zygotic sterility* : Стерильность при скрещиваниях, обусловленная действием механизмов, препятствующих формированию зигот.

продольный перизониум — *longitudinal perizonium* : Система кремнеземных элементов перизониума в виде лент, расположенных параллельно апикальной оси растущей ауксоспоры. Различают первичные и вторичные ленты П.п. П.п. препятствует деформации ауксоспор в трансапикальном направлении.

проперизониум — *properizonium* : Изначально термин предложен для обозначения системы кремнеземных структур в форме колец и чешуек (элементов инкунабулы) в оболочке ауксоспор некоторых биполярных центрических диатомовых. В настоящее время ряд авторов считает достаточным употребление термина перизониум и избыточным разделением на П. и перизониум ввиду их морфологической и функциональной аналогии.

Другие авторы находят, что, хотя структура кремнеземных элементов в виде колец сходная, их организация и расположение заметно отличаются у биполярных центрических и бесшовных пеннатных, поэтому надо оставить оба термина.

«проращение» ауксоспоры — auxospore expansion : Переход клетки из состояния зиготы в состояние ауксоспоры — растущей клетки. У биполярных центрических и пеннатных диатомовых П.а. происходит с разрывом инкунабулы и сопровождается построением проперизониума или перизониума.

процесс полового воспроизведения — sexual reproduction process : См. Половое воспроизведение.

псевдокопуляция — pseudocopulation : Процесс, напоминающий двуродительское воспроизведение половых партнеров, однако каждая из спарившихся клеток при этом воспроизводится аутомиктически.

псевдомейоз — pseudomeiosis : Процесс, включающий стадии, напоминающие мейотическую профазу, но без уменьшения ploidy.

раздельнополость — dioecy : См. Двудомность, Гетероталлизм.

размерная граница ауксоспорообразования — sexual size threshold : Верхний либо нижний порог размерного диапазона ауксоспорообразования. Один из двух критических размеров клеток, уменьшающихся в онтогенезе: пересекая верхнюю границу, клетки приобретают, а проходя нижнюю — теряют способность к половой репродукции.

размернозависимое проявление пола — size dependant sexuality : Свойственное центрическим диатомовым эпигенетическое проявление пола, связанное с размерами клеток. Обычно более крупные клетки — в пределах диапазона размеров, пригодных для ауксоспорообразования — продуцируют женские гаметы, в то время как относительно более мелкие клетки способны формировать преимущественно мужские гаметы.

размерный диапазон ауксоспорообразования (= сексуально индуцибельный диапазон размеров клеток) — sexual size range : Диапазон размеров клеток, при которых они являются сексуально индуцибельными и могут, при наличии полового партнера (если требуется) и благоприятного сочетания факторов среды, вступить в процесс полового воспроизведения и формирования ауккоспор.

репродуктивная изоляция — reproductive isolation : Неспособность скрещиваться и/или оставлять плодовитое потомство. На генетическом уровне это означает невозможность обмена генетическим материалом между организмами и передачи его следующим поколениям.

репродуктивная совместимость — sexual compatibility — Способность вступать во взаимодействие, связанное с половым воспроизведением и оставлением потомства, которое и далее способно воспроизводиться половым путем.

репродуктивная фаза (= репродуктивный период) **жизненного цикла** — reproductive phase of the life cycle : См. Генеративная фаза жизненного цикла.

репродуктивный период жизненного цикла — reproductive period of the life cycle : См.

Репродуктивная фаза жизненного цикла

репродукция — reproduction : См. Воспроизведение.

родительский клон — parental clone : Клон, участвовавший в воспроизведении, независимо от того, было оно гомо- или гетероталлическим.

самостерильность — self-sterility : Невозможность воспроизводиться внутри клона. С. типична для случаев строгого гетероталлизма.

свободная аукоспора — free auxospore : Аукоспора, не имеющая контакта с теками гаметангия или гаметангиев.

сексуализация — sexualization : Переход клетки в состояние, позволяющее инициирование полового воспроизведения.

сексуальная индукция — sexual induction : Инициирование полового воспроизведения.

сексуально индуцибельная клетка — sexually inducible cell : Клетка, физиологическое состояние которой позволяет вступление в половой процесс, реализуемый при наличии (если необходимо) полового партнера и соответствующих окружающих условий. Клетки за пределами генеративной фазы жизненного цикла (связано с размерами клеток) сексуально неиндуцибельны, т. е. невосприимчивы к действию сигналов или факторов, которые заставили бы их перейти к половому воспроизведению.

сексуально индуцибельный диапазон (размеров клеток) — sexually inducible size range : См. Размерный диапазон аукоспорообразования.

сестринские клетки — sibling cells : Пара клеток, произошедших от одной родительской клетки. Могут рассматриваться как результат вегетативного деления, но также употребляется в отношении полового воспроизведения, когда в паре гаметангиев формируется пара сестринских аукоспор/инициальных клеток.

сингамия — syngamy : Слияние гаплоидных половых клеток или гамет, приводящее к образованию диплоидной клетки — зиготы. В большей мере рассматривают как процесс, нежели как результат.

система скрещивания — mating system or breeding system : Совокупность путей (гомо-, гетероталлический), способов полового воспроизведения (алломиксис, аутомиксис, гаплоидный партеногенез, апомиксис) и порядка дифференциации полов.

скачкообразное уменьшение размеров — abrupt (rapid) size reduction : Появление в клоне клеток, резко уменьшенных в размерах. С.у.р. происходит вследствие нарушений цитокинеза, когда из-за искривления плоскости деления одна дочерняя клетка получается короче другой.

скрещивающийся тип (= тип спаривания) — mating type : Один из репродуктивно комплементарных генотипов у строго изогамных видов, когда клоны скрещиваются как разные по полу, однако при этом невозможно установить их половую принадлежность из-за отсутствия очевидных морфологических или поведенческих различий. Ввиду полового дуализма С.т. в таком случае условно обозначают как «+» и «-» («mt+» и «mt-»). Иногда «mt+» и «mt-» употребляют для обозначения половых типов, которым соответствуют активные и пассивные гаметы. Однако формально различие в поведении гамет может служить достаточным основанием для идентификации мужского и женского полов (за исключением транс-анизогамных видов у пеннатных диатомовых).

смешанный посев — cross-inoculation : Посев двух или более клонов в одной емкости. С.п. обычно делают с целью инициирования межклонового воспроизведения.

соотношение полов — sex ratio : Количественное соотношение клеток мужских и женских клонов в популяции.

спаривание гаметангиев — pairing : Процесс, предшествующий гаметогенезу, в ходе которого две клетки за счет активного движения входят в контакт и образуют гаметангиальную пару. В ряде случаев показано, что С.г. регулируется феромонами.

сперматогенез — spermatogenesis : Процесс формирования мужских гамет у оогамных видов диатомовых.

сперматогонангий — spermatogonangium : Клетка, которая образует гаметангий мужского типа (сперматогоний). С. известен у оогамных диатомовых.

сперматогоний — spermatogonium : Клетка-гаметангий у оогамных диатомовых, в которой формируются гаметы мужского типа (сперматозоиды).

сперматозоид (= спермий) — spermatozoid : Мужская гамета, подвижная благодаря имеющемуся жгутику.

сперматоцит — spermatocyte : Клетка на этапе формирования сперматозоида. Различают первичные сперматоциты, они диплоидны и образуются за счет митоза или нескольких

митозов, и вторичные сперматоциты, они гаплоидны и являются следствием первого мейотического деления.

спермаций — spermatium : Мужская гамета, более или менее активно перемещающаяся, например, за счет амёбоидного движения. С. не имеет жгутика.

спермий — sperm : См. Сперматозоид.

стадии жизненного цикла — life cycle stages : См. Периоды жизненного цикла.

стадия покоя — resting stage : Встречающаяся у небольшого количества видов стадия жизненного цикла, когда формируются специализированные клетки, прекращающие вегетативное деление, впадающие в состояние относительного покоя (покоящиеся клетки, покоящиеся споры). Они способны переносить неблагоприятные условия среды. С.п. в целом, за редкими исключениями, не является обязательным атрибутом жизненного цикла и характерна в большей мере для центральных диатомовых.

строгая гетероталлия — strict heterothally : Система скрещивания, при которой никакие другие пути воспроизведения, кроме гетероталлического, невозможны.

субдвудомность — subdioecy : Частично выраженный гетероталлизм, наблюдавшийся у центральных диатомовых, при котором большая часть клонов ведет себя как однодомные, а у незначительной части клонов обнаруживается только один половой тип (например, мужской).

терминальная аукоспора — terminal auxospore : Аукоспора, сформированная на конце колонии клеток, контактирующая только с одной стороны с эпи- или гипоцингулюмом только одной родительской клетки.

тип спаривания — mating type : См. Скрещивающийся тип.

транс-анизогамия — trans-anisogamy : Вариант анизогамии у пеннатных диатомовых, когда в каждой клетке гаметангиальной пары одна гамета активна, а другая пассивна. Ошибочно считать активную гамету мужской, а пассивную женской, поскольку принадлежность к половому типу у пеннатных диатомовых определена генетически (в большинстве случаев предполагается гомозиготность женских и гетерозиготность мужских клонов).

транс-тип сингамии — trans-type of syngamy : Сингамия при транс-анизогамии.

унипарентальный — uniparental : См. Однородительский.

унипарентальное аукоспорообразование — uniparental auxosporulation : См. Однородительское аукоспорообразование.

унипарентальное наследование — uniparental inheritance : См. Однородительское наследование.

униполярное расширение — unipolar expansion : См. Однополярное расширение.

- фазы жизненного цикла** — life cycle phases : См. Периоды жизненного цикла.
- физиологическая анизогамия** — physiological anisogamy : См. Поведенческая анизогамия.
- цис-анизогамия** — cis-anisogamy : Вариант анизогамии у пенициллиевых диатомовых, когда в одной клетке гаметангиальной пары формируются две активные (подвижные) гаметы, а в другой — две пассивные (не способные к движению). Гаметангий с активными гаметами считается принадлежащим к клону мужского типа и, как установлено для нескольких видов, является генетически гетерогаметным.
- цис-тип сингамии** — cis-type of syngamy : Сингамия при цис-анизогамии.
- цитоплазматическое наследование** — cytoplasmic inheritance : Наследование неядерных ДНК, передающихся с органеллами или эндосимбионтами. У диатомовых наблюдается, например, в случае наследования хлоропластной и митохондриальной ДНК, последнее происходит, очевидно, по линии родителей только одного пола (однородительское наследование).
- чешуйки инкунабулы** — incunabular scales : Плоские дисковидные кремнеземные элементы инкунабулы, сходные с чешуйками; могут быть перфорированными.
- штамм** — strain (isolate) : Генетически однородная (чистая) культура вида микроорганизма, которая характеризуется определенными свойствами. Ш. представляет собой субклон, изолированный в определенное время в определенном месте или полученный в результате мутаций, генетических манипуляций. В отличие от клона, Ш. существует только в виде лабораторной культуры, для него редко применяют понятие жизненного цикла.
- экзогенные покоящиеся споры** — exogenous resting spores : Покоящиеся споры, образованные в количестве двух или четырех после митотических делений, не заключенные по окончании формирования в панцири родительских клеток.
- эндогенные покоящиеся споры** — endogenous resting spores : Одиночные или парные споры, образованные в результате ацитокинетического или неравного митоза, полностью заключенные в панцири родительских клеток.
- эпигенетическая детерминация (дифференциация) полов** — epigenetic sex determination (differentiation) : Дифференциация полов, при которой комплементарные скрещивающиеся фенотипы могут производиться одним и тем же генотипом. Э.д.п. характерна для радиальных центрических диатомовых. При Э.д.п. триггером выступает достижение клетками определенного размера (внутренний негенетический фактор) и/или изменение факторов внешней среды (температуры, условий освещения, pH, состава солей и др.).
- этапы жизненного цикла** — life cycle stages : См. Периоды жизненного цикла.

этапы (процесса) полового воспроизведения — sexual reproduction stages : В наиболее общем случае к Э.п.в. относятся взаимодействие клеток — половых партнеров (обмен феромонами, спаривание — если характерно), формирование гамет (гаметогенез), их слияние (сингамия), последующее образование зигот, аукоспор (аукоспорообразование) и инициальных клеток.

эффективный размер популяции — effective population size : Среднее количество особей (клеток у одноклеточных) в популяции, эффективно передающих гены следующим поколениям, т. е. участвующих в половом воспроизведении.

СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамсон Н.И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы / Н.И. Абрамсон // Вестник ВОГиС. — 2007. — Т. 11, № 2. — С. 307–331.
2. Абрамсон Н.И. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов / Н.И. Абрамсон // Труды зоологического института РАН. Приложение №1. — 2009. — С. 185–198.
3. Айала Ф. Современная генетика. В 3-х томах. Т.1. / Ф. Айала, Дж. Кайгер. — М. : Мир, 1987. — 295 с.
4. Батыгина Т.Б. Воспроизведение, размножение и возобновление / Т.Б. Батыгина // Эмбриология цветковых растений. Т.3. Системы репродукции ; ред. Т.Б. Батыгина. — СПб.: Мир и семья, 2000. — С. 35–39.
5. Волоотовский И.Д. Фитохром — регуляторный фоторецептор растений / И.Д. Волоотовский. — Минск: Навука і тэхніка, 1992. — 168 с.
6. Геодакян В.А. Роль полов в передаче и преобразовании генетической информации / В.А. Геодакян // Пробл. передачи информации. — 1965. — Т.1, № 1. — С. 105-113.
7. Геодакян В.А. Эволюционные хромосомы и эволюционный половой диморфизм / В.А. Геодакян // Известия Академии Наук, Серия Биологическая. — 2000. — № 2. — С. 133-148.
8. Гусяков Н.Е. Атлас диатомовых водорослей бентоса северо-западной части Черного моря и прилегающих водоемов / Н.Е. Гусяков, О.А. Закордонец, В.П. Герасимюк. — Киев : Наук. думка, 1992. — 112 с.
9. Давидович Н.А. Динамика доли делящихся клеток в культуре *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar.et Kar. (Bacillariophyta) в разные периоды жизненного цикла / Н.А. Давидович ; АН УССР, Институт гидробиологии. — Киев, 1991. — 11 с. — Деп. ВИНТИ, 1991, №3559–В91.
10. Давидович Н.А. Продолжительность деления клеток *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar.et Kar. (Bacillariophyta) в разные периоды жизненного цикла / Н.А. Давидович // Физиология растений. — 1992. — Т. 39, вып. 3. — С. 599–605.
11. Давидович Н.А. Интенсивность аукоспорообразования у двух видов Bacillariophyta в зависимости от освещенности и продолжительности фотопериода / Н.А. Давидович, В.А. Чепурнов // Альгология. — 1993. — Т. 3, № 3. — С. 34–41

12. Давидович Н.А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей / Н.А. Давидович // Физиология растений. — 1994. — Т. 41, № 2. — С. 250–255.
13. Давидович Н.А. Размер инициальных клеток диатомовой водоросли *Nitzschia lanceolata*, сформировавшихся при разных режимах освещения / Н.А. Давидович // Цитология. — 1995. — Т. 37, № 3. — С. 257–265.
14. Давидович Н.А. Половое воспроизведение *Berkeleya micans* (Lyngb.) Grun. (Bacillariophyta) / Н.А. Давидович // Альгология. — 1999. — Т. 9, № 1. — С. 3–12.
15. Давидович, Н.А. Использование среды ESAW в опытах по изучению полового воспроизведения диатомовых водорослей / Н.А. Давидович, О.И. Давидович // Карадаг - 2009. Сборник трудов, посвященный 95-летию Карадагской научной станции и 30-летию Карадагского природного заповедника Национальной академии наук Украины ; ред. А.В.Гаевская, А.Л.Морозова. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2009. — С. 538–544.
16. Давидович Н.А. Сочетание инбредного и аутбредного скрещивания в системе размножения диатомовой водоросли *Nitzschia longissima*. / Н.А. Давидович // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. N4 (15). — Спеціальний випуск: Гідроекологія. — 2001. — С. 72–73.
17. Давидович Н.А. Половая гетерогенность клонов *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) / Н.А. Давидович // Альгология. — 2002а. — Т. 12, № 3. — С. 279–289.
18. Давидович, Н.А. Фоторегуляция полового воспроизведения у Bacillariophyta (Обзор) / Н.А. Давидович // Альгология. — 2002б. — Т. 12, № 2. — С. 259–272.
19. Давидович Н.А. Наследование пола при внутрикловом воспроизведении облигатно двудомного вида *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) / Н.А. Давидович // Альгология. — 2005а. — Т.15, № 4. — С. 385–398.
20. Давидович Н.А. Подчиняется ли *Asterionella formosa* правилу МакДональда-Пфитцера? / Н.А. Давидович // Актуальные проблемы современной альгологии : Тез. докл. III Междунар. конф., 20-23 апреля 2005 ; под ред. Т.В. Догадиной. — Харьков: Харьковский национальный университет, 2005б. — С. 44–45.
21. Давидович Н.А. Внутрикловое воспроизведение у раздельнополых видов диатомовых водорослей / Н.А. Давидович // Морфология, клеточная биология, экология, флористика и история развития диатомовых водорослей : Материалы X Междунар. науч. конф. диатомологов стран СНГ. — Минск: БГПУ, 2007. — С. 5–7.

22. Давидович Н.А. Тенденции в развитии репродуктивной биологии Bacillariophyta / Н.А. Давидович // Альгология. — 2009. — Т. 19, № 4. — С. 436–449.
23. Давидович Н.А. Половое воспроизведение и система скрещивания *Tabularia tabulata* (С. Agardh) Snoeijjs (Bacillariophyta) / Н.А. Давидович, О.И. Давидович // Альгология. — 2010. — Т. 20, № 4. — С. 385–405.
24. Давидович Н.А. Репродуктивные особенности диатомовых водорослей: значение для культивирования и биотехнологии / Н.А. Давидович, О.И. Давидович, Ю.А. Подунай, К.И. Шоренко, М.С. Куликовский // Физиология растений. — 2015. — Т. 62, № 2. — С. 167–175.
25. Давидович Н.А. Определения и понятия репродуктивной биологии диатомовых водорослей (терминологический словарь) / Н.А. Давидович // Новости систематики низших растений. — 2017. — Т. 51. — С. 71–105.
26. Давидович О.И. Влияние солености среды на вегетативный рост и половое воспроизведение водорослей из рода *Ardissonaea* de Notaris (Bacillariophyta) / О.И. Давидович, Н.А. Давидович, Ю.А. Подунай, К.И. Шоренко, А. Витковски // Физиология растений. — 2016. — Vol. 63, № 6. — С. 796–803.
27. Давидович О.И. Устойчивость размерного распределения клеток в популяции *Navicula pennata* var. *pontica* (Bacillariophyta) к изменению солености / О.И. Давидович // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. — 2005. — Т. 27, № 4. — С. 62 — 63. Диатомовый анализ. Определитель ископаемых и современных диатомовых водорослей. Порядок Pennales. Т. 3. ; под ред. А. И. Прошкиной-Лавренко. — М.– Л. : Госгеолитиздат, 1950. — С. 398 с.
28. Диатомовые водоросли СССР (ископаемые и современные). Практическое руководство. Т. 1. / Глезер З.И., Жузе А.П., Макарова И.В. Прошкина-Лавренко А.И. (ответственный редактор), Шешукова-Порецкая В.С. — Л. : Наука, 1974. — С. 403 с.
29. Диатомовые водоросли СССР. Ископаемые и современные. Т. II, вып. 2. / Глезер З.И., Макарова И.В., Моисеева А.И. — Л. : Наука, 1992. — С. 125 с.
30. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике / Г.Н. Зайцев. — М. : Наука, 1984. — С. 424 с.
31. Згуровская Л.Н. Влияние аммиачного азота на деление клеток, фотосинтез и накопление пигментов у *Skeletonema costatum* (Grev.) Cl., *Chaetoceros* sC. и *Prorocentrum micans* Ehr. / Л.Н. Згуровская, Н.Г. Кустенко // Океанология. — 1968. — Т. 8, вып. 1. — С. 116–125.

