

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

ДАВИДОВИЧ Николай Александрович

РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Специальность 03.02.01 – ботаника

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва – 2019

Работа выполнена в лаборатории водорослей и микробиоты (Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН - филиал Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»)

(до 14.09.2019 года ФГБУН «Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского - природный заповедник РАН»)

Официальные оппоненты: **Дорофеюк Надежда Ивановна**, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, ведущий научный сотрудник
Комулайнен Сергей Федорович, доктор биологических наук, Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», ведущий научный сотрудник
Лобакова Елена Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

Защита диссертации состоится « 20 » декабря 2019 г. в 15 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета МГУ.03.03 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ, Биологический факультет, аудитория М1.

Тел./факс: 8(495) 939-11-48; email: dissovet_00155@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп. 27, Фундаментальная библиотека, отдел диссертаций) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/241694835/>

Автореферат разослан _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Д.М. Гершкович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Диатомовые водоросли играют глобальную роль в биогеохимических циклах углерода, кислорода, кремния, создании первичной продукции. За относительно короткий период эволюции эти одноклеточные организмы достигли разнообразия, исчисляемого десятками тысяч видов. Несмотря на экстраординарную роль диатомовых в природе, представления об их основных биологических качествах, таких как репродуктивное поведение, жизненный цикл, пути воспроизведения, проявление пола, механизмах его детерминации и т.д. 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 имеют уникальный кремнеземный панцирь и способ его построения, обуславливающий уменьшение размеров клеток в процессе делений. Восстановление исходных размеров у подавляющего большинства диатомовых ассоциировано с половым воспроизведением, которое является, таким образом, непременным атрибутом их жизненного цикла. С сожалением приходится констатировать, что жизненный цикл, половое воспроизведение, система скрещивания большинства видов диатомовых остаются неизученными. Из известных 30 тыс. видов диатомовых половое воспроизведение с большей или меньшей степенью детализации описано у порядка 250 видов, а жизненный цикл — всего лишь у нескольких десятков. Вместе с тем, при достаточно глубоком обсуждении вопросов, связанных с таксономией, систематикой, филогенией, эволюцией, биогеографией диатомовых, популяционными и экосистемными исследованиями, практическим культивированием неизбежно приходится рассматривать те или иные аспекты их репродуктивной биологии. С одной стороны, наблюдается очевидный недостаток данных о жизненном цикле, половом воспроизведении, репродуктивной изоляции, которые критически важны для ответа на вопросы, связанные со многими теоретическими проблемами, культивированием и практическим использованием диатомовых. С другой стороны, назрела необходимость обобщить и изложить на современном уровне уже накопленные данные, дать четкое и полное представление о предмете, целях, задачах, объектах и методах репродуктивной биологии диатомовых — направлении исследований, к настоящему моменту сравнительно слабо разработанному. Необходимо обсудить наиболее весомые результаты и подчеркнуть их значимость как для развития самого направления исследований, связанного с половой репродукцией диатомовых, так и для смежных дисциплин. При этом важно показать, что изучение репродуктивной биологии диатомовых приводит к

обнаружению явлений и описанию закономерностей, существенных не только для изучаемой группы, но имеющих также общебиологический смысл.

Степень разработанности темы исследования.

За 170-летнюю историю исследований в области знаний, которую мы определяем как репродуктивная биология диатомовых, накоплен массив фактических данных, написаны обзорные работы [Geitler, 1935; Stosch, 1950; Wiese, 1969; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Роцин, 1994; Чепурнов, 1997; Edlund, Stoermer, 1997; Давидович, 2002, 2009; Chepurnov *et al.*, 2004; Mizuno, 2006; Amato, 2010; Mann, 2011; Gastineau *et al.*, 2014; и др.]. Всего по теме опубликовано порядка 900 работ; в течение последних десятилетий этот список ежегодно пополняется 15–25 новыми работами. Однако, несмотря на значительный прогресс, многие вопросы репродуктивной биологии диатомовых остаются нераскрытыми.

К нерешенным относится, в частности, проблема определения пола. 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.