32. Згуровская Л.Н. Влияние добавок элементов питания на прорастание спор и деление планктонных водорослей из донных грунтов / Л.Н. Згуровская // Океанология. — 1977. — Т. 17, вып. 1. — С. 119–122.
33. Згуровская Л.Н. Видовой состав и распределение планктонных водорослей в донных илах Черного моря / Л.Н. Згуровская // Океанология. — 1978. — Т. 18, вып. 4. — С. 716–719.
34. Карпов С.А. Строение клетки протистов / С.А. Карпов. — СПб. : "ТЕССА", 2001. — С. 384 с.
35. Кожова О.М. Введение в гидробиологию / О.М. Кожова. — Красноярск : Изд-во ун-та, 1987. — С. 244 с.
36. Конев С.В. Фотобиология / С.В. Конев, Д.Д. Волотовский. — Минск : Изд-во БГУ, 1974. — С. 350 с.
37. Константинов А.С. Общая гидробиология. 4-е изд. / А.С. Константинов. — М. : Высш. шк., 1986. — С. 472 с.
38. Кошевой В.В. Наблюдения за фитопланктоном Черного моря у берегов Карадага. / В.В. Кошевой // Бюлл. океанограф. комиссии. — 1956. — № 3. — С. 40–45.
39. Кустенко Н.Г. Оптимальная комбинация факторов внешней среды для развития массовых форм планктона Черного моря / Н.Г. Кустенко // Вестник МГУ. — 1971. — № 2. — С. 38–41.
40. Кустенко Н.Г. Особенности онтогенеза морской диатомовой водоросли *Skeletonema costatum* (Grev.) Cl. / Н.Г. Кустенко, А.М. Рощин // Биологические науки. — 1974. — № 10. — С. 60–62.
41. Кустенко Н.Г. Образование крупных клеток в колониях диатомеи *Melosira moniliformis* / Н.Г. Кустенко // Биология моря. Владивосток. — 1978. — вып. 5. — С. 72–74.
42. Кустенко Н.Г. Особенности онтогенеза диатомовой водоросли *Cerataulina bergonii* Perag. / Н.Г. Кустенко // Биология моря. — 1979. — вып. 2. — С. 79–82.
43. Кустенко Н.Г. Влияние стрессовых факторов среды на размножение диатомовых водорослей / Н.Г. Кустенко. — Киев : Наукова думка, 1991. — С. 156 с.
44. Ланская Л.А. Культивирование водорослей / Л.А. Ланская // Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур) ; под общ. ред. К.М. Хайлова. — Киев : Наукова думка, 1971. — С. 5–22.
45. Лухтанов В.А. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики / В.А. Лухтанов, В.Г. Кузнецова // Журнал общей биологии. — 2009. — Т. 70, № 5. — С. 415–437.

46. Майр Э. Зоологический вид и эволюция / Э. Майр. — Москва : Мир, 1968. — С. 598 с.
47. Майр Э. Популяции, виды и эволюция / Э. Майр. — Москва : Мир, 1974. — С. 460 с.
48. Масюк Н.П. Водоросли в системі органічного світу. Водоросли в системе органического мира / Н.П. Масюк, І.Ю. Костіков. — Киев : Академперіодика, 2002. — С. 178 с.
49. Мережковскій К.С. К морфологии диатомовых водорослей / К.С. Мережковскій. — Казань : Типо-литографія Императорскаго Университета, 1903. — С. 430 с.
50. Мережковскій К.С. Теория двух плазм, как основа симбиогенеза, нового учения о происхождении организмов / К.С. Мережковскій. — Казань : Типо-литографія Императорскаго Университета, 1909. — С. 97 с.
51. Паламарь-Мордвинцева Г.М. Концепция вида и современные задачи систематики водорослей / Г.М. Паламарь-Мордвинцева, П.М. Царенко // Альгология. — Т.17, № 4. — С. 421–449.
52. Подунай Ю.А. Типы гаметогенеза у *Synedra ulna* (Nitzsch) Ehrenb. (Bacillariophyta) / Ю.А. Подунай, Н.А. Давидович // Актуальные проблемы современной альгологии : Тезисы докладов IV Международной конференции (Киев, 23 — 25 мая 2012 г). — Киев, 2012. — С. 237–238.
53. Подунай Ю.А. Влияние плотности культуры на половое воспроизведение *Ardissonea crystallina* (Bacillariophyta) / Ю.А. Подунай, О.И. Давидович, Н.А. Давидович // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. — 2016. — № 2. — С. 19–24.
54. Полякова С.Л. Модификация среды ESAW, используемой для культивирования морских диатомовых водорослей / С.Л. Полякова, О.И. Давидович, Ю.А. Подунай, Н.А. Давидович // Морской биологический журнал. — 2018. — Т. 3, № 2. — С. 73–78.
55. Прокудина Л.А. Каталог фауны и флоры Черного моря района Карадагской биологической станции / Л.А. Прокудина // 33 Труды Карадагской биологической станции АН УССР. — 1952. — Вып. 12. — С. 116–117.
56. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря / А.И. Прошкина-Лавренко. — М.-Л. : Из-во АН СССР, 1955. — С. 223 с.
57. Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли бентоса Черного моря / А.И. Прошкина-Лавренко. — М.-Л. : Изд-во Академии Наук СССР, 1963. — С. 244 с.
58. Родионова Е.В. Три новых вида семейства Cymbellaceae из озера Байкал / Е.В. Родионова, Г.В. Помазкина, О.Ю. Макаревич // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология» — 2012. — Т. 56, № 4. — С. 109–117.
59. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика / П.Ф. Рокицкий. — Минск : Высшейш. школа, 1973. — С. 320 с.

60. Рошин А.М. Влияние условий освещения на образование аукоспор и скорость деления клеток *Coscinodiscus granii* Gough / А.М. Рошин // Физиология растений. — 1972. — Т.19, вып. 1. — С. 180–185.
61. Рошин А.М. О жизненных циклах некоторых видов морских диатомовых водорослей в культурах / А.М. Рошин, В.Н. Лекамцева, Н.А. Луценко // Биол. науки. — 1973. — Вып. 3. — С. 75–79.
62. Рошин А.М. О характере укрупнения клеток *Coscinodiscus granii* Gough. / А.М. Рошин // Биологические науки. — 1973. — № 5. — С. 78–81.
63. Рошин А.М. Влияние условий освещения на вегетативное размножение клеток и половое воспроизведение двух видов центрических диатомовых водорослей / А.М. Рошин // Физиология растений. — 1976. — Т. 23, вып.4. — С. 715–719.
64. Рошин А.М. Жизненные циклы бентосной диатомовой водоросли *Achnanthes longipes* Ag. / А.М. Рошин // Биологические науки. — 1984. — Вып. 1. — С. 71–78
65. Рошин А.М. Видовой состав и динамика численности бентосных диатомовых водорослей на верхней каменистой сублиторали / А.М. Рошин, Н.А. Давидович, В.А. Чепурнов // Карадагский государственный заповедник. Летопись природы. — 1988. — Т.5. — С. 31–36.
66. Рошин А.М. Образование аукоспор в клоновой культуре *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl. (Bacillariophyta) / А.М. Рошин, В.А. Чепурнов // Альгология. — 1993. — Т. 3, № 1. — С. 19–22.
67. Рошин А.М. Половое воспроизведение и эволюция диатомовых водорослей / А.М. Рошин // Труды Карадагского филиала Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины 1994 : Сборник научных трудов ; под ред. Н.А. Давидовича, В.А. Емельянова. — Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 1997. — С. 159–173.
68. Рошин А.М. Двудомное воспроизведение *Achnanthes longipes* Ag. (Bacillariophyta) / А.М. Рошин // Альгология. — 1994а. — Т.4, № 1. — С. 22–29.
69. Рошин А.М. Жизненные циклы диатомовых водорослей / А.М. Рошин. — Киев : Наукова думка, 1994б. — С. 171 с.
70. Седова Т.В. Кариология водорослей / Т.В. Седова. — СПб. : Наука, 1996. — С. 386 с.
71. Стройкина В.Г. Деякі дані про склад фітопланктону Карадагського району Чорного моря / В.Г. Стройкина // Труды Карадагської біологічної станції. — 1940. — Вып. 6. — С. 141–144.

72. Стройкина В.Г. Фитопланктон Черного моря в районе Карадага и его сезонная динамика / В.Г. Стройкина // Труды Карадагской биологической станции Академии наук Украинской ССР. — 1950. — Вып. 10. — С. 38–52.
73. Терехин Э.С. Репродуктивная биология / Э.С. Терехин // Эмбриология цветковых растений. Т.3. Системы репродукции ; ред. Т.Б. Батыгина. — Санкт-Петербург: Мир и семья, 2000. — С. 21–24.
74. Федоренко О.М. Генетические аспекты фитохромной регуляции процессов фотоморфогенеза у высших растений / О.М. Федоренко, А.И. Савушкин // Успехи современной биологии. — 2006. — Т. 126, № 2. — С. 201–212.
75. Финенко З.З. Рост и скорость деления водорослей в лимитированных объемах воды / З.З. Финенко, Л.А. Ланская // Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур). — Киев : Наук. думка, 1971. — С. 22–50.
76. Финенко З.З. Общие закономерности роста и фотосинтеза водорослей. Первичная и вторичная продукция морских организмов. / З.З. Финенко. — Киев : Наук. думка, 1982. — С. 35–45.
77. Цыганкова В.А. Генетический и эпигенетический контроль роста и развития растений. Молекулярно-генетический контроль проведения и реализации сигналов ауксинов / В.А. Цыганкова, Л.А. Галкина, Л.И. Мусатенко, К.М. Сытник // Біополімери і клітина. — 2005. — Т. 21, № 3. — С. 187–219.
78. Чепурнов В.А. Половой процесс и формирование ауксоспор у диатомовых водорослей (Bacillariophyta) / В.А. Чепурнов // Труды Карадагского филиала Института биологии южных морей им.А.О.Ковалевского НАН Украины ; под ред. Н.А.Давидовича, В.А.Емельянова. — Севастополь, 1997. — С. 53–62.
79. Чепурнов В.А. Изучение жизненных циклов и репродуктивного поведения диатомовых водорослей в Карадагском природном заповеднике: история вопроса, результаты и перспективы / В.А. Чепурнов, Д.Д. Манн // Карадаг. История, биология, археология (Сборник научных трудов, посвященный 85-летию Карадагской биологической станции им. Т.И.Вяземского). — Симферополь: Сонат, 2001. — С. 159–175.
80. Шоренко К.И. Репродуктивная совместимость клонов диатомовой водоросли *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs, полученных из географически удаленных популяций / К.И. Шоренко, Н.А. Давидович // Актуальные проблемы современной альгологии: Тезисы докладов IV Международной конференции (Киев, 23 — 25 мая 2012 г.). — Киев, 2012. — С. 237–238.

81. Шоренко К.И. К вопросам таксономии, репродукции и распространения *Nitzschia longissima* (Breb.) Grunow (Bacillariophyta) / К.И. Шоренко, О.И. Давидович, Н.А. Давидович // Альгология. — 2013. — Т. 23, № 2. — С. 113–137.
82. Шоренко К.И. Влияние солёности на морфологические характеристики панцирей двух близких видов диатомовых водорослей *Nitzschia longissima* (Breb.) Grunow и *N. rectilonga* Takano / К.И. Шоренко, Н.А. Давидович, О.И. Давидович // Морской экологический журнал. — 2014а. — Т. 13, № 3. — С. 75–80.
83. Шоренко К.И. Изменчивость морфологических и структурных элементов панциря в генетически однородных и разнородных группах диатомовой водоросли *Nitzschia rectilonga* Takano, 1983 (Bacillariophyta) / К.И. Шоренко, Н.А. Давидович, М.С. Куликовский // Биология моря. — 2014б. — Т. 40, № 5. — С. 364–372.
84. Adl, S.M. The new higher level classification of eukaryotes and taxonomy of protists. / S.M. Adl, A.G.B. Simpson, M.A. Farmer, R.A. Andersen, O.R. Anderson [*et al.*] // J. Eukaryot. Microbiol. — 2005. — Vol. 52, N 5. — P. 399–451.
85. Alverson, A.J. Molecular systematics and the diatom species / A.J. Alverson // Protist. — 2008. — Vol. 159, iss. 3. — P. 339–353.
86. Al-Yamani, F.I. Illustration guide on the benthic diatoms of Kuwait's marine environment / F.I. Al-Yamani, M.A. Saburova. — Kuwait : Wave Press, 2011. — 352 p.
87. Amato, A. Life cycle, size reduction patterns, and ultrastructure of the pennate planktonic diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae) / A. Amato, L. Orsini, D. D'Alelio, M. Montresor // J. Phycol. — 2005. — Vol. 41, N 3. — P. 542–556.
88. Amato, A. Reproductive isolation among sympatric cryptic species in marine diatoms / A. Amato, W.H.C.F. Kooistra, J.H. Levaldi Ghiron, D.G. Mann, T. Pröschold, M. Montresor // Protist. — 2007. — Vol. 158, iss. 2. — P. 193–207.
89. Amato, A. Morphology, phylogeny, and sexual cycle of *Pseudo-nitzschia mannii* sp. nov. (Bacillariophyceae): a pseudo-cryptic species within the *P. pseudodelicatissima* complex / A. Amato, M. Montresor // Phycologia. — 2008. — Vol. 47, iss. 5. — P. 487–497.
90. Amato, A. Diatom reproductive biology: living in a crystal cage / A. Amato // The International Journal of Plant Reproductive Biology. — 2010. — Vol. 2, N 1. — P. 1–10.
91. Amato, A. Species concepts and definitions: reproductive isolation as a tool to reveal species boundaries / A. Amato // Int. J. Plant Repr. Biol. — 2010. — Vol. 2, N 2. — P. 114–126.
92. Amato, A. Rare interspecific breeding in *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) / A. Amato, L. Orsini // Phytotaxa. — 2015. — Vol. 217, N 2. — P. 145–154.

93. Andersen, R.A. Recipes for freshwater and seawater media / R.A. Andersen, J.A. Berges, P.J. Harrison, M.M. Watanabe // *Algal culturing techniques* / Ed. R.A. Andersen — Elsevier Academic Press. 2005. — P. 429–538.
94. Aoyama, H. Complete elimination of maternal mitochondrial DNA during meiosis resulting in the paternal inheritance of the mitochondrial genome in *Chlamydomonas* species / H. Aoyama, Y. Hagiwara, O. Misumi, T. Kuroiwa, S. Nakamura // *Protoplasma*. — 2006. — Vol. 228. — P. 231–242.
95. Apt, K.E. Stable nuclear transformation of the diatom *Phaeodactylum tricornerutum* / K.E. Apt, A.R. Grossman, P.G. Kroth-Pancic // *Mol. Gen. Genet.* — 1996. — Vol. 252. — P. 572–579.
96. Archibald, J.M. The puzzle of plastid evolution / J.M. Archibald // *Curr. Biol.* — 2009. — Vol. 19. — P. R81–R88.
97. Armbrust, E.V. The genome of the diatom *Thalassiosira pseudonana*: ecology, evolution, and metabolism / E.V. Armbrust, J.A. Berges, C. Bowler, B.R. Green, D. Martinez [et al.] // *Science*. — 2004. — N 306. — P. 79–86.
98. Armbrust, E.V. Role of light and the cell cycle on the induction of spermatogenesis in a centric diatom / E.V. Armbrust, S.W. Chisholm, R.J. Olson // *J. Phycol.* — 1990. — Vol. 26, iss. 3. — P. 470–478.
99. Armbrust, E.V. Identification of a new gene family expressed during the onset of sexual reproduction in the centric diatom *Thalassiosira weissflogii* / E.V. Armbrust // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1999. — Vol. 65, N 7. — P. 3121–3128.
100. Armbrust, E.V. Rapid evolution of a sexual reproduction gene in centric diatom of the genus *Thalassiosira* / V.E. Armbrust, H.M. Galindo // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2001. — Vol. 67, N 8. — P. 3501–3513.
101. Armbrust, E.V. The life of diatoms in the world's oceans / E.V. Armbrust // *Nature*. — 2009. — N 459. — P. 185–192.
102. Ashworth, M.P. Revisiting Ross and Sims (1971): toward a molecular phylogeny of the Biddulphiaceae and Eupodiscaceae (Bacillariophyceae) / M.P. Ashworth, T. Nakov, E.C. Theriot // *Journal of Phycology*. — 2013. — Vol. 49, iss. 6. — P. 1207–1222.
103. Austin, R.W. Spectral dependence of the diffuse attenuation coefficient of light in ocean water / R.W. Austin, T.J. Petzold // *Opt. Eng.* — 1986. — Vol. 25. — P. 471–479.
104. Barr, C.M. Inheritance and recombination of mitochondrial genomes in plants, fungi and animals / C.M. Barr, M. Neiman, D.R. Taylor // *New Phytol.* — 2005. — Vol. 168. — P. 39–50

105. Bates, S.S. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada / S.S. Bates, C.J. Bird, A.S.W. de Freitas, R. Foxall, M. Gilgan [et al.] // Can. J. Fish. Aquat. Sci. — 1989. — Vol. 46. — P. 1203–1215.
106. Bates, S.S. Factors affecting the sexual reproduction of diatoms, with emphasis on *Pseudo-nitzschia* spp. / S.S. Bates, N.A. Davidovich // Report on the workshop on: LIFEHAB: Life histories of microalgal species causing harmful blooms / Eds E. Garcés, A. Zingone, M. Montresor, B. Reguera, B. Dale. Research in Enclosed Seas series, 12. Eur 20361. — Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities, 2002. — P. 31–36.
107. Beakes, G.W. Zoospore ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* and *Z. planktonicum*, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa*. / G.W. Beakes, H.M. Canter, G.H.M. Jaworski // Can. J. Bot. — 1988. — Vol. 66. — P. 1054–1067.
108. Beckers, M.C. The fate of mitochondrial DNAs of mt+ and mt– origin in gametes and zygotes of *Chlamydomonas* / M.C. Beckers, C. Munaut, A. Minet, R.F. Matagne // Curr. Genet. — 1991. — Vol. 20. — P. 239–243
109. Behnke, A. Reproductive compatibility and rDNA sequence analyses in the *Sellaphora pupula* species complex (Bacillariophyta) / A. Behnke, T. Friedl, V.A. Chepurinov, D.G. Mann // J. Phycol. — 2004. — Vol. 40, iss. 1. — P. 193–208.
110. Bell, G. The evolution of anisogamy / G. Bell // J. Theor. Biol. — 1978. — Vol. 73, iss. 2. — P. 247–270.
111. Berger, K.H. Mitochondrial DNA inheritance in *Saccharomyces cerevisiae* / K.H. Berger, M.P. Yaffe // Trends Microbiol. — 2000. — Vol. 8. — P. 508–513
112. Björn, L.O. Diatoms: their strange evolution and remarkable properties / L.O. Björn, G. Cronberg // Acta Biol. Slovenica. — 2009. — Vol. 52. — P. 33–40.
113. Bondoc, K.G.V. Searching for a mate: pheromone-directed movement of the benthic diatom *Seminavis robusta* / K.G.V. Bondoc, C. Lembke, W. Vyverman, G. Pohnert // Microbial Ecology. — 2016. — Vol. 72, iss. 2. — P. 287–294. [Electronic resource]. — Mode of access: <http://doi:10.1007/s00248-016-0796-7> (Date of reference: 11.05.2017).
114. Bornet, B. Development of sequence characterized amplified region markers from intersimple sequence repeat fingerprints for the molecular detection of toxic phytoplankton *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) and *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (Bacillariophyceae) from French coastalwaters / B. Bornet, E. Antoine, S. Françoise, C. Marcaillou-Le Baut // J. Phycol. — 2005. — Vol. 41, iss. 3. — P. 704–711.