Описание полового процесса у отдельных видов на первом этапе дает набор цитологических данных. Системное представление об этой важнейшей и наиболее консервативной биологической характеристике необходимо для того, чтобы показать пути эволюции как самого процесса половой репродукции, так и в целом филогенетической ветви диатомовых. Фактических данных для этого пока очень мало, как уже упоминалось, половое воспроизведение описано менее, чем у 1% видов диатомовых, существующих на планете.

Еще полвека назад господствовало мнение о том, что диатомовые в подавляющем большинстве гомоталличны, гетероталлизм воспринимался как исключение [Drebes, 1977]. Недавние работы, напротив, показали, что у подавляющего большинства наиболее обширной группы пеннатных диатомовых гетероталлический путь является доминирующим в системе скрещивания [Роцин, 1994; Davidovich, Bates, 1998; Chepurnov *et al.*, 2004; Давидович, 2005; Pouličková *et al.*, 2007; Davidovich *et al.*, 2009; Davidovich *et al.*, 2010; и др.]. Поскольку системы скрещивания описаны всего у несколько десятков видов, весьма актуальным остается вопрос их дальнейшего изучения. Особый интерес представляет сочетание у отдельных видов гомо- и гетероталлического путей воспроизведения, а также внутривидовой дифференциации клонов по степени проявления гомо- и гетероталлизма. Пока неясно, почему у некоторых раздельнополых видов помимо

гетероталлического возможен гомоталлический путь воспроизведения и какова его роль.

Диатомовые обладают уникальным различием способов детерминации пола — у центрических наблюдается эпигенетическая регуляция, а у пеннатных он предопределен генетически. Однако, до недавнего времени схема генетической детерминации пола у пеннатных (раздельнополых) диатомовых оставалась неизвестной. Неясно, чем обусловлен эволюционный переход от эпигенетической регуляции пола у центрических к генетической у пеннатных.

Установлено, что у большинства эукариот митохондрии наследуются в поколениях по линии одного пола (чаще по материнской). До наших исследований отсутствовали какие-либо данные о пути наследования митохондрий у диатомовых.

Дискуссии о комплексах криптических видов упираются в ограниченность применяемых подходов (морфологического, молекулярно-генетического). Без ясного представления о наличии биологических ограничений — репродуктивных барьеров, делающих невозможным перенос генетического материала из одной популяции в другую, — нельзя сделать окончательный вывод о расхождении видов, зачастую имеющих в остальном слабые различия.

Следует отметить, что в связи с совершенствованием методов и накоплением данных, возникают новые вопросы и новые перспективы исследований [Давидович, 2009]. В самом начале своего развития находится такие направления, как филогеография диатомовых, разработка теоретических основ классической селекции.

Острая необходимость ощущается в компиляции, ревизии и систематизации терминов, особенно в их русскоязычном выражении. Одна из актуальных задач — составление словаря терминов по теме исследования, отсутствовавшего до настоящего времени в русскоязычной литературе.

Таким образом, перед репродуктивной биологией стоит ряд нерешенных проблем, касающиеся разных уровней организации материи: на молекулярном уровне — это раскрытие генетических основ проявления и закономерностей наследования в поколениях пола и связанных с ним факторов; на клеточном — изучение особенностей мейоза, типов полового процесса, изучение полового поведения; на популяционном — выявление репродуктивных барьеров; на видовом — изучение жизненных циклов, систем скрещивания.

Цели и задачи исследования.

Цель работы — изучить историю формирования представлений в области знаний, касающихся вопросов, связанных с полом и половым воспроизведением диатомовых водорослей, провести самостоятельные исследования, получить новые данные о репродуктивной биологии

диатомовых, обобщить и систематизировать основные достижения, показать связь репродуктивной биологии диатомовых с другими науками и направлениями.