115. Bowler, C. The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes / C. Bowler, A.E. Allen, J.H. Badger, J. Grimwood, K. Jabbari [*et al.*] // Nature. — 2008. — Vol. 456. — P. 239–244.
116. Bruckmayer-Berkenbusch, H. Die Beeinflussung der Auxosporenbildung von *Melosira nummuloides* durch Aussenfactoren / H. Bruckmayer-Berkenbusch // Arch. Protistenkd. — 1954. — Vol. 100, N 2. — P. 183–211.
117. Carter, H.J. On the conjugation of *Cocconeis*, *Cymbella* and *Amphora* / H.J. Carter // Ann. Mag. Nat. Hist. — 1856. — Vol. 17, ser. 2. — P. 1–9.
118. Carter, H.J. Conjugations of *Navicula serians*, *N. rhomboides* and *Pinnularia gibba* / H.J. Carter // Ann. Mag. Nat. Hist. — 1865. — Vol. 15, ser. 3. — P. 161–175.
119. Casteleyn, G. *Pseudo-nitzschia pungens* (Bacillariophyceae): A cosmopolitan diatom species? / G. Casteleyn, V.A. Chepurnov, F. Leliaert, D.G. Mann, S.S. Bates [*et al.*] // Harmful Algae. — 2008. — Vol. 7, N 2. — P. 241–257.
120. Cerdan, P.D. Regulation of flowering time by light quality / P.D. Cerdan, J. Chory // Nature. — 2003. — Vol. 423. — P. 881–884.
121. Chepurnov, V.A. Inbreeding influence on sexual reproduction of *Achnanthes longipes* Ag. (Bacillariophyta) / V.A. Chepurnov, A.M. Roschin // Diatom Res. — 1995. — Vol. 10, iss. 1. — P. 21–29.
122. Chepurnov, V.A. Variation in the sexual behaviour of natural clones of *Achnanthes longipes* (Bacillariophyta) / V.A. Chepurnov, D.G. Mann // Eur. J. Phycol. — 1997. — Vol. 32, iss. 2. — P. 147–154.
123. Chepurnov, V.A. Variation in the sexual behaviour of *Achnanthes longipes* (Bacillariophyta). II. Inbred monoecious lineages / V.A. Chepurnov, D.G. Mann // Eur. J. Phycol. — 1999. — Vol. 34, iss. 1. — P. 1–11.
124. Chepurnov, V.A. Variation in the sexual behaviour of *Achnanthes longipes* (Bacillariophyta). III. Progeny of crosses between monoecious and unisexual clones / V.A. Chepurnov, D.G. Mann // Eur. J. Phycol. — 2000. — Vol. 35, iss. 3. — P. 213–223.
125. Chepurnov, V.A. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms / V.A. Chepurnov, D.G. Mann, K. Sabbe, W. Vyverman // Int. Rev. Cytol. — 2004. — Vol. 237. — P. 91–154.
126. Chepurnov, V.A. Sexual reproduction, mating system, chloroplast dynamics and abrupt cell size reduction in *Pseudo-nitzschia pungens* from the North sea (Bacillariophyta) / V.A. Chepurnov, D.G. Mann, K. Sabbe, K. Vannerum, G. Casteleyn [*et al.*] // Eur. J. Phycol. — 2005. — Vol. 40, iss. 4. — P. 379–395.

127. Chepurnov, V.A. How to breed diatoms: examination of two species with contrasting reproductive biology / V.A. Chepurnov P. Chaerle, K. Vanhoutte, D.G. Mann // The science of algal fuels: Phycology, Geology, Biophotonics, Genomics and Nanotechnology. Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology / Eds R. Gordon, J. Seckbach. — 2012. — Vol. 25. — P. 323–340.
128. Chepurnov, V.A. Auxosporulation of *Licmophora communis* (Bacillariophyta) and a review of mating systems and sexual reproduction in araphid pennate diatoms / V.A. Chepurnov, D.G. Mann // Phycol. Res. — 2004. — Vol. 52, iss. 1. — P. 1–12.
129. Chepurnov, V.A. Experimental studies on sexual reproduction in diatoms / V.A. Chepurnov, D.G. Mann, K. Sabbe, W. Vyverman // Int. Rev. Cytol. — 2004. — Vol. 237. — P. 91–154.
130. Crawford, R.M. The role of sex in the sedimentation of a marine diatom bloom / R.M. Crawford // Limnol. Oceanogr. — 1995. — Vol. 40, N 1. — P. 200–204.
131. D'Alelio, D. Sexual and vegetative phases in the planktonic diatom *Pseudo-nitzschia multistriata* / D. D'Alelio, A. Amato, A. Luedeking, M. Montresor // Harmful Algae. — 2009. — Vol. 8, N 2. — P. 225–232.
132. Dassow, P. von Inter- and intraspecific relationships between nuclear DNA content and cell size in selected members of the centric diatom genus *Thalassiosira* (Bacillariophyceae) / P. von Dassow, T.W. Petersen, V.A. Chepurnov, E.V. Armbrust // J. Phycol. — 2008. — Vol. 44, iss. 2. — P. 335–349.
133. Davidovich, N.A. Cell division time in the diatom alga *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar. et Kar. (Bacillariophyta) at different stages of the life cycle / N.A. Davidovich // Russian Journal of Plant Physiology (Fiziologiya Rastanii — Engl. Transl.) — 1992. — Vol. 39, N 3, part 2. — P. 386–390.
134. Davidovich, N.A. Factors controlling the size of initial cells in diatoms / N.A. Davidovich // Russian Journal of Plant Physiology. — 1994. — Vol. 41, N 2. — P. 220–224.
135. Davidovich, N.A. Transition to sexual reproduction and control of initial cell size in *Nitzschia lanceolata*. / N.A. Davidovich // Diatom Res. — 1998. — Vol. 13, iss. 1. — P. 29–38.
136. Davidovich, N.A. Patterns of sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseriis* and *P. pseudodelicatissima* / N.A. Davidovich, S.S. Bates // Harmful microalgae / Eds B. Reguera, J. Blanco, M.L. Fernandez, T. Wyatt — Xunta de Galicia and the IOC of UNESCO, Paris. 1998a. — P. 152–155.
137. Davidovich, N.A. Sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseriis* and *P. pseudodelicatissima* (Bacillariophyceae) / N.A. Davidovich, S.S. Bates // J. Phycol. — 1998b. — Vol. 34, iss. 1. — P. 126–137.

138. Davidovich, N.A. Sexual reproduction of *Berkeleya micans* (Lyngb.) Grun. (Bacillariophyta) / N.A. Davidovich // Int. J. Algae. — 2001a. — Vol. 3, iss. 3. — P. 1–12.
139. Davidovich, N.A. Species specific sizes and size range of sexual reproduction in diatoms / N.A. Davidovich // Proceedings of the 16th International Diatom Symposium : Athens & Aegean Islands, 25 August – 1 September 2000 / Ed. A. Economou - Amilli. — Athens : University of Athens, Faculty of Biology, 2001b. — P. 191–196.
140. Davidovich, N.A. *Pseudo-nitzschia* life cycle and the sexual diversity of clones in diatom populations / N.A. Davidovich, S.S. Bates // Proceedings of the LIFEHAB Workshop: Life histories of microalgal species causing harmful blooms Research in Enclosed Seas. Series, 12 / Eds E. Garcés, A. Zingone, M. Montresor, B. Reguera, B. Dale — Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities, 2002. 2002. — P. 27–30.
141. Davidovich, N.A. Additional evidence for the diplogenotypic sex distribution in the unicellular diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs / N.A. Davidovich // Abstract book of the First (Inaugural) Ukrainian Congress for Cell Biology, Lviv, April 25-28. — Lviv, 2004. — P. 175.
142. Davidovich, N.A. The sexual structure of a natural population of the diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs / N.A. Davidovich, I. Kaczmarska, J.M. Ehrman // Proceedings of the 18th International Diatom Symposium : Miedzyzdroje, Poland, 2-7 September, 2004 / Ed. A. Witkowski. — Bristol : Biopress Limited, 2006. — P. 27–40.
143. Davidovich, N.A. Reproduction chez la diatomée pennée *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen / N. Davidovich, J.-L. Mouget, P. Gaudin // Cryptogamie Algol. — 2008. — Vol. 29, N 4. — P. 359.
144. Davidovich, N.A. Heterothallism in the pennate diatom *Haslea ostrearia* (Bacillariophyta). / N.A. Davidovich, J.-L. Mouget, P. Gaudin // Eur. J. Phycol. — 2009. — Vol. 44, iss. 2. — P. 251 — 261.
145. Davidovich, N.A. Tendencies in development of reproductive biology in diatomic algae / N.A. Davidovich // Int. J. Algae. — 2010. — Vol. 12, iss. 1. — P. 5–18.
146. Davidovich, N.A. Heterothallic and homothallic sexual reproduction in *Tabularia fasciculata* (Bacillariophyta) / N.A. Davidovich, I. Kaczmarska, J.M. Ehrman // Fottea. — 2010. — Vol. 10, N 2. — P. 251–266.
147. Davidovich, N.A. Sexual reproduction and mating system of the diatom *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijs (Bacillariophyta) / N.A. Davidovich, O.I. Davidovich // Int. J. Algae. — 2011. — Vol. 13, iss. 1. — P. 18–36.

148. Davidovich, N.A. Sexual reproduction in the newly-described blue diatom, *Haslea karadagensis* / N.A. Davidovich, R. Gastineau, P. Gaudin, O.I. Davidovich, J-L. Mouget // *Fottea*, Olomouc. — 2012a. — Vol. 12, N 2. — P. 219–229.
149. Davidovich, N.A. Mechanism of male gamete motility in araphid pennate diatoms from the genus *Tabularia* (Bacillariophyta) / N.A. Davidovich, I. Kaczmarska, S.A. Karpov, O.I. Davidovich, M.L. MacGillivray, L. Mather // *Protist*. — 2012b. — Vol. 163, iss. 3. — P. 480–494. (on–line version : doi:10.1016/j.protis.2011.09.002)
150. Davidovich, N.A. Nonoogamous sexual reproduction in the polar centric diatom *Ardissonea crystallina* / N.A. Davidovich, O.I. Davidovich, Y.A. Podunay // *Protistology*. 2016. — Vol. 10, N 2. — P. 93.
151. Davidovich N.A. *Ardissonea crystallina* has a type of sexual reproduction that is unusual for centric diatoms [Electronic resource] / N.A. Davidovich, O.I. Davidovich, Y.A. Podunay, R. Gastineau, I. Kaczmarska, A. Poulíčková, A. Witkowski // *PLScientific Reports*. — 2017. — Vol. 7, No 14670. — P. 1–16. . — Mode of access: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-15301-z> (Date of reference: 11.05.2018).
152. de Bruin, A. Genetic variation in *Asterionella formosa* (Bacillariophyceae): is it linked to frequent epidemics of host-specific parasitic fungi? / A. de Bruin, B.W. Ibelings, M. Rijkeboer, M. Brehm, E. van Donk // *J. Phycol.* — 2004. — Vol. 40, iss. 5. — P. 823–830.
153. de Queiroz, K. Species concepts and species delimitation / K. de Queiroz // *Syst. Biol.* — 2007. — Vol. 56, N 6. — P. 879–886.
154. Dobzhansky, T. A critique of the species concept in biology / T. Dobzhansky // *Philos. Sci.* — 1935. — Vol. 2. — P. 344–355.
155. Dobzhansky, T. Mendelian populations and their evolution. / T. Dobzhansky // *Am. Nat.* — 1950. — Vol. 84 — P. 401–418.
156. Dobzhansky, T. Genetics and the origin of species. 1st edition. Columbia biological series, N 11 / T. Dobzhansky. — New York : Columbia University Press, 1951. — P. 364.
157. Dolukhanov, P.M. The Initial Expansion of Anatomically Modern Humans in Northern Eurasia: New Evidence and New Hypotheses *Journal of Siberian Federal University* / P.M. Dolukhanov // *Humanities & Social Sciences*. — 2008. — Vol. 1. — P. 273–283.
158. Drebes, G. On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana*. / G. Drebes // *Helgolander wissenschaftliche Meeresuntersuchungen*. — 1966. — Vol. 13, N 1–2. — P. 101–114.
159. Drebes, G. Sexuality / G. Drebes // *The Biology of Diatoms*. Botanical Monographs Vol. 13 / Ed. D. Werner. — Oxford, UK : Blackwell, 1977. — P. 250–283.

160. Edgar, R. Motile male gametes of the araphid diatom *Tabularia fasciculata* search randomly for mates [Electronic resource] / R. Edgar, D. Drolet, J.M. Ehrman, I. Kaczmariska // PLoS ONE. — 2014. — Vol. 9, iss. 7: e101767. — Mode of access: <http://doi:10.1371/journal.pone.0101767> (Date of reference: 11.05.2017).
161. Edlund, M.B. Ecological, evolutionary, and systematic significance of diatom life histories / M.B. Edlund, E.F. Stoermer // J. Phycol. — 1997. — Vol. 33, iss. 6. — P. 897–918.
162. Edlund, M.B. 1 Intra- and inter-specific differences in gametangial and initial cell size in diatoms. / M.B. Edlund, R.J. Bixby // Proceedings of the 16th International Diatom Symposium, 25 August - 1 September 2000, Athens & Aegean Islands / Ed. Economou - Amilli. — Athens, Greece : University of Athens, 2001. — P. 169–190.
163. Evans, K.M. Microsatellite marker development and genetic variation in the toxic marine diatom *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Bacillariophyceae) / K.M. Evans, S.S. Bates, L.K. Medlin, P.K. Hayes // J. Phycol. — 2004. — Vol. 40, iss. 5. — P. 911–920.
164. Evans, K.M. An assessment of potential diatom "barcode" genes (*cox1*, *rbcL*, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in Sellaphora (Bacillariophyta) / K.M. Evans, A.H. Wortley, D.G. Mann // Protist. — 2007. — Vol. 158, iss. 3. — P. 349–364.
165. Evans, K.M. Highly differentiated populations of the freshwater diatom *Sellaphora capitata* suggest limited dispersal and opportunities for allopatric speciation / K.M. Evans, V.A. Chepurinov, H.J. Sluiman, S.J. Thomas, B.M. Spears, D.G. Mann // Protist. — 2009. — Vol. 160, iss. 3. — P. 386–396.
166. Fontaine, K.M. Evidence for paternal leakage in hybrid periodical cicadas (Hemiptera: *Magicicada* spp.) [Electronic resource] / K.M. Fontaine, J.R. Cooley, C. Simon // PLoS ONE. — 2007. — Vol. 2, iss. 9: e892. — Mode of access: <http://doi:10.1371/journal.pone.0000892> (Date of reference: 11.05.2017).
167. French, F.W. III Spore formation in the life cycles of the diatoms *Chaetoceros diadema* and *Leptocylindrus danicus* / F.W. III French, P.E. Hargraves // J. Phycol. — 1985. — Vol. 21, iss. 3. — P. 477–483.
168. Frenkel, J. Pheromone signaling during sexual reproduction in algae / J. Frenkel, W. Vyverman, G. Pohnert // Plant J. — 2014. — Vol. 79, iss. 4. — P. 632–644.
169. Fryxell, G.A. Auxospore formation in an antarctic clone of *Nitzschia subcurvata* Hasle / G.A. Fryxell, S.A. Garza, D.L. Roelke // Diatom Res. — 1991. — Vol. 6, iss. 2. — P. 235–245.
170. Gaillon, B. Des huitres vertes, et des causes de cette coloration / B. Gaillon, // Annales Generales des Sciences Physiques. — 1820. — Vol. 7. — P. 89–94.

171. Gaillon, B. Des huîtres vertes, et des causes de cette coloration / B. Gaillon, // Journal de Physique, de Chimie, d'Histoire Naturelle et des Arts — 1820. — Vol. 91. — P. 222–225.
172. Gallagher, J.C. Cell enlargement in *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) / J.C. Gallagher // J. Phycol. — 1983. — Vol. 19, iss. 4. — P. 539–542.
173. Gapter, L.A. Filopodia [Electronic resource] / L.A. Gapter, C.W.V. Hogue, S.W. Moore, M.P. Sheetz // Manual of Cellular and Molecular Function / Eds. E.M. Sheetz, L. Gapter, C.W.V. Hogue. — 2010. — Mode of access: <http://manual.blueprint.org/Home/filopodia> (Date of reference: 11.05.2017).
174. Gastineau, R. *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta): a second blue diatom, recorded from the Black Sea and producing a novel blue pigment / R. Gastineau, N.A. Davidovich, J-F. Bardeau, A. Caruso, V. Leignel, Y. Hardivillier, B. Jacquette, O.I. Davidovich, Y. Rincé, P. Gaudin, E.J. Cox, J.-L. Mouget // Eur. J. Phycol. — 2012. — Vol. 47, iss. 4. — P. 469–479.
175. Gastineau, R. Inheritance of mitochondrial DNA in the pennate diatom *Haslea ostrearia* (Naviculaceae) during auxosporulation suggests a uniparental transmission / R. Gastineau, V. Leignel, B. Jacquette, Y. Hardivillier, A. Wulff, P. Gaudin, D. Bendahmane, N.A. Davidovich, I. Kaczmarska, J.-L. Mouget // Protist. — 2013. — Vol. 164, iss. 3. — P. 340–351.
176. Gastineau, R. A new blue-pigmented hasleoid diatom, *Haslea provincialis*, from the Mediterranean Sea / R. Gastineau, G. Hansen, N.A. Davidovich, O. Davidovich, J-F. Bardeau [et al.] // Eur. J. Phycol. — 2016. — Vol. 51, iss. 2. — P. 156–170.
177. Gastineau, R. Reproduction in Microalgae / R. Gastineau, N.A. Davidovich, G.M. Hallegraeff, I. Prober, J.-L. Mouget // Reproductive Biology of Plants / Eds. K.G. Ramawat, J.M. Mérillon, K.R. Shivanna. — CRC Press, 2014a. — P. 1–28.
178. Gastineau, R. *Haslea ostrearia*-like Diatoms: Biodiversity out of the Blue / R. Gastineau, N. Davidovich, G. Hansen, J. Rines, A. Wulff, I. [et al.] // Advances in Botanical Research: Sea Plants / Ed. N. Bourgougnon. — London : Academic Press, United Kingdom, 2014b. — Vol. 71. — P. 441–465.
179. Gastineau, R. Marennine, promising blue pigments from a widespread *Haslea* diatom species complex / R. Gastineau, F. Turcotte, J-B. Pouvreau, M. Morançais, J. Fleurence [et al.] // Mar. Drugs. — 2014c. — Vol. 12, N 6. — P. 3161–3189.
180. Geitler, L. Die Reduktionsteilung und Copulation von *Cymbella lanceolata* / L. Geitler // Arch. Protistenk. — 1927. — Vol. 58. — P. 465–507.
181. Geitler, L. Der Formwechsel der pennaten Diatomeen (Kieselalgen) / L. Geitler // Arch. Protistenk. — 1932. — Vol. 78. — P. 1–226.

182. Geitler, L. Reproduction and life history in diatoms / L. Geitler // Bot. Rev. — 1935. — Vol. 1, N 5. — P. 149–161.
183. Geitler, L. Die Auxosporenbildung von *Synedra ulna* / L. Geitler // Ber. Deutsch. Bot. Ges. — 1939a. — Vol. 57. — P. 432–436.
184. Geitler, L. Gameten- und Auxosporenbildung von *Synedra ulna* im Verleich mit anderen pennaten Diatomeen / L. Geitler // Planta: Arch. Wiss. Bot. — 1939b. — Vol. 30, N 3. — P. 551–566.
185. Geitler, L. Die Achsenlagen der Auxosporen und Erstlingszellen bei der Diatomee *Cymbella* / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1953. — Vol. 100, N 3. — P. 261–264.
186. Geitler, L. Die Achsenlagen der Auxosporen und Erstlingszellen bei der Diatomee *Cymbella* / L. Geitler, B. Mack // Österr. Bot. Z. — 1953. — Vol. 100. — P. 321–332.
187. Geitler, L. Lebendbeobachtung der Gametenfusion bei *Cymbella* / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1954. — Vol.101, N 1/2. — P. 74–78.
188. Geitler L. Automixis, Geschlechtsbestimmung und Pyknosem von Gonenkernen bei *Cymbella aspera* / L. Geitler // Planta. — 1956. — Vol. 47. — P. 359–373.
189. Geitler L. Die sexuelle Fortpflanzung der pennaten Diatomeen / L. Geitler // Biol. Rev. — 1957. — Vol. 32, N 3. — P. 261–295.
190. Geitler, L. Obligate padogamy Automixis bei einer Rasse von *Gomphonema angustatum* / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1960. — Vol. 107, N 3/4. — P. 275–280.
191. Geitler, L. Paarung und Auxosporenbildung bei *Cymbella* / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1967. — Vol. 114. — P. 484–489.
192. Geitler, L. Auxosporenbildung und Systematik bei pennaten Diatomeen und die Cytologie von *Cocconeis*-Sippen / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1973. — Vol. 122. — P. 299–321.
193. Geitler, L. Auxosporenbildung und Systematik bei pennaten Diatomeen und die Cytologie von *Cocconeis*-Sippen / L. Geitler // Österr. Bot. Z. — 1973. — Vol. 122. — P. 299–321.
194. Geitler, L. Die Lage des Chromatophors in Beziehung zur systematik von *Cymbella*-Arten (Bacillariophyceae) / L. Geitler // Plant. Syst. Evol. — 1981. — Vol. 138. — P. 153–156.
195. Geitler, L. Automixis bei pennaten Diatomeen / L. Geitler // Plant. Syst. Evol. — 1985. — Vol. 150, N 3/4. — P. 303–306.
196. Geng, S. Evolution of sexes from an ancestral mating-type specification pathway [Electronic resource] / S.Geng , P. De Hoff, J.G. Umen // PLoS Biol. — 2014. — Vol.12, iss. 7: e1001904. doi:10.1371/journal.pbio.1001904 — Mode of access: <http://doi:10.1371/journal.pbio.1001904> (Date of reference: 11.05.2017).

197. Gibson, W. Sex and evolution in trypanosomes. / W. Gibson // *Int. J. Parasitol.* — 2001. — Vol. 31. — P. 643–647.
198. Gillard, J. Metabolomics enables the structure elucidation of a diatom sex pheromone / J. Gillard, J. Frenkel, V. Devos, K. Sabbe, C. Paul, M. Rempt, D. Inzé, G. Pohnert, M. Vuylsteke, W. Vyverman // *Angew. Chem. Int. Ed.* — 2012. — Vol. 51. — P. 1–5.
199. Godhe, A. Genetic and microscopic evidence for sexual reproduction in the centric diatom *Skeletonema marinoi* / A. Godhe, A. Kremp, M. Montresor // *Protist.* — 2014. — Vol. 165, Iss 4. — P. 401–416.
200. Goodenough, U. Origins of eukaryotic sexual reproduction. [Electronic resource] / U. Goodenough, J. Heitman // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* — 2014. — Vol. 6: a016154 — Mode of access: <http://cshperspectives.cshlp.org/> (Date of reference: 19.06.2017).
201. Górecka, E. Monoraphid diatoms genus *Schizostauron* Grunow: the preliminary data on its diversity and a review of the life cycle / E. Górecka, N. Davidovich, O. Davidovich, A. Witkowski, M.P. Ashworth, D.G. Mann, P. Dąbek, C. Li, E. Gusev, J.S.M. Sabir, N.H. Hajrah // *Program & Abstracts, 24th International Diatom Symposium, Québec, Canada, 21-26 August 2016* / Eds R. Pienitz, C. Zimmermann. — Université Laval, 2016. — p. 179.
202. Griffith, J.W. On the conjugation of the Diatomaceae / J.W. Griffith // *Ann. Mag. Nat. Hist.* — 1855. — Vol. 16, ser. 2. — P. 92–94.
203. Guillard, R.R.L. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. / R.R.L. Guillard, J.H. Ryther // *Can. J. Microbiol.* — 1962. — Vol. 8. — P. 229–239.
204. Guillard, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding of marine invertebrates / R.R.L. Guillard // *Culture of marine invertebrates animals* / Ed. W. Smith, M. Chanley. — New York : Plenum Press, 1975. — P. 29–60.
205. Guillard, R.R.L. Culture methods. IOC Manual and guides. N 33., UNESCO / R.R.L. Guillard // *Manual on Harmful marine microalgae* / Eds G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson, A.D. Cembella. — New York, 1995. — P. 45–62.
206. Guiry, M.D. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. [Electronic resource] / M.D. Guiry, G.M. Guiry. — 2014. — Mode of access: <http://www.algaebase.org>; searched on 18 November 2014.
207. Harrison, P.J. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton / P.J. Harrison, R.E. Waters, F.J.R. Taylor // *J. Phycol.* — 1980. — Vol. 16. — P. 28–35.

208. Hasle, G.R. Taxonomy of diatoms / G.R. Hasle, G.A. Fryxell // IOC Manual on Harmful Marine Microalgae, IOC Manuals and Guides 33 / Eds G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson, A.D. Cembella. — Paris : UNESCO, 1995. — P. 341–366.
209. Hasle, G.R. *Pseudo-nitzschia* as a genus distinct from *Nitzschia* (Bacillariophyceae) / G.R. Hasle // J. Phycol. — 1994. — Vol. 30, iss. 6. — P. 1036–1039.
210. Hasle, G.R. A review of *Pseudo-nitzschia*, with special reference to the Skagerrak, North Atlantic, and adjacent waters / G.R. Hasle, C.B. Lange, E.E. Syversten // Helgolander meeresuntersuchungen. — 1996. — Vol. 50. — P. 131–175.
211. Hasle, G. Cymatosiraceae, a new diatom family / G. Hasle, H.A. von Stosch, E. Syvertsen // Bacillaria. — 1983. — Vol. 6. — P. 9–156.
212. Hausmann, K. Protistology. 3rd edition / K. Hausmann, N. Hausmann, R. Radek. — Verlagsbuchhandlung (Negele u. Obermiller), Berlin, Stuttgart, Germany, 2003. — 379 p.
213. Holmes, R.W. Short-term temperature and light conditions associated with auxospore formation in the marine centric diatom, *Coscinodiscus concinnus* W. Smith / R.W. Holmes // Nature. — 1966. — Vol. 209. — P. 217–218.
214. Holtermann, K.E. Mass sexual reproduction in the toxigenic diatoms *Pseudo-nitzschia australis* and *P. pungens* (Bacillariophyceae) on the Washington coast, USA / K.E. Holtermann, S.S. Bates, V.L. Trainer, A. Odell, E.V. Armbrust // J. Phycol. — 2010. — Vol. 46, iss. 1. — P. 41–52.
215. Hustedt, F. Phylogenetische Untersuchungen an Diatomeen. / F. Hustedt // Österr. Bot. Z. — 1958. — Vol. 105, N 1/3. — P. 193–211.
216. Hustedt, F. Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz / F. Hustedt // Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreichs und der Schweiz (Rabenhorst, L., editor). — Leipzig : Akademische Verlagsgesellschaft, 1961–1906. — P. 1–816.
217. Idei, M. Spermatogenesis and auxospore structure in the multipolar centric diatom *Hydrosera* / M. Idei, S. Sato, C. Nagasato, T. Motomura, K. Toyoda, T. Nagumo, D.G. Mann // J. Phycol. — 2015. — Vol. 51, iss. 1. — P. 144–158.
218. Jensen, K.G. Ultrastructure of the male gametes from two centric diatoms, *Chaetoceros lacinosus* and *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyceae) / K.G. Jensen, Ø. Moestrup, A.-M.M. Schmid // Phycologia. — 2003. — Vol. 42, iss. 1. — P. 98–105
219. Jewson, D.H. Life cycle of a *Stephanodiscus* sp. (Bacillariophyta) / D.H. Jewson // J. Phycology. — 1992. — Vol. 28, N 6. — P. 856–866.

220. Jewson, D.H. Size reduction, reproductive strategy and the life cycle of a centric diatom / D.H. Jewson // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.* — 1992. — Vol. B 335 (1277). — P. 191–213.
221. Kaczmarska, I. Molecular phylogeny of selected members of the order *Thalassiosirales* (Bacillariophyta) and evolution of the fultroportula / I. Kaczmarska, M. Beaton, A. Benoit, L. Medlin // *J. Phycol.* — 2005. — Vol. 42, iss. 1. — P. 121–138.
222. Kaczmarska, I. Diatom taxonomy: morphology, molecules and barcodes / I. Kaczmarska, C. Reid, M. Moniz // *Proceedings of the 1st Central-European Diatom Meeting, Berlin-Dahlem.* — Berlin : Freie Universität, 2007. — P. 69–72.
223. Kaczmarska I. Morphological, biological, and molecular characteristics of the diatom *Pseudonitzschia delicatissima* from the Canadian Maritimes / I. Kaczmarska, C. Reid, J.L. Martin, M.B.J. Moniz // *Botany.* — 2008. — Vol. 86. — P. 763–772.
224. Kaczmarska, I. Phenotypic and genetic structure of interbreeding populations of the diatom *Tabularia fasciculata* (Bacillariophyta) / I.Kaczmarska, J.M. Ehrman, M.B.J. Moniz, N. Davidovich // *Phycologia.* — 2009. — Vol. 48, iss. 5. — P. 391–403.
225. Kaczmarska, I. Proposals for a terminology for diatom sexual reproduction, auxospores and resting stages / I. Kaczmarska, A. Poulíčková, S. Sato, M.B. Edlund, M. Idei, T. Watanabe, D.G. Mann // *Diatom Res.* — 2013. — Vol. 28, iss. 3. — P. 263–294.
226. Kaczmarska, I. Structure and development of the auxospore in *Ardissonea crystallina* (C. Agardh) Grunow demonstrates another way for a centric to look like a pennate / I. Kaczmarska, J.M. Ehrman, N.A. Davidovich, O.I. Davidovich, Y.A. Podunay // *Protist.* — 2018. — Vol. 169, iss. 4. — P. 466–483.
227. Kling, H.J. *Asterionella formosa* Ralfs: the process of rapid size reduction and its possible ecological significance / H.J. Kling // *Diatom Res.* — 1993. — Vol. 8, iss. 2. — P. 475–479.
228. Kociolek, J.P. Chromosome numbers in diatoms: A review / J.P. Kociolek, E.F. Stoermer // *Diatom Res.* — 1989. — Vol. 4, iss. 1. — P. 47–54.
229. Kondo, R. Further observation of paternal transmission of *Drosophila* mitochondrial DNA by PCR selective amplification method / R. Kondo, E.T. Matsuura, S.I. Chigusa // *Genet. Res.* — 1992. — Vol. 59, N 2. — P. 81–84.
230. Kooistra, W.H.C.F. Phylogenetic position of *Toxarium*, a pennate-like lineage within centric diatoms (Bacillariophyceae) / W.H.C.F. Kooistra, M.D. Stefano, D.G.Mann, N.Salma, L.K. Medlin // *J. Phycol.* — 2003. — Vol. 39, Iss 1. — P. 185–197.

231. Kooistra, W.H.C.F. Global diversity and biogeography of *Skeletonema* species (Bacillariophyta) / W.H.C.F. Kooistra, D. Sarno, S. Balzano, H. Gu, R.A. Andersen, A. Zingone // Protist. — 2008. — Vol. 159, iss. 2. — P. 177–193.
232. Levaldi Ghiron, J.H. Plastid inheritance in the planktonic raphid pennate diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae) / J.H. Levaldi Ghiron, A. Amato, M. Montresor, W.H.C.F. Kooistra // Protist. — 2008. — Vol. 159, iss. 1. — P. 91–98.
233. Lewis, W.M. Jr. Interruption of synthesis as a cost of sex in small organisms / W.M. Lewis, Jr. // Am. Nat. — 1983. — Vol. 121, N 6. — P. 825–833.
234. Lewis, W.M. Jr. The diatom sex clock and its evolutionary significance / W.M. Lewis, Jr. // Am. Nat. — 1984. — Vol. 123, N 1. — P. 73–80.
235. Li, C.L. New Insights into *Plagiogrammaceae* (Bacillariophyta) based on multigene phylogenies and morphological characteristics with the description of a new genus and three new species. [Electronic resource] / C.L. Li, M.P. Ashworth, A. Witkowski, P. Dąbek, L.K. Medlin [et al.] // PLoS ONE. — 2015. — Vol. 10, iss. 10: e0139300. — Mode of access: <http://doi:10.1371/journal.pone.0139300>. (Date of reference: 11.05.2017).
236. Li, S. Nuclear transition between the conjunction cells of *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin (Bacillariophyta) / S. Li, K. Pan, B. Zhu, L. Zhang // J. Ocean Univ. China. — 2012. — Vol. 11. — P. 383–388.
237. Locker, F. Beiträge zur Kenntnis des Formwechsels der Diatomeen an Hand von Kulturversuchen / F. Locker // Österr. Bot. Z. — 1950. — Vol. 97. — P. 322–332.
238. Lopez-Villavicencio, M. Having sex, yes, but with whom? Inferences from fungi on the evolution of anisogamy and mating types / M. Lopez-Villavicencio, B. Devier, M.E. Hood, C. Fairhead, T. Giraud // Biol. Rev. — 2011. — Vol. 86, iss. 2. — P. 421–442.
239. Lüders, J.E. Beobachtungen über die Organisatio, Theilung und Copulation der Diatomeen / J.E. Lüders // Bot. Zeit. — 1862. — Vol. 20. — P. 41–42, 49–52, 57–61, 65–69.
240. Lundholm, N. Phylogeny of the Bacillariaceae with emphasis on the genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) based on partial LSU rDNA / N. Lundholm, N. Daugbjerg, Ø. Moestrup // Eur. J. Phycol. — 2002. — Vol. 37, iss. 1. — P. 115–134.
241. Lundholm, N. A study of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima/cuspidata* complex (Bacillariophyceae): what is *P. pseudodelicatissima*? / N. Lundholm, Ø. Moestrup, G.R. Hasle, K. Hoef-Emden // J. Phycol. — 2003. — Vol. 39, Iss 4. — P. 797–813.
242. Lundholm, N. Inter- and intraspecific variation of the *Pseudo-nitzschia delicatissima* complex (Bacillariophyceae) illustrated by rRNA probes, morphological data and phylogenetic analyses

- / N. Lundholm, Ø. Moestrup, Y. Kotaki, H. Koef-Emden, C. Scholin, P. Miller // J. Phycol. — 2006. — Vol. 42, iss. 2. — P. 464–481.
243. MacDonald, J.D. On the structure of the diatomaceous frustule, and its genetic cycle / J.D. MacDonald // Ann. Mag. Nat. Hist. ser. — 1869. — Vol. 4, N 3. — P. 1–8.
244. Mann, D.G. Auxospore formation in *Licmophora* (Bacillariophyta) / D.G. Mann // Plant Syst. Evol. — 1982. — Vol. 139. — P. 289–94.
245. Mann, D.G. Methods of sexual reproduction in *Nitzschia*: systematic and evolutionary implications. (Notes for a monograph of the Bacillariaceae 3) / D.G. Mann // Diatom Res. — 1986a. — Vol. 1, iss. 2. — P. 193–203.
246. Mann, D.G. *Nitzschia* subgenus *Nitzschia* (Notes for a monograph of the Bacillariaceae, 2). / D.G. Mann // Proceedings of the 8th Diatom Symposium, Paris 1984 / Ed. M. Ricard. — O. Koeltz, Koenigstein. 1986b. — P. 215–226.
247. Mann, D.G. Why didn't Lund see sex in *Asterionella*? A discussion of the diatom life cycle in nature / D.G. Mann // Algae and the Aquatic Environment / Ed. F.E. Round. — Biopress Ltd., Bristol. U.K. 1988. — P. 384–412.
248. Mann, D.G. On auxospore formation in *Caloneis* and the nature of *Amphiraphia* (Bacillariophyta) / D.G. Mann // Plant Syst. Evol. — 1989. — Vol. 163. — P. 43–52.
249. Mann, D.G. The genus *Craticula* / D.G. Mann, A.J. Stickle // Diatom Res. — 1991. — Vol. 6, iss. 1. — P. 79–107.
250. Mann, D.G. Patterns of sexual reproduction in diatoms / D.G. Mann // Hydrobiologia. — 1993a. — Vol. 269/270, N 1. — P. 11–20.
251. Mann, D.G. Sexual reproduction in a marine member of the Bacillariaceae. / D.G. Mann // Diatom Res. — 1993b. — Vol. 8, iss. 1. — P. 109–116.
252. Mann, D.G. Auxospore formation, reproductive plasticity and cell structure in *Navicula ulvacea* and the resurrection of the genus *Dickieia* (Bacillariophyta). / D.G. Mann // Eur. J. Phycol. — 1994a. — Vol. 29, iss. 3. — P. 141–157.
253. Mann, D.G. The origins of shape and form in diatoms: the interplay between morphogenetic studies and systematics / D.G. Mann // Shape and form in plants and fungi / Eds D.S. Ingram, A.J. Hudson. — London : Academic Press, 1994b. — P. 17–38.
254. Mann, D.G. The systematics of amphoroid diatoms: the life history of *Amphora arcus* / D.G. Mann // Nova Hedwigia. — 1994c. — Vol. 58, N 3-4. — P. 335–352.
255. Mann, D.G. 3. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms / D.G. Mann, S.J.M. Droop // Hydrobiologia. — 1996. — Vol. 336. — P. 19–32.