Задачи:

- 1) изучить половой процесс, жизненные циклы и системы воспроизведения отдельных видов диатомовых водорослей; установить особенности и общие закономерности;
- 2) изучить действие абиотических факторов на половое воспроизведение диатомовых;
- 3) определить механизм детерминации пола у гетероталлически воспроизводящихся видов;
- 4) изучить способ доставки гамет к месту слияния у неподвижных бесшовных пеннатных диатомовых;
- 5) установить характер наследования митохондрий у диатомовых в связи с полом;
- 6) изучить репродуктивную совместимость географически удаленных популяций отдельных видов.

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 порядка Toxariales в ходе эволюции утрачена оогамия и возник неоогамный способ воспроизведения – пример гомоплазии с пеннтаными диатомовыми.

Научная новизна. 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 гетероталлического 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 критической границы размеров клеток, которая определяет переход от вегетативной фазы жизненного цикла к генеративной ("кардинального пункта" по Гайтлеру) 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* (С.А. 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 определения 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* (С.А. Agardh) Grunow — представителя полярных центрических диатомовых из порядка 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 и практическая значимость работы. Полученные результаты и обобщения о положении верхней критической границы диапазона размеров клеток, допускающих половое воспроизведение (Davidovich, 2001), не только развивают теорию жизненного цикла, но и позволяют сделать важный акцент в трактовке и использовании, прежде всего систематиками, данных о диапазоне размеров клеток у вида: верхняя и нижняя границы полного диапазона размеров должны отличаться не менее чем в два раза.

Одним из важнейших результатов исследования следует считать доказательство гетерогаметности мужского пола и гомогаметности женского у пеннатных диатомовых (Давидович, 2002; Davidovich *et al.*, 2004; Давидович, Давидович, 2010), полученное при изучении потомства, появившегося вследствие внутриклонового воспроизведения генетически двудомных видов. Тем самым показан оригинальный способ изучения гомо- и гетерогаметности.

Принципиальным следует считать впервые полученное нами 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* (Gastineau *et al.*, 2010), накопивших характерные генетические различия в митохондриальных генах, а также описанию гетероталлического пути в системе скрещивания вида (Davidovich *et al.*, 2009). Установленный принцип наследования митохондрий, при условии его универсальности у диатомовых, создает фундамент и открывает широкие перспективы для филогеографических исследований и реконструкций расселения и распространения гетероталлически воспроизводящихся видов, которые невозможно выполнить без понимания того, что определенные гены передаются из поколения в поколение по линии только одного из полов.

Существенным феноменологическим наблюдением является открытие принципиально нового типа движения гамет (Davidovich *et al.*, 2012) — как мы считаем, ранее неизвестного у эукариот — обеспечивающего сингамию у неподвижных бесшовных пеннатных диатомовых. При этом чрезвычайно высокая (в сравнении с известными) скорость формирования и ретракции аксоподиеподобных цитоплазматических выростов на поверхности гамет поднимает вопрос об особенностях функционирования цитоскелета у диатомовых.

Развитие методов репродуктивной биологии и постановка экспериментов по скрещиванию со всей очевидностью показали, что использование критерия скрещиваемости/нескрещиваемости, основанного на биологической концепции вида, не только теоретически, но и практически важнейший инструмент в

установлении видовой принадлежности и оценке видового единства популяций у диатомовых. 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 итоге это привело к открытию комплекса видов и соответствующего комплекса мареннин-подобных пигментов (Gastineau *et al.*, 2014). Использование биологического подхода эффективно при изучении комплексов криптических видов, у которых идентификация по морфологическим признакам затруднена.

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 изучения распространения *Ulnaria ulna* на Евразийском континенте (Подунай и др., 2013).

Изучение типа полового процесса у *Ardissonaea crystallina* (C.Agardh) Grunow привело к заключению о конвергентной эволюции (гомоплазии) этого представителя полярных центрических (Davidovich *et al.*, 2017) и пеннатных диатомовых. Описаны уникальные эволюционные приобретения, связанные с кремнеземными элементами перизониума, обеспечивающего тубулярную форму клетки у группы полярных центрических, к которым принадлежит *A. crystallina* (Kaczmaraska *et al.*, 2018).