256. Mann, D.G. The species concept in diatoms (Phycological Reviews 18) / D.G. Mann // *Phycologia*. — 1999. — Vol. 38, iss. 6. — P. 437–495.
257. Mann, D.G. Mating system, sexual reproduction, and auxosporulation in the anomalous raphid diatom *Eunotia* (Bacillariophyta) / D.G. Mann, V.A. Chepurinov, M. Idei // *J. Phycol.* — 2003. — Vol. 39, iss. 6. — P. 1067–1084.
258. Mann, D.G. What have the Romans ever done for us? The past and future contribution of culture studies to diatom systematics / D.G. Mann, V.A. Chepurinov // *Nova Hedwigia*. — 2004. — Vol. 79. — P. 237–291.
259. Mann, D.G. Molecular genetics and the neglected art of diatomics / D.G. Mann, K.M. Evans // *Unravelling the algae — the past, present and future of algal molecular systematics* / Ed. by J. Brodie & J.M. Lewis. — CRC Press, Boca Raton, Florida. 2007. — P. 231–265.
260. Mann, D.G. Revision of the diatom genus *Sellaphora*: a first account of the larger species in the British Isles / D.G. Mann, S.J. Thomas, K.M. Evans // *Fottea*, Olomouc. — 2008. — Vol. 8, N 1. — P. 15–78.
261. Mann, D.G. Discovering diatom species: is a long history of disagreements about species-level taxonomy now at an end? / D.G. Mann // *Plant Ecol. Evol.* — 2010. — Vol. 143, N 3. — P. 251–264.
262. Mann, D.G. Size and Sex / D.G. Mann // *The Diatom World, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology* / Eds. J. Seckbach and J.P. Kociolek. — 2011. — Vol. 19, N 2. — P. 145–166.
263. Mann, D.G. An inordinate fondness? The number, distributions and origins of diatom species / D.G. Mann, P. Vanormelingen // *J. Euk. Microbiol.* — 2013. — Vol. 60. — P. 414–420.
264. Mann, D.G. Paedogamy and auxosporulation in *Nitzschia* sect. *Lanceolatae* (Bacillariophyta) / D.G. Mann, S. Sato, L. Rovira, R. Trobajo // *Phycologia*. — 2013. — Vol. 52, iss. 2. — P. 204–220.
265. Margulis, L. *Handbook of Protoctista* / L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (eds). — Boston, MA : Jones and Bartlett Publishers, 1990. — 914 p.
266. Matsuda H. Why are equally sized gametes so rare? The instability of isogamy and the cost of anisogamy / H. Matsuda, P.A. Abrams // *Evolutionary Ecology Research*. — 1999. — Vol. 1, N 7. — P. 769–784.
267. Mayr, E. *Systematics and the origin of species* / E. Mayr. — New York : Columbia University Press, 1942. — 334 p.
268. Mayr, E. *Animal species and evolution* / E. Mayr. — Cambridge, MA : Harvard University Press, 1963. — 797 p.

269. Mayr, E. The Biological Species Concept / E. Mayr // Species Concepts and Phylogenetic Theory: A Debate / Eds Q.D. Wheeler, R. Meier. — New York : Columbia University Press, 2000. — P. 17–29.
270. Mayr, E. Principles of Systematic Zoology / E. Mayr. — New York : McGraw-Hill, 1969. — 434 p.
271. McLachlan, J. Growth media-marine / J. McLachlan // Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements / Ed. J.R. Stein. — Cambridge : Cambridge University Press, 1973. — P. 25–31.
272. Medlin, L.K. Evolution of the diatoms: V. Morphological and cytological support for the major clades and a taxonomic revision / L.K. Medlin, I. Kaczmarska // Phycologia. — 2004. — Vol. 43, iss. 3. — P. 245–270.
273. Medlin, L.K. Evolution of the diatoms. VI. Assessment of the new genera in the araphids using molecular data / L.K. Medlin, I.Jung, R. Bahulikar, K. Mendgen, P. Kroth, W.H.C.F. Kooistra // Nova Hedwigia — 2008a. — Vol. 133. — P. 81–100.
274. Medlin, L.K. Molecular evidence confirms sister relationship of *Ardissonea*, *Climacosphenia*, and *Toxarium* within the bipolar centric diatoms (Bacillariophyta, Mediophyceae), and cladistic analyses confirm that extremely elongated shape has arisen twice in the diatoms / L.K. Medlin, S. Sato, D.G. Mann, W.H.C.F. Kooistra // J. Phycol. — 2008b. — Vol. 44, iss. 5. — P. 1340–1348.
275. Medlin, L.K. A review of the evolution of the diatoms from the origin of the lineage to their populations / L.K. Medlin // The Diatom World, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology / Eds J. Seckbach, J.P. Kociolek. — Springer Science+Business Media B.V., 2011. — Vol.19. — P. 93–118.
276. Medlin, L.K. Evolution of the diatoms: major steps in their evolution and a review of the supporting molecular and morphological evidence / L.K. Medlin // Phycologia. — 2016. — Vol. 55, iss. 1. — P. 79–103.
277. Melkonian, M. Systematics and evolution of the algae: Endocytobiosis and evolution of the major algal lineages / M. Melkonian // Progress in Botany. — 1996. — Vol. 57. — P. 281–311.
278. Mereschkowsky, K. Le plant considéré comme un complexe symbiotique / K. Mereschkowsky // Bull. Soc. Nat. Sci. Ouest — 1905. — Vol. 6. — P. 17–98.
279. Meusel, M.S. Transfer of paternal mitochondrial DNA during fertilization of honeybee (*Apis mellifera* L.) eggs / M.S. Meusel, R.F. Moritz // Curr. Genet. — 1993. — Vol. 24, N 6. — P. 539–43.

280. Migita, S. Sexual reproduction of centric diatom *Skeletonema costatum* / S. Migita // Nip. Suis. Gak. — 1967. — Vol. 33. — P. 392–398.
281. Migita, S. Sexual reproduction of *Melosira moniliformis* Agardh / S. Migita // Bull. Fac. Fish., Nagasaki Univ., 1967. — Vol. 23. — P. 123–133.
282. Mignerot, L. The origin and evolution of the sexes: Novel insights from a distant eukaryotic lineage / L. Mignerot, S.M. Coelho // C. R. Biologies — 2016. — Vol. 339, iss. 7–8. — P. 252–257.
283. Miquel, P. De la culture artificielle des Diatomées / P. Miquel // Paris: C. R. Academy of Sciences, 1892. — Vol. 114. — P. 780–782.
284. Mizuno, M. Sexual reproduction and auxospore formation in *Achnanthes javanica* f. *subconstricta* / M. Mizuno // Diatom Res. — 1994. — Vol. 9, iss. 1. — P. 133–141.
285. Mizuno, M. Evolution of meiotic patterns of oogenesis and spermatogenesis in centric diatoms / M. Mizuno // Phycol. Res. — 2006. — Vol. 54, iss. 1. — P. 57–64.
286. Mizuno, M. Evolution of centric diatoms inferred from patterns of oogenesis and spermatogenesis / M. Mizuno // Phycol. Res. — 2008. — Vol. 56, iss. 3. — P. 156–165.
287. Mock, T. Genomics and genetics of diatoms / T. Mock, L.K. Medlin // Genomic Insights into the Biology of Alga. Advances in Botanical Research / Ed. Gwenaël Piganeau. — 2012. — Vol. 64. — P. 245–284.
288. Montsant, A. Diatomics: Toward Diatom Functional Genomics / A. Montsant, U. Maheswari, C. Bowler, P.J. Lopez // J. Nanosc. Nanotechn. — 2004. — Vol. 5, N 1. — P. 1–11.
289. Montsant, A. Identification and comparative genomic analysis of signaling and regulatory mechanisms in the diatom *Thalassiosira pseudonana* / A. Montsant, A.E. Allen, S. Coesel, A. De Martino [*et al.*] // J. Phycol. — 2007. — Vol. 43. — P. 585–604.
290. Mouget, J.-L. Light is a key factor in triggering sexual reproduction in the pennate diatom *Haslea ostrearia* / J.-L. Mouget, R. Gastineau, O. Davidovich, P. Gaudin, N.A. Davidovich // FEMS Microbiol. Ecol. — 2009. — Vol. 69, N 2. — P. 194–201.
291. Moustafa, A. Genomic footprints of a cryptic plastid endosymbiosis in diatoms / A. Moustafa, B. Beszteri, U.G. Maier, C. Bowler, K. Valentin, D. Bhattacharya // Science. — 2009. — Vol. 324. — P. 1724–1726.
292. Nakov, T. Accelerated diversification is related to life history and locomotion in a hyperdiverse lineage of microbial eukaryotes / T. Nakov, J.M. Beaulieu, A.J., Alverson // New Phytologist. — 2018. — Vol. 219, iss. 1. — P. 462–473.

293. Nagai, S. Restoration of cell size by vegetative cell enlargement in *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyceae) / S. Nagai, Y. Hori, T. Manabe, I. Imai // *Phycologia*. — 1995. — Vol. 34, iss. 6. — P. 533–535.
294. Nagai, S. The effect of salinity on the size of initial cells during vegetative cell enlargement of *Coscinodiscus wailesii* (Bacillariophyceae) in culture / S. Nagai, I. Imai // *Diatom Res.* — 1999. — Vol. 14, iss. 2. — P. 337–342.
295. Nakamura, S. Paternal inheritance of mitochondria in *Chlamydomonas*. / S. Nakamura // *J. Plant Res.* — 2010. — Vol. 123. — P. 163–170
296. Nesterovich, A. Initial cells of a freshwater diatom *Frustulia crassinervia* (Brébisson) Lange-Bertalot & Krammer / A. Nesterovich // Twentysecond International Diatom Symposium, Aula Academica, Ghent, 26-31 August 2012. Abstracts / Eds Sabbe Koen, Van de Vijver Bart & Vyverman Wim. — VLIZ Special Publication, 2012. — Vol. 58. — P. 198.
297. Neuville, D. Observations prer liminaires concernant al'auxosporulation chez la diatomer e *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory en culture in vitro / D. Neuville, P. Daste // *C. R. Acad. Sci. Paris*, — 1975. — 281 (Ser rie D). — P. 1753–1756.
298. Neuville, D. Observations concernant les phases de l'auxosporulation chez la diatomer e *Navicula ostrearia* (Gaillon) Bory en culture in vitro / D. Neuville, P. Daste // *C. R. Acad. Sci. Paris.*, — 1979. — 288 (Serrie D). — P. 1496–1498.
299. Nunnari, J. Mitochondrial transmission during mating in *S. cerevisiae* is determined by mitochondrial fusion and fission and the intramitochondrial segregation of mtDNA / J. Nunnari, W. Marshall, A. Straight, A. Murray, J.W. Sedat, P. Walter // *Mol. Biol. Cell.* — 1997. — Vol. 8. — P. 1233–1242.
300. Orsini, L. Multiple rDNA ITS-types within the diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima* (Bacillariophyceae) and their relative abundances across a spring bloom in the Gulf of Naples / L. Orsini, G. Procaccini, D. Sarno, M. Montresor // *Mar. Ecol. Prog. ser.* — 2004. — Vol. 271. — P. 87–98.
301. Patil, S. Identification of the meiotic toolkit in diatoms and exploration of meiosis-specific SPO11 and RAD51 homologs in the sexual species *Pseudo-nitzschia multistriata* and *Seminavis robusta* [Electronic resource] / S. Patil, S. Moeys, P. von Dassow, M.J.J. Huysman, D. Mapleson, L. De Veylder, R. Sanges, W. Vyverman, M. Montresor, M.I. Ferrante // *BMC Genomics* — 2015. — Vol. 16, N 930. — Mode of access : <http://doi: 10.1186/s12864-015-1983-5> (Date of reference : 11.05.2017).
302. Peragallo, H. Diatomées marines de France et des districts maritimes voisins / H. Peragallo, M. Peragallo. — Grez-sur-Loing : J. Tempère, Micrographe-Editeur 1897–1908. — P. 1–491.

303. Pfitzer, E. Über den Bau und Zeilteilung der Diatomeen / E. Pfitzer // *Botanische Zeitung*. — 1869. — Vol. 27, N 46. — P. 774–776.
304. Pfitzer, E. Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen (Diatomaceen) / E. Pfitzer // *Botanische Abhandlungen aus dem Gebiet der Morphology und Phycologie*. — 1871. — Vol. 1, N 2. — P. 1–189.
305. Pickett-Heaps, J. Active gliding motility in an araphid marine diatom, *Ardissonea* (formerly *Synedra*) *crystallina* / J. Pickett-Heaps, D.R.A. Hill, K.L. Blaze // *J. Phycol.* — 1991. — Vol. 27. — P. 718–725.
306. Podunay, Yu.A. Mating system and two types of gametogenesis in the fresh water diatom *Ulnaria ulna* (Bacillariophyta) / Yu.A. Podunay, O.I. Davidovich, N.A. Davidovich // *Альгология*. — 2014. — Vol. 24, N 1. — P. 3–19.
307. Poulíčková, A. Pseudocryptic diversity versus cosmopolitanism in diatoms: a case study on *Navicula cryptocephala* Kütz. (Bacillariophyceae) and morphologically similar taxa / A. Poulíčková, J. Veselá, J. Neustupa, P. Skaloud // *Protist*. — 2010. — Vol. 161, iss. 3. — P. 353–369.
308. Poulsen, N. Molecular genetic manipulation of the diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae) / N. Poulsen, P.M. Chesley, N. Kröger // *J. Phycol.* — 2006. — Vol. 42, iss. 5. — P. 1059–1065.
309. Poulsen, N. Silica immobilization of an enzyme through genetic engineering of the diatom *Thalassiosira pseudonana* / N. Poulsen, C. Berne, J. Spain, N. Kröger // *Angew. Chem. Int. Ed.* — 2007. — Vol. 46, iss. 11. — P. 1843–1846.
310. Pritchard, A. A history of Infusoria, including Desmidiaceae and Diatomaceae, British and foreign. Edition IV / A. Pritchard // Revised and enlarged by J.T. Arlidge, W. Archer, J. Ralfs, W.C. Williamson, A. Pritchard. — London, 1861. — 968 p.
311. Quijano-Scheggia, S. Homothallic auxosporulation in *Pseudo-nitzschia brasiliiana* (Bacillariophyta) / S. Quijano-Scheggia, E. Garcés, K. Andree, J.M. Fortuño, J. Camp // *J. Phycol.* — 2009. — 45, iss. 1. — P. 100–107.
312. Quijano-Scheggia, S. Morphology, physiology, molecular phylogeny and sexual compatibility of the cryptic *Pseudo-nitzschia delicatissima* complex (Bacillariophyta), including the description of *P. arenysensis* sp. nov. / S.I. Quijano-Scheggia, E. Garcés, N. Lundholm, Ø. Moestrup, K. Andree, J. Camp // *Phycologia*. — 2009. — Vol. 48, iss. 6. — P. 492–509.
313. Rastogi, A. Probing the evolutionary history of epigenetic mechanisms: what can we learn from marine diatoms / A. Rastogi, X. Lin, B. Lombard, D. Loew, L. Tirichine // *AIMS Genetics*. — 2015. — Vol. 2, iss. 3. — P. 173–191.

314. Richards, M. Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans / M. Richards, V. Macaulay, E. Hickey, E. Vega, B. Sykes [*et al.*] // *Science*. — 1988. — Vol. 239, iss. 4845. — P. 1263–1268.
315. Rimet, F. When is sampling complete? The effects of geographical range and marker choice on perceived diversity *Nitzschia palea* (Bacillariophyta) / F. Rimet, R. Trobajo, D.G. Mann, L. Kermarrec, A. Franc, I. Domaizon, A. Bouchez // *Protist*. — 2014. — Vol. 165, iss. 3. — P. 245–259.
316. Roessler, P.G. Characteristics of abrupt size reduction in *Synedra ulna* (Bacillariophyceae) / P.G. Roessler // *Phycologia*. — 1988. — Vol. 27, iss. 2. — P. 294–297.
317. Roshchin, A.M. Dioecy and monoecy in the pennate diatoms (with reference to the centric taxa) / A.M. Roshchin, V.A. Chepurnov // 14th International Diatom Symposium 1996 / Eds Mayama S., Idei M., Koizumi I. — Koenigstein : Koeltz Scientific Books, 1999. — P. 241–261.
318. Rosowski, J.R. COMMENT on the report of gametogenesis, oogamy, and uniflagellated sperm in the pennate diatom *Nitzschia pungens* (1991. *J. Phycol.* 27: 21-26) / J.R. Rosowski, L.M. Johnson, D.G. Mann // *J. Phycol.* — 1992. — Vol. 28, iss. 4. — P. 570–574.
319. Round, F.E. The problem of reduction of cell size during diatom cell division / F.E. Round // *Nova Hedwigia*. — 1972. — Vol. 23. — P. 291–303.
320. Round, F.E. The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera. / F.E. Round, R.M. Crawford, D.G. Mann // Cambridge : Cambridge University Press, 1990. — 747 p.
321. Rynearson, T.A. Genetic differentiation among populations of the planktonic marine diatom *Ditylum brightwellii* (Bacillariophyceae) / T.A. Rynearson, E.V. Armbrust // *J. Phycol.* — 2004. — Vol. 40, iss. 1. — P. 34–43.
322. Sabatino, V. Establishment of genetic transformation in the sexually reproducing diatoms *Pseudo-nitzschia multistriata* and *Pseudo-nitzschia arenysensis* and inheritance of the transgene [Electronic resource] / V. Sabatino, M.T. Russo, S. Patil, G. d'Ippolito, A. Fontana, M.I. Ferrante // *Mar. Biotechnol.* — 2015. — Vol. 17, iss. 4. — Mode of access: <http://doi:10.1007/s10126-015-9633-0> (Date of reference: 11.05.2017).
323. Sabbe, K. Apomixis in *Achnanthes* (Bacillariophyceae); development of a model system for diatom reproductive biology / K. Sabbe, V.A. Chepurnov, W. Vyverman, D.G. Mann // *Eur. J. Phycol.* — 2004. — Vol. 39, iss. 3. — P. 327–341.
324. Sato, S. Auxospore fine structure and variation in modes of cell size changes in *Grammatophora marina* (Bacillariophyta) / S. Sato, D.G. Mann, T. Nagumo, J. Tanaka, T. Tadano, L.K. Medlin // *Phycologia*. — 2008. — Vol. 47, iss. 1. — P. 12–27.

325. Sato, S. *Pseudostriatella* (Bacillariophyta): a description of a new araphid diatom genus based on observations of frustule and auxospore structure and 18S rDNA phylogeny / S. Sato, D.G. Mann, S. Matsumoto, L.K. Medlin // *Phycologia*. — 2008. — Vol. 47, iss. 4. — P. 371–391.
326. Sato, S. A massive and simultaneous sex event of two *Pseudo-nitzschia* species / D. Sarno, A. Zingone, M. Montresor // *Deep-Sea Res. Part II*. — 2010. — Vol. 57, iss. 3–4. — P. 248–255.
327. Sato, S. Novel sex cells and evidence for sex pheromones in diatoms [Electronic resource] / S. Sato, G. Beakes, M. Idei, T. Nagumo, D.G. Mann // *PLoS ONE*. — 2011. — Vol. 6, iss. 10: e26923. — Mode of access: <http://doi:10.1371/journal.pone.0026923> (Date of reference: 11.05.2017).
328. Scalco, E. The dynamics of sexual phase in the marine diatom *Pseudo-nitzschia multistriata* (Bacillariophyceae) / E. Scalco, K. Stec, D. Iudicone, M.I. Ferrante, M. Montresor // *J. Phycol.* — 2014. — Vol. 50, iss. 5. — P. 817–828.
329. Schmid, A.M. Sexual reproduction in *Coscinodiscus granii* Gough in culture: a preliminary report / A.-M.M. Schmid // *Proceedings of the 13th International Diatom Symposium, Maratea, Italy, 1-7 Sept. 1994* / Eds D. Marino, M. Montresor. — Bristol : Biopress Ltd, 1994. — P. 139–159.
330. Schmid, A.-M.M. Intraclonal variation of the tripolar pennate diatom *Centronella reicheltii* in culture - strategies of reversion to the bipolar fragilaria-form / A.-M.M. Schmid // *Nova Hedwigia*. — 1997. — Vol. 65, iss. 1–4. — P. 27–45.
331. Schultz, M.E. Production of male gametes and auxospores in the centric diatoms *Cyclotella meneghiniana* and *C. cryptica* / Schultz M.E., Trainor F.R. // *J. Phycol.* — 1968. — Vol. 4, iss. 2. — P. 85–88.
332. Shirokawa, Y. Sex allocation pattern of the diatom *Cyclotella meneghiniana* / Y. Shirokawa, M. Shimada. // *Proc. R. Soc. Lond. B* — 2013. — Vol. 280, iss. 1761. — Mode of access : <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.0503>
333. Shorenko, K.I. On the taxonomy, reproduction, and distribution of the diatom *Nitzschia longissima* (Brèb.) Grunow (Bacillariophyta) / K.I. Shorenko, O.I. Davidovich, N.A. Davidovich // *Int. J. Algae*. — 2014. — Vol. 16, iss. 1. — P. 5–28.
334. Silva, P.C. Historical review of attempts to decrease subjectivity in species identification, with particular regard to algae / P.C. Silva // *Protist*. — 2008. — Vol. 159, iss. 1. — P. 153–161.
335. Simonsen, R. The diatom system: Ideas on phylogeny / R. Simonsen // *Bacillaria*. — 1979. — Vol. 2. — P. 9–71.
336. Sims, P.A. Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data / P.A. Sims, D.G. Mann, L.K. Medlin // *Phycologia*. — 2006. — Vol. 45, iss. 4. — P. 361–402.

337. Smetacek, V. Diatoms and the ocean carbon cycle / V. Smetacek // *Protist* — 1999. — Vol. 150, iss. 1. — P. 25–32.
338. Smith, W. A Synopsis of the British Diatomaceae. Vol. 2. / W. Smith. — London. : J. van Voorst, 1856. — 107 p.
339. Snoeijs, P. Studies in the *Tabularia fasciculata* complex / P. Snoeijs // *Diatom Res.* — 1992. — Vol. 7, iss. 2. — P. 313–344.
340. Sprat, T. The history of the generation and ordering of green oysters, commonly called Colchester oysters / T. Sprat // *History of the Royal Society*, — London, 1669. — P. 307–319.
341. Steele, R.L. Induction of sexuality in two centric diatoms / R.L Steele // *Bioscience*. — 1965. — Vol. 15, iss. 4. — P. 298.
342. Stickle, A.J. *Mastogloia smithii* has a method of sexual reproduction hitherto unknown in raphid diatoms / A.J. Stickle // *Diatom Res.* — 1986. — Vol. 1, iss. 2. — P. 271–82.
343. Stosch, H.A. von Oogamy in a centric diatom / H.A. von Stosch // *Nature*. — 1950. — Vol. 165, N 4196. — P. 531–532.
344. Subba Rao, D.V. Flow cytometry and microscopy of gametogenesis in *Nitzschia pungens*, a toxic, bloom-forming, marine diatom / D.V. Subba Rao, F. Partensky, G. Wohlgeschaffen, W.K.W Li. // *J. Phycol.* — 1991. — Vol. 27, iss. 1. — P. 21–26.
345. Subba Rao, D.V. Gametogenesis in *Nitzschia pungens* f. *multiseriis* / D.V. Subba Rao, F. Partensky, G. Wohlgeschaffen, W.K.W Li. // *J. Phycol.* — 1992. — Vol. 28, iss. 4. — P. 574–576.
346. Theriot, E.C. The limits of nuclear encoded SSU rDNA for resolving the diatom phylogeny / E.C. Theriot, J.J. Cannone, R.R. Gutell, A.J. Alverson // *Eur. J. Phycol.* — 2009. — Vol. 44, iss. 3. — P. 277–290.
347. Theriot, E.C. A preliminary multigene phylogeny of the diatoms (Bacillariophyta): challenges for future research / E.C. Theriot, M. Ashworth, E. Ruck, T. Nakov, R.K. Jansen // *Plant Ecol. Evol.* — 2010. — Vol. 143, N 3. — P. 278–296.
348. Thwaites, G.H.K. On conjugation in the Diatomaceae / G.H.K. Thwaites // *Ann. Mag. Nat. Hist. (Series 1)* — 1847. — Vol. 20, iss. 130. — P. 9–11, 343–344.
349. Todd, E.C.D. Domoic acid and amnesic shellfish poisoning—a review / E.C.D. Todd // *J. Food Prot.* — 1993. — Vol. 56 — P. 69–83.
350. Togashi, T. Evolutionary trajectories explain the diversified evolution of isogamy and anisogamy in marine green algae / T. Togashi, J.L. Bartelt, J. Yoshimura, K. Tainaka, P.A. Cox // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2012. — Vol. 109, N 34. — P. 13692–13697.

351. Tschermak-Woess, E. Die geschlechtliche Fortpflanzung von *Amphipleura rutilans* und das verschiedene Verhalten der Erstlingszellen von Diatomeen in Gallertschlauchen / E. Tschermak-Woess // Österr. Bot. Z. — 1973. — Vol. 122, iss. 1. — P. 21–34.
352. Umen, J.G. Evolution of sex and mating loci: an expanded view from Volvocine algae / J.G. Umen // Curr. Opin. Microbiol. — 2011. — Vol. 14, iss. 6. — P. 634–641.
353. Vanormelingen, P. Congruence of morphological, reproductive and ITS rDNA sequence data in some Australasian *Eunotia bilunaris* (Bacillariophyta) / P. Vanormelingen, V.A. Chepurnov, D.G. Mann, S. Cousin, K. Sabbe, W. Vyverman // Eur. J. Phycol. — 2007. — Vol. 42, iss. 1. — P. 61–79.
354. Vanormelingen, P. Genetic divergence and reproductive barriers among morphologically heterogeneous sympatric clones of *Eunotia bilunaris* sensu lato (Bacillariophyta) / P. Vanormelingen, V.A. Chepurnov, D.G. Mann, K. Sabbe, W. Vyverman // Protist. — 2008. — Vol. 159, iss. 1. — P. 73–90.
355. Vanormelingen, P. The diversity and distribution of diatoms: from cosmopolitanism to narrow endemism / P. Vanormelingen, E. Verleyen, W. Vyverman // Biodivers. Conserv. — 2008. — Vol. 17, N 2. — P. 393–405.
356. Vanstechelman, I. Linkage mapping identifies the sex determining region as a single locus in the pennate diatom *Seminavis robusta* [Electronic resource] / I. Vanstechelman, K. Sabbe, W. Vyverman, P. Vanormelingen, M. Vuylsteke // PLoS ONE. — 2013. — Vol. 8, iss. 3: e60132. — Mode of access : <http://doi:10.1371/journal.pone.0060132>
357. Verhulst, P.F. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement / P.F. Verhulst // Correspondance mathématique et physique — 1838. — Vol. 10. — P. 113–121.
358. Vyverman, W. Historical processes constrain patterns in global diatom diversity / W. Vyverman, E. Verleyen, K. Sabbe, K. Vanhoutte, M. Sterken, D.A. Hodgson, D.G. Mann, S. Juggins, B. Van de Vijver, V. Jones, R. Flower, D. Roberts, Chepurnov V.A., Kilroy, C. P. Vanormelingen, A. De Wever // Ecology. — 2007. — Vol. 88, iss. 8. — P. 1924–1931.
359. White, T.D. Pleistocene *Homo sapiens* from Middle Awash, Ethiopia / T.D. White, B. Asfaw, D. DeGusta, H. Gilbert, G.D. Richards, G. Suwa, F.C. Howell // Nature. — 2003. — Vol. 423, N 6491. — P. 742–747
360. Wiedling, S. Die Gültigkeit der MacDonald-Pfizerschen Regel bei der Diatomeengattung *Nitzschia* / S. Wiedling // Naturwiss. — 1943. — Vol. 31, N 9–10. — P. 115.
361. Wiese, L. Algae / L. Wiese // Fertilisation. Comparative morphology, biochemistry, and immunology. Vol. 2. / Eds. C.B.Metz, A.Monroy. — London and New York :Academic Press, 1969. — 169–188.

362. Williams, D.M. Pursuit of a natural classification of diatoms: History, monophyly and the rejection of paraphyletic taxa / D.M. Williams, J.P. Kociolek // *Eur. J. Phycol.* — 2007. — Vol. 42, iss. 3. — P. 313–319.
363. Williams, D.M. Diatom phylogeny: Fossils, molecules and the extinction of evidence / D.M. Williams // *C. R. Palevol.* — 2007. — Vol. 6, iss. 6–7. — P. 505–514.
364. Williams, D.M. Araphid' diatom classification and the 'absolute standard' / D.M. Williams // *Acta Bot. Croat.* — 2009. — Vol. 68, N 2. — P. 455–463.
365. Witkowski, A. Diatom flora of Marine coast / A. Witkowski, H. Lange-Bertalot, D. Metzeltin. // *Iconographia Diatomologica : Annotated Diatom Monographs* / Ed. H Lange-Bertalot. Vol. 1. — Koenigstein: Koeltz Scientific Books, 2000. — 926 p.

СПИСОК ТАБЛИЦ И ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

Таблица 3.1 — Средний объем клеток, значения максимальной численности, суммарного объема клеток и времени полунасыщения численности в культурах восьми видов бентосных диатомовых водорослей.

Таблица 4.1 — Диапазоны и соотношения размеров клеток на разных этапах жизненного цикла.

Таблица 4.2 — Скорость уменьшения апикального размера клеток и расчетная продолжительность фаз жизненного цикла некоторых видов диатомовых при содержании в культуре в стандартных условиях.

Таблица 5.1 — Количество случаев успешного и неуспешного оплодотворения в парах сексуализированных клеток в смесях клонов *Schizostauron* sp.

Таблица 7.1 — Типы движения гамет у диатомовых водорослей.

Таблица 8.1 — Количественное соотношение полов в природных популяциях отдельных видов диатомовых водорослей.

Таблица 8.2 — Половая принадлежность потомства, появившегося в мужских клонах *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs в результате внутриклонового полового воспроизведения.

Таблица 8.3 — Наследование пола при межклоновом и внутриклоновом воспроизведении *Haslea ostrearia*.

Таблица 10.1 — Результаты скрещивания клонов *Haslea karadagensis* и *H. ostrearia*.

Таблица 10.2 — Результаты скрещивания клонов *Tabularia fasciculata*, различающихся морфотипами.

Таблица 10.3 — Делимитация видов вследствие обнаружения репродуктивной изоляции.

Таблица 10.4 — Примеры репродуктивной совместимости популяций, удаленных друг от друга на значительное расстояние.

Таблица 11.1 — Случаи межклонового воспроизведения в парных комбинациях клонов, полученных из географически удаленных популяций *Ulnaria ulna*.

Таблица 11.2 — Возвратные скрещивания гибридов *F1*, полученных в межпопуляционных скрещиваниях родительских популяций.

Таблица 11.3 — Репродуктивная совместимость клонов *Haslea ostrearia*, полученных из географически удаленных друг от друга популяций – с западных побережий Австралии и Франции.

Таблица 12.1 — Количество и поведение гамет (формула гамет), продуцируемых гаметангиями при аллогамном воспроизведении, у представителей некоторых родов пеннатных диатомовых.

Рисунок 2.1 — Динамика количества публикаций, посвященных вопросам репродуктивной биологии диатомовых водорослей.

Рисунок 2.2 — Количество публикаций по репродукции диатомовых отдельных авторов, работающих в настоящее время.

Рисунок 2.3 — Диатомовые - диплоидные гаплобионты, в жизненном цикле которых присутствует продолжительный этап вегетативного размножения (в диплоидном состоянии) и короткий генеративный этап, когда в результате мейоза, происходящего в конечной фазе гаметогенеза, формируются гаплоидные гаметы; в результате их слияния образуется диплоидная зигота.

Рисунок 2.4 — Типы жизненных циклов и их распространение в природе.

Рисунок 2.5 — Карадагская научная станция, основанная Т.И. Вяземским в 1914 г.

Рисунок 3.1 — Зависимость ширины клеток от их длины в природной популяции *Haslea karadagensis* в районе биостанции на Карадаге.

Рисунок 3.2 — Модели роста численности. 1 – ресурснезависимый (нелимитированный) рост, согласно уравнению Мальтуса; 2 – ресурсозависимый (лимитированный), согласно уравнению Ферхюльста.

Рисунок 3.3 — Динамика численности клеток в непересеваемой культуре.

Рисунок 3.4 — Диатомовые в "переросших" культурах.

Рисунок 3.5 — Динамика численности *Nitzschia longissima* в непересеваемой культуре.

Рисунок 3.6 — Влияние плотности посева и взаимного расположения клеток половых партнеров на эффективность полового воспроизведения.

Рисунок 4.1 — Диаграмма, представляющая жизненный цикл центрической диатомовой водоросли, на примере *Melosira moniliformis*.

Рисунок 4.2 — Диаграмма, представляющая жизненный цикл пеннатной диатомовой водоросли, на примере *Haslea karadagensis*.

Рисунок 4.3 — Диаграммы, отображающие размеры клеток в соответствующих фазах жизненного цикла отдельных видов диатомовых.

Рисунок 4.4 — Изменение длины клеток у *Nitzschia rectilonga* при содержании в течение полутора лет в регулярно (еженедельно) пересеваемой культуре при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и естественном рассеянном освещении.

Рисунок 4.5 — Уменьшение длины клеток в клонах двух видов бесшовных пеннатных диатомовых (*Tabularia tabulata*, *Ulnaria ulna*) и одного представителя биполярных центрических (*Ardissonea crystallina*) при содержании в культуре.

Рисунок 4.6 — Зависимость между длиной (апикальный размер) и шириной клеток (трансапикальный размер) у *Haslea ostrearia* и *H. karadagensis*.

Рисунок 4.7 — Различия формы клеток в начале и в конце жизненного цикла.

Рисунок 4.8 — Условная схема изменения размера клетки в жизненных циклах.

Рисунок 4.9 — Зависимость средней длины дочерних (инициальных) клеток от средней длины родительских (гаметангиальных) клеток у трех близкородственных видов.

Рисунок 4.10 — Диапазон варьирования размеров инициальных клеток и потенциальная продолжительность жизненной истории у клонов у тех видов, у которых длина инициальных клеток не зависит от длины родительских клеток.

Рисунок 4.11 — Диапазон варьирования размеров инициальных клеток и потенциальная продолжительность жизненной истории у клонов у видов с явно выраженной зависимостью длины инициальных клеток от длины родительских клеток.

Рисунок 4.12 — Распределение апикального размера клеток по частоте встречаемости в природных популяциях *Berkeleya micans*.

Рисунок 4.13 — Гистограммы распределения размеров клеток *Berkeleya micans* по частоте встречаемости.

Рисунок 5.1 — Половое воспроизведение *Pseudo-nitzschia multiseriis*

Рисунок 5.2 — Половое воспроизведение *Pseudo-nitzschia callianta*

Рисунок 5.3 — *Berkeleya micans*, прижизненные наблюдения.

Рисунок 5.4 — Половое воспроизведение *Haslea ostrearia*.

Рисунок 5.5 — *Haslea karadagensis*, вегетативные и генеративные клетки.

Рисунок 5.6 — Филогенетическое дерево, построенное на основе трех генов (V4-cox1-rbcL) по методу консенсуса поддержек максимального правдоподобия (ML, Maximum Likelihood)/максимальной экономии (MP, Maximum parsimony), для видов *Haslea*.

Рисунок 5.7 — *Haslea provincialis*, процесс полового воспроизведения.

Рисунок 5.8 — *Tabularia fasciculata*, половое воспроизведение.

Рисунок 5.9 — Половое воспроизведение *Tabularia tabulata*.