Полученные результаты открывают перспективу их прикладного использования (Давидович, 2015). Это касается поиска, выделения, выбора объектов для массового культивирования. Пользуясь установленными закономерностями, можно определять стратегию подбора видов и конкретных клонов для культивирования, экономить время, оптимизировать затраты по содержанию культур. Полученными знаниями целесообразно руководствоваться при содержании клоновых культур, особенно в случае необходимости сохранения их генетической чистоты.

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. 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).

Методология и методы исследования. В плане общенаучной методологии, в рамках ее практического аспекта, в работе использованы два основных подхода — наблюдение и эксперимент. Методы, использованные в настоящей работе, подробно описаны в Разделе 3 диссертации, и в целом их можно разделить на несколько составляющих, включая отбор проб, выделение клоновых культур, культивирование, эксперименты по скрещиванию, физиологические эксперименты по выяснению влияния факторов среды на рост и воспроизведение диатомовых. Регистрация велась посредством получения изображений с использованием светового и электронного микроскопов. Биологическая вариабельность величин оценивалась с использованием параметрических методов статистики.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов подтверждена их повторяемостью. 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).

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, г. 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: 25ème 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; 27ème 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 ; 28ème 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; 29ème 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; 31ème 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; 16th International Conference on Electron Microscopy, 10-13 September 2017, Jachranka, Warsaw, Poland.

Личный вклад автора. 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, выделение клонов, выполнение экспериментов). При выполнении коллективных работ, автор чаще всего выступал в качестве инициатора (генератора идей), а также одного из исполнителей, осуществлявших получение 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).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 108 работ (57 авторских листов), из них три в виде глав в коллективных монографиях, 50 статей представлены в периодических рецензируемых научных журналах, в том числе 32 в изданиях, включенных в международные наукометрические базы данных (Web of Science, Scopus), из них 3 статьи в журналах первого и 12 – второго квартилей.

Структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, двенадцати основных разделов, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, словаря терминов, списка цитируемой литературы (365 источников, из них 282 на иностранных языках), списка таблиц и иллюстративного материала, приложения. Диссертация изложена на 302 страницах, включает 81 рисунок и 16 таблиц в тексте, часть материала размещена в Приложении. Текстовая часть составляет 11 авторских листов.

Благодарности.

Исследования проводились в основном на базе Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского (Феодосия, Республика Крым). Автор благодарен зарубежным коллегам, в лабораториях и с участием которых выполнена часть работ: Dr. Stephan S. Bates (Department of Fisheries and Oceans, Gulf Fisheries Centre, Canada); Prof. Irena Kaczmarek (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 Gasineau (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_а (2014–2015 гг.), № 15-04-00237_а (2015–2016 гг.), № 17-44-92021 (2017–2018 гг.), № 19-04-00070_а (2019-2020 гг.).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Раздел 1. Диатомовые водоросли как объект исследования

Дается общее описание диатомовых, включая современные представления об их эволюции, отношении к группе гетероконтных (Heterokonta или Stramenopiles). Делается акцент на системе классификации, предложенной [Medlin & Kaczmarzka 2004], в наибольшей мере отражающей естественные филогенетические отношения диатомовых, которая включает три класса: неполярные центрические (Coscinodophyceae), полярные центрические (Mediophyceae) и пеннатные (Bacillariophyceae).

Раздел 2. История изучения репродукции диатомовых

Диатомовые были открыты в начале 18 века неизвестным английским микроскопистом, и вплоть до середины 19 века, ввиду подвижности клеток у некоторых видов, велась дискуссия о принадлежности диатомовых к царству растений [Round et al., 1990]. Вначале половое воспроизведение диатомовых описывалось как "конъюгация" [Thwaites, 1847; Griffith, 1855; Smith, 1856; Carter, 1856, 1865; Pritchard, 1861; Lüders, 1862]. Заслуга В. Смита [Smith, 1856], как подчеркнул А. Притчард [Pritchard, 1861] состояла в том, что он привел все известные формы конъюгации к четырем главным. Чуть позже Г. Клеббан [