Рисунок 5.10 — *Ulnaria ulna*, женский и мужской гаметогенез.

Рисунок 5.11 — *Schizostauron* sp., процесс полового воспроизведения.

Рисунок 5.12 — *Schizostauron* sp., СЭМ фото бесшовной и шовной створок.

Рисунок 5.13 — Гаметогенез у *Ardissonea crystallina*.

Рисунок 5.14 — Цитоплазматические выросты, периодически возникающие на поверхности мужских гамет *Ardissonea crystallina*.

Рисунок 5.15 — Ауксоспоры *Ardissonea crystallina* на разных стадиях роста.

Рисунок 6.1 — Влияние температуры на рост и воспроизведение *Haslea karadagensis* в паре клонов 1.0607-С + 2.0713-D.

Рисунок 6.2 — Влияние температуры на воспроизведение *Haslea ostrearia* в паре клонов I7 и 136.

Рисунок 6.3 — Скорость размножения атлантического 0.1119-М и черноморского 1.0209-I клонов *Nitzschia longissima* в зависимости от уровня солености среды.

Рисунок 6.4 — Относительное количество генеративных клеток в смесях атлантического клона 0.1119-М и черноморского клона 1.0209-I *Nitzschia longissima* на пятый день содержания при разной солености.

Рисунок 6.5 — *Ardissonea crystallina*, эффективность полового воспроизведения при разной солености.

Рисунок 6.6 — Влияние уровня солености на частоту полового воспроизведения *Haslea karadagensis*.

Рисунок 6.7 — Зависимость скорости вегетативного размножения *Haslea karadagensis* от уровня солености.

Рисунок 6.8 — Относительное количество половых клеток, образовавшихся в посевах смесей сексуально совместимых клонов *Tabularia tabulata* при разной солености.

Рисунок 6.9 — Относительная частота полового воспроизведения *Haslea ostrearia* в смесях клонов **Е1** x **В2** как функция фотопериода.

Рисунок 6.10 — Зависимость скорости вегетативного размножения и частоты половой репродукции в смешанных посевах клонов **Е1** и **В2** диатомовой водоросли *Haslea ostrearia* от интенсивности освещения.

Рисунок 6.11 — Зависимость частоты половой репродукции в смешанных посевах репродуктивно совместимых клонов *Nitzschia longissima* от уровня освещенности.

Рисунок 6.12 — Скорость вегетативного размножения и частота полового воспроизведения в смешанных посевах клонов **Е1** и **В2** диатомовой водоросли *Haslea ostrearia* при одинаковой дозе света, полученной путем комбинации разной продолжительности фотопериода и интенсивности освещения.

Рисунок 6.13 — Действие синего света на частоту репродукции *Haslea karadagensis* и *H.ostrearia*.

Рисунок 6.14 — Действие света разного спектрального состава на темп деления и частоту аукоспоруляции *Haslea karadagensis* и *H.ostrearia*.

Рисунок 6.15 — Схема жизненного цикла и этапы полового воспроизведения у диатомовых водорослей.

Рисунок 6.16 — Фазы клеточного цикла.

Рисунок 6.17 — Зависимость частоты воспроизведения и размера образующихся инициальных клеток у от дозы света, полученного смешанными посевами клонов *Nitzschia lanceolata* в экспериментах

Рисунок 6.18 — Распределения по длине аукоспор *Nitzschia lanceolata*, сформировавшихся в темноте и при непрерывном освещении.

Рисунок 7.1 — Мужской и женский гаметогенез у *Tabularia tabulata*.

Рисунок 7.2 — Схематическое представление пути одной мужской гаметы в течение трех минут, показанное как проекция траектории в двухкоординатной плоскости.

Рисунок 7.3 — Формирование цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia tabulata*.

Рисунок 7.4 — Хронометраж формирования цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia tabulata*.

Рисунок 7.5 — Формирование цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Tabularia fasciculata*.

Рисунок 7.6 — Временные серии двух циклов формирования цитоплазматических выростов на поверхности мужских гамет *Ulnaria ulna*.

Рисунок 8.1 — *Nitzschia longissima*, морфологическая и поведенческая анизогамия позволяет различить два пола.

Рисунок 8.2 — *Ardissonea crystallina*, момент слияния гамет.

Рисунок 8.3 — Эволюционные отношения и типы полового воспроизведения современных диатомовых.

Рисунок 9.1 — Множественное выравнивание фрагментов нуклеотидных последовательностей митохондриального гена *cox1*, полученных для двух репродуктивно совместимых клонов шведской популяции и двух клонов французской популяций *Haslea ostrearia*.

Рисунок 9.2 — Примеры хроматограмм для семи участков, отмеченных на предыдущем рисунке, полученные для фрагментов гена *cox 1* у **F1** гибридного потомства.

Рисунок 9.3 — Гаметы у *Haslea ostrearia* морфологически и поведенчески изогамны, что не позволяет установить пол конкретного клона по внешним признакам

Рис. 9.4 — Иллюстрация унипарентального переноса (по женской линии) митохондриальных генетических последовательностей.

Рисунок 10.1 — Схема эволюционной дивергенции видов.

Рисунок 10.2 — Фотографии клеток *Tabularia fasciculata* из разных клонов.

Рисунок 10.3 — Два морфотипа в симпатрической популяции *Tabularia fasciculata* с побережья мыса Торментайн, залив Святого Лаврентия, Канада.

Рисунок 10.4 — Дендрограмма, построенная по "методу объединения соседей", для изученных клонов *Tabularia fasciculata* с атлантического побережья Канады и крымского побережья.

Рисунок 10.5 — Расположение клонов *Tabularia fasciculata* на плоскости в координатах "ширина клетки" – "плотность штрихов".

Рисунок 10.6 — Дендрограмма, полученная для клонов *Nitzschia longissima* и *N. rectilonga* из разных популяций.

Рисунок 11.1 — Локализация изученных популяций *Ulnaria ulna* на Евразийском континенте.

Рисунок 11.2 — Локализация изученных популяций *Haslea* в Мировом океане.

Рисунок 11.3 — Соотношение длины и ширины клеток в популяциях *Haslea ostrearia*, локализованных в Мировом океане так, как показано на предыдущем рисунке.

Рисунок 11.4 — Дендрограмма, построенная по результатам анализа последовательностей хлоропластного гена *rbcl* для клонов из пяти популяций *Haslea*.

Рисунок 12.1 — Схема *цис*- и *транс*-анизогамии у диатомовых, воспроизводящихся аллогамно.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Таблица П-А.1 — Состав среды ESAW (обогащенная искусственная морская вода) для содержания морских диатомовых водорослей, согласно [Harrison *et al.* 1980, Berges *et al.* 2001, Andersen *et al.*, 2005] с модификациями [Давидович, Давидович, 2009]

Компонент	Запасной раствор (г · л ⁻¹ dH ₂ O)	Используемое количество *	Концентрация в конечной среде (M)
Безводные соли			
NaCl	—	21,194 г	3,63 x 10 ⁻¹
Na ₂ SO ₄	—	3,550 г	2,50 x 10 ⁻²
KCl	—	0,599 г	8,03 x 10 ⁻³
NaHCO ₃	—	0,174 г	2,07 x 10 ⁻³
KBr	—	0,0863 г	7,25 x 10 ⁻⁴
H ₃ BO ₃	—	0,0230 г	3,72 x 10 ⁻⁴
NaF	—	0,0028 г	6,67 x 10 ⁻⁵
Гидратированные соли			
MgCl ₂ · 6H ₂ O	—	9,592 г	4,71 x 10 ⁻²
CaCl ₂ · 2H ₂ O	—	1,344 г	9,14 x 10 ⁻³
SrCl ₂ · 6H ₂ O	—	0,0218 г	8,18 x 10 ⁻⁵
Главные биогенные элементы			
NaNO ₃	46,670	0,8 мл	5,49 x 10 ⁻⁴
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	3,094	0,8 мл	2,24 x 10 ⁻⁵
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	15,000	2 мл	1,06 x 10 ⁻⁴
Fe(NH ₄)-цитрат	0,72	0,5 мл	7,37 x 10 ⁻⁵
Раствор Fe-ЭДТА		1 мл	
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	2,44		6,56 x 10 ⁻⁶
FeCl ₃ · 6H ₂ O	1,77		6,55 x 10 ⁻⁶
Раствор микроэлементов	см. следующий рецепт	1 мл базового раствора	—
Витамины	см. следующий рецепт	в указанном количестве	—

Примечание. * - для приготовления 1л среды

Таблица П-А.2 — Базовый раствор микроэлементов

Компонент	Запасной раствор (г · л ⁻¹ dH ₂ O)	Используемое количество**	Концентрация в конечной среде (М)
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	—	3,09 г	8,30 x 10 ⁻⁶
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	7,30	10 мл	2,54 x 10 ⁻⁷
CoSO ₄ · 7H ₂ O	1,60	10 мл	5,69 x 10 ⁻⁸
MnSO ₄ · 4H ₂ O	5,40	100 мл	2,42 x 10 ⁻⁶
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	1,48	1 мл	6,12 x 10 ⁻⁹
Na ₂ SeO ₃	0,173	1 мл	1,00 x 10 ⁻⁹
NiCl ₂ · 6H ₂ O	1,49	1 мл	6,27 x 10 ⁻⁹

Примечание. ** - для приготовления 1 л базового раствора

Таблица П-А.3 — Растворы витаминов

Компонент	Запасной раствор (г · л ⁻¹ dH ₂ O)	Используемое количество***	Концентрация в конечной среде (М)
Суанособаламин (витамин В ₁₂)	0,005	4 мл	1,48 x 10 ⁻⁸
Thiamine · HCl (витамин В ₁)	0,5	2 мл	2,96 x 10 ⁻⁶

Примечание. *** - для 1 л среды

Готовая среда имеет плотность 1.021 при 20°C, соленость 30%. Среда разливается в стеклянные емкости и стерилизуется (пастеризация, тиндализация или автоклавирование), после чего может храниться до использования в течение нескольких месяцев. Перед употреблением пригодность партии среды проверяется на одном из индикаторных видов (“чувствительных” к качеству среды), для чего засеивается контрольная чашка Петри; мы для этого используем представителей рода *Haslea*, у которых потеря подвижности клеток является первым признаком неблагопирятности среды.

Приложение Б

Таблица П-Б.1 — Состав среды DM с модификациями для содержания пресноводных диатомовых водорослей, согласно [Beakes *et al.*, 1988; Mann, Cherpurnov, 2004]

№ пп	Компонент	Используемое количество, мг/л
1	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	20,00
2	KH_2PO_4	12,40
3	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25,00
4	NaHCO_3	15,90
5	Na_2EDTA	2,25
6	H_3BO_3	2,48
7	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,39
8	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,00
9	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	57,00
10	FeCl_3	1,60
11	cyanocobalamin (vitamin B ₁₂)	0,04
12	thiamine hydrochloride (vitamin B ₁)	0,04
13	biotin	0,04

Приложение В

Список видов диатомовых (латинские названия, включая синонимы), упомянутых в тексте диссертации

Achnanthes brevipes C.Agardh
Achnanthes brevipes var. *intermedia* (Kützing) Cleve
Achnanthes fragilarioides J.B.Petersen
Achnanthes javanica f. *subconstricta*
Achnanthes javanica Grunow
Achnanthes javanica var. *subconstricta*
Achnanthes longipes C.Agardh
Achnanthes subsessilis Kützing
Alexandrium catenella (Whedon & Kofoid) Balech
Amphipleura micans (Lyngbye) Cleve
Amphipleura rutilans (Trentepohl ex Roth) Cleve
Amphora arcus Gregory
Amphora pediculus (Kützing) Grunow ex A.Schmidt
Ardissonea crystallina (C.Agardh) Grunow
Asterionella formosa Hassall
Berkeleya micans (Lyngbye) Grunow
Berkeleya rutilans (Trentepohl ex Roth) Grunow
Caloneis amphicephala Hustedt
Caloneis silicula (Ehrenberg) Cleve
Caloneis ventricosa F.Meister
Cerataulina bergonii (H.Peragallo) F.Schütt
Chaetoceros curvisetus Cleve
Chaetoceros diadema (Ehrenberg) Gran
Cocconeis pellucida Grunow
Cocconeis placentula Ehrenberg
Cocconeis placentula var. *pseudolineata* Geitler
Cocconeis scutellum var. *ornata* Grunow
Corethron criophilum Castracane
Coscinodiscus concinnus W.Smith
Coscinodiscus granii L.F.Gough
Coscinodiscus janischii A.Schmidt
Coscinodiscus wailesii Gran et Angst
Craticula cuspidata (Kützing) D.G.Mann
Cyclotella cryptica Reimann, J.C.Lewin & Guillard
Cyclotella meneghiniana Kützing
Cymbella affinis Kützing
Cymbella amphicephala Näegeli
Cymbella cesatii (Rabenhorst) Grunow
Cymbella cistula (Ehrenberg) O.Kirchner,
Cymbella cymbiformis C.Agardh,
Cymbella delicatula Kützing
Cymbella ehrenbergii Kützing

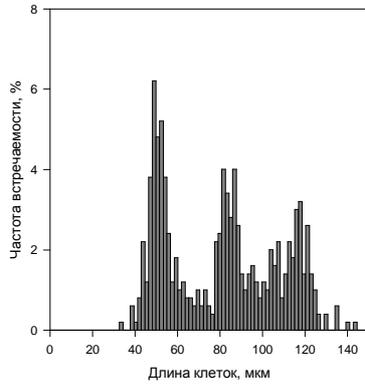
Cymbella gracilis (Rabenhorst) Cleve
Cymbella lacustris (C.Agardh) Cleve
Cymbella lanceolata (C.Agardh) C.Agardh
Cymbella pediculus Kützing
Cymbella sinuata W.Gregory
Cymbella ventricosa (C.Agardh) C.Agardh
Cymbopleura amphicephala (Nägeli) Krammer
Cymbopleura inaequalis (Ehrenberg) Krammer
Delicata delicatula (Kützing) Krammer
Detonula confervacea (Cleve) Gran
Diatoma elongata (Lyngbye) C.Agardh
Dickieia ulvacea Berkeley ex Kützing
Ditylum brightwellii (T.West) Grunow
Ectocarpus siliculosus (Dillwyn) Lyngbye
Encyonema gracile Kirchner
Encyonema lacustre (C.Agardh) Pantocsek
Encyonema ventricosum (C.Agardh) Grunow
Encyonopsis cesatii (Rabenhorst) Krammer
Eunotia bilunaris (Ehrenberg) Schaarschmidt
Fragilaria delicatissima Proshkina-Lavrenko
Frustulia crassinervia (Brébisson ex W.Smith) Lange-Bertalot & Krammer
Gomphonema angustatum (Kützing) Rabenhorst
Grammatophora marina (Lyngbye) Kützing
Haslea karadagensis Davidovich, Gastineau & Mouget
Haslea ostrearia (Gaillon) Simonsen
Haslea provincialis Gastineau, Hansen & Mouget
Haslea subagnita (Proshkina-Lavrenko) Makarova & Karaeva
Hydrosera triquetra Wallich
Leptocylindrus danicus Cleve
Licmophora abbreviata C.Agardh
Licmophora communis (Heiberg) Grunow
Licmophora ehrenbergii (Kützing) Grunow
Licmophora gracilis (Ehrenberg) Grunow
Licmophora gracilis var. *anglica* (Kützing) H.Peragallo & M.Peragallo
Mastogloia smithii Thwaites ex W.Smith
Melosira moniliformis (O.F.Müller) C.Agardh
Melosira nummuloides C.Agardh
Navicula cryptocephala Kützing
Navicula ostrearia Turpin
Navicula pennata A.Schmidt
Navicula pennata var. *pontica* Mereschkowsky.
Navicula rhomboides Ehrenberg
Navicula serians (Brébisson) Kützing
Navicula ulvacea (Berkeley) Cleve
Nitzschia lanceolata W.Smith
Nitzschia longissima (Brébisson ex Kützing) Grunow
Nitzschia palea (Kützing) W.Smith
Nitzschia pungens Grunow ex Cleve
Nitzschia pungens var. *multiseries* G.R.Hasle
Nitzschia rectilonga Takano
Nitzschia subcurvata G.R.Hasle

Phaeodactylum tricornutum Bohlin
Pinnularia gibba (Ehrenberg) Ehrenberg
Pseudo-nitzschia arenysensis Quijano-Scheggia, Garcés, Lundholm
Pseudo-nitzschia brasiliiana Lundholm, Hasle & G.A.Fryxell
Pseudo-nitzschia calliantha Lundholm, Moestrup & Hasle
Pseudo-nitzschia delicatissima (Cleve) Heiden
Pseudo-nitzschia multiseriis (Hasle) Hasle
Pseudo-nitzschia multistriata (Takano) Takano
Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima (Hasle) Hasle
Pseudo-nitzschia pungens (Grunow ex Cleve) Hasle
Pseudo-nitzschia subcurvata (Hasle) G.A.Fryxell
Pseudostaurosira trainorii E.A.Morales
Pseudostriatella oceanica S.Sato, Mann & Medlin
Reimeria sinuata (W.Gregory) Kociolek & Stoermer
Rhabdonema adriaticum Kützing
Sellaphora capitata D.G.Mann & S.M.McDonald
Sellaphora pupula (Kützing) Mereschkovsky
Seminavis robusta D.B.Danielidis & D.G.Mann
Skeletonema costatum (Greville) Cleve
Skeletonema marinoi Sarno & Zingone
Stephanopyxis palmeriana (Greville) Grunow
Striatella unipunctata (Lyngbye) C.Agardh
Synedra amphicephala Kützing
Synedra robusta Ralfs ex Pritchard
Synedra rumpens Kützing
Synedra rumpens var. *rumpens* Kützing
Synedra tabulata (C.Agardh) Kützing
Synedra ulna (Nitzsch) Ehrenberg
Tabularia affinis (Kützing) Snoeijs
Tabularia fasciculata (C.Agardh) D.M.Williams & Round
Tabularia tabulata (C.Agardh) Snoeijs
Thalassiosira pseudonana Hasle & Heimdal
Thalassiosira weissflogii (Grunow) G.Fryxell & Hasle
Ulnaria acus (Kützing) Aboal
Ulnaria ulna (Nitzsch) Compère

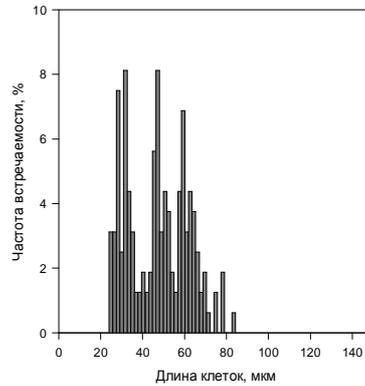
Приложение Г

Гистограммы распределения размеров клеток в природных популяциях некоторых видов
бентосных диатомовых водорослей в районе Карадага

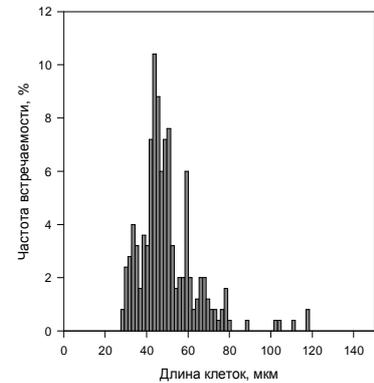
Achnanthes longipes
18/02/99, Kuz'michi
n=499, step=1,72



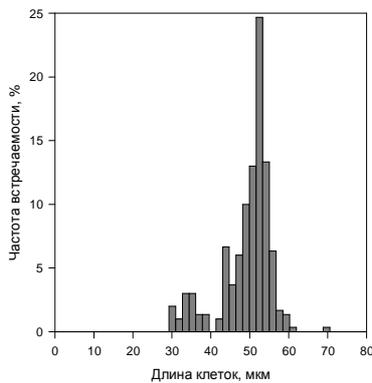
Achnanthes longipes
19/02/
n=160, step=1.72



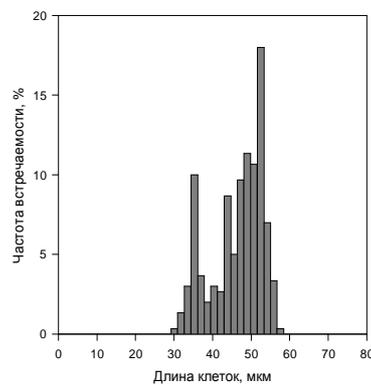
Achnanthes longipes
19/04/00
n=250, step=1,72



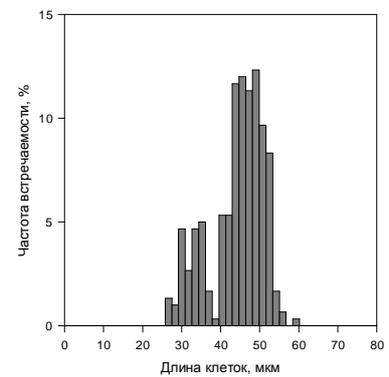
Amphora
29/07/99
Станция 4, n=300, step=1.72



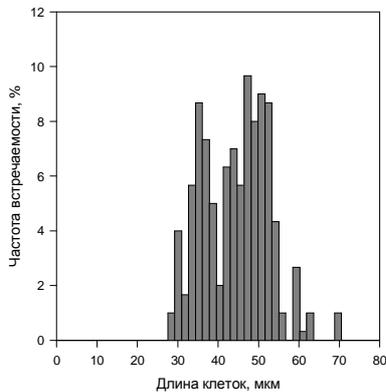
Amphora
06/08/1999
Станция 0(4), n=300, step=1.72



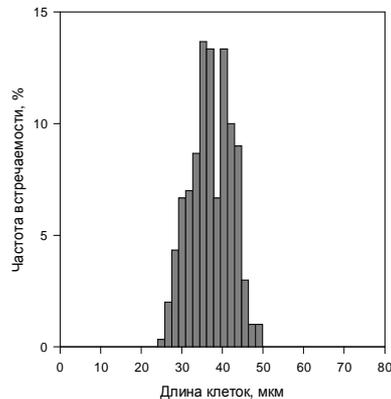
Amphora
27/08/99
Станция 0(4), n=300, step=1.72



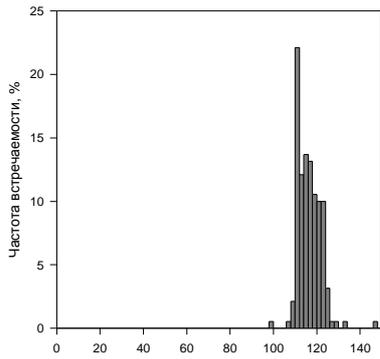
Amphora hyalina
03/09/98 n=300
step=1.72



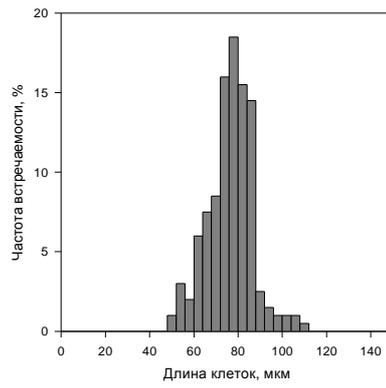
Amphora
05/10/99
Станция 1, n=300, step=1.72



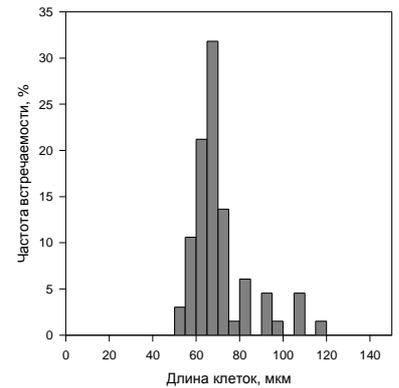
Berkeleya micans
initial cells in culture mixtures
from Nov.,95 to June,96
n=190



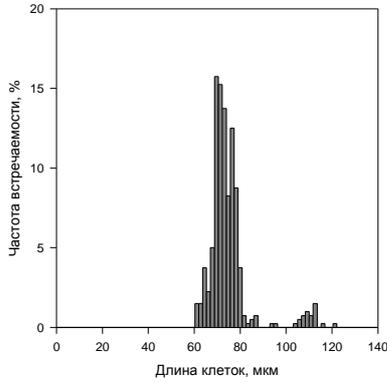
Berkeleya micans
22/04/98, n=200



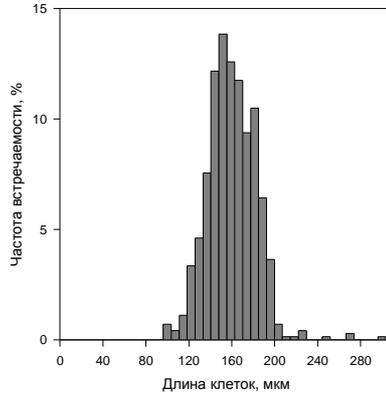
Berkeleya micans
26/10/95, n=66



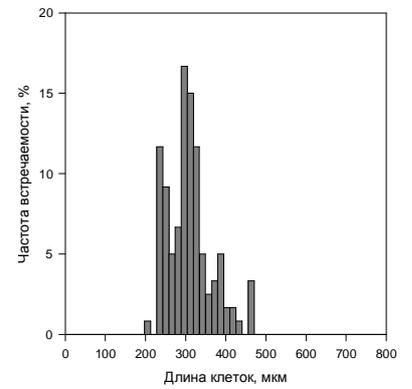
Berkeleya micans
12/02/99 - Kuz'michi
n=400 step=1.72



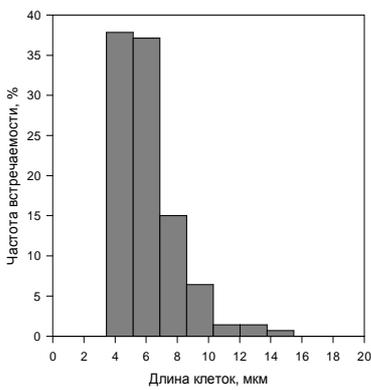
Licmophora flabellata
28/12/98-05/01/99, n=715
step=7.4 мкм



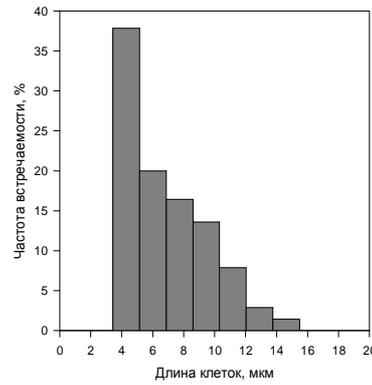
Nitzschia longissima
28/09/00
n=120, station 1, step=15.2



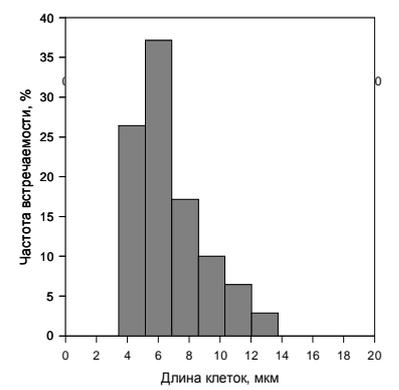
Scletonema costatum
04/04/01
n=140, step=1.72



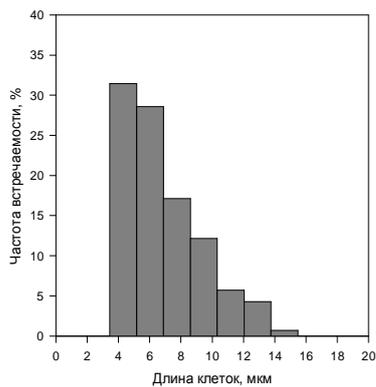
Scletonema costatum
05/04/01
n=140, step=1.72



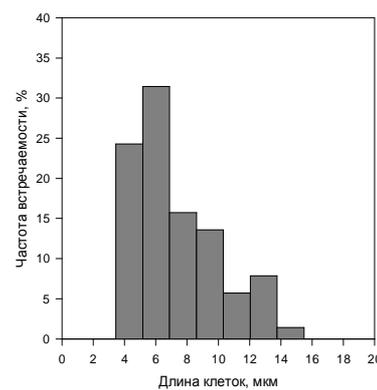
Scletonema costatum
06/04/01
n=140, step=1.72



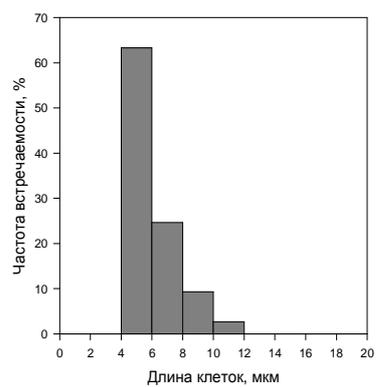
Scletonema costatum
07/04/2001
n=140, step=1.72



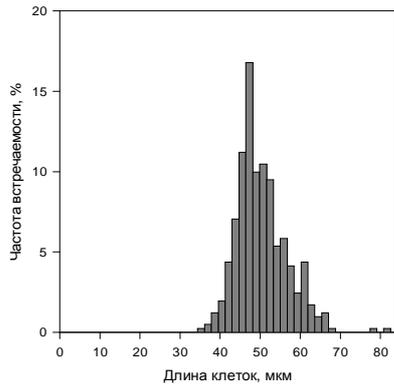
Scletonema costatum
09/04/2001
n=140, step=1.72



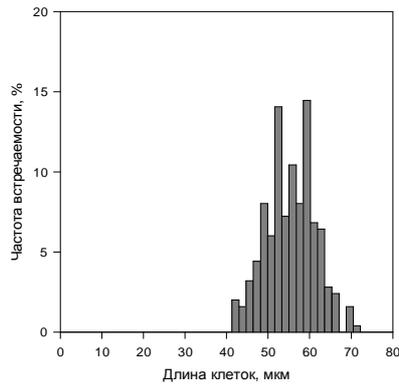
Scletonema costatum
24/02/05
n=150, step=2.0



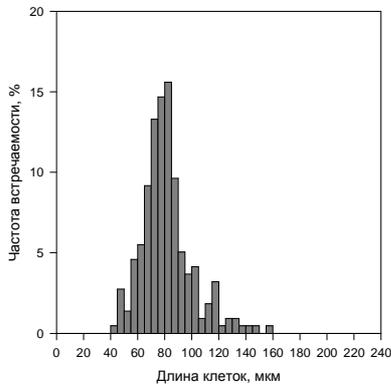
Striatella unipunctata
10/01/99, n=411
step=1.72



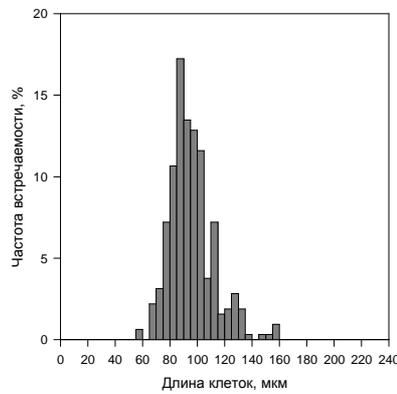
Striatella unipunctata
25-27/01/99, n=249
step=1.72 мкм



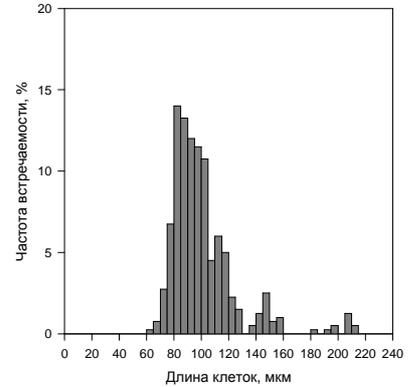
Tabularia (=Synedra) tabulata
04-09/01/99, n=218
step=5



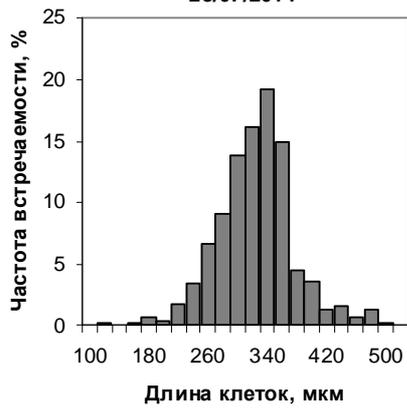
Tabularia (=Synedra) tabulata
11/01/99, n=319, Kuz'michi
step=5



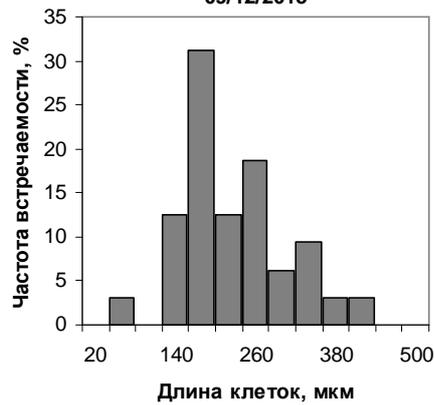
Tabularia (=Synedra) tabulata
18/02/99, n=400, Kuz'michi
step=5



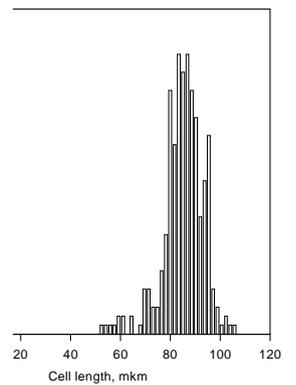
Ardissonea crystallina
23/07/2011



Climaconeis sp.
09/12/2015

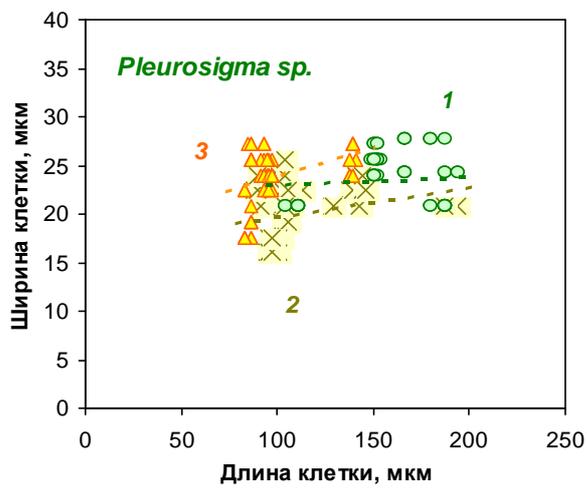
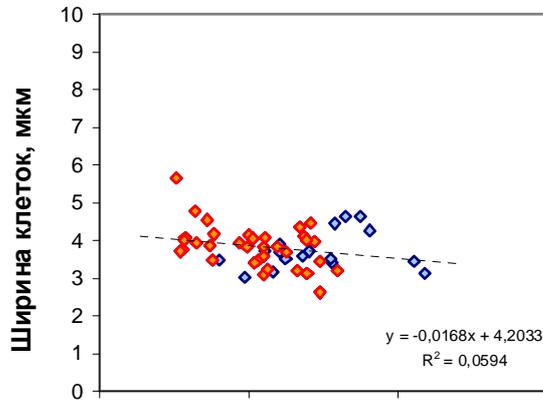


Pseudo-nitzschia
11.09.99 n=300
0(1)- Kuz'michi; step=1,72

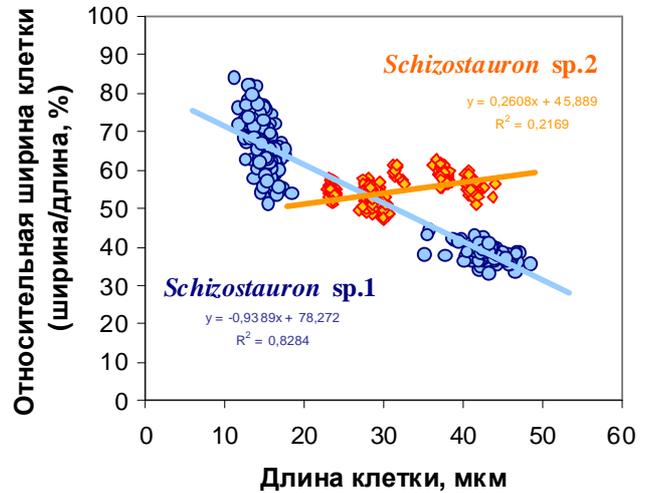
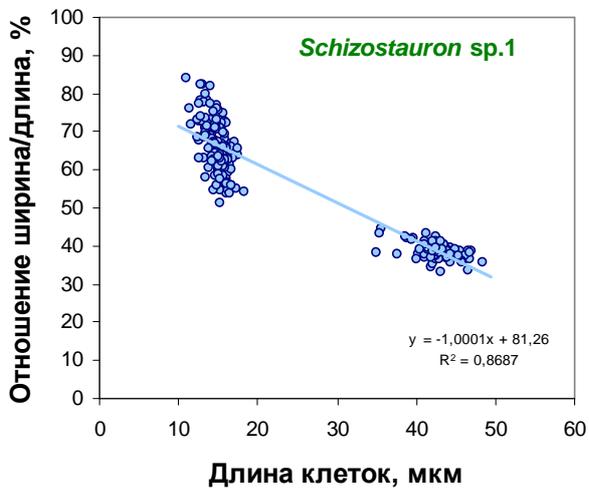


Приложение Д

Соотношение длины и ширины клеток у некоторых видов диатомовых водорослей



- 1 – Черноморская популяция, Карадаг
2 – Мраморное море, пролив Дарданеллы
3 – Атлантический океан, побережье штата Ю.Каролина



Приложение Е

**Зависимость длины инициальных клеток от длины гаметангиальных
клеток у некоторых видов диатомовых водорослей**

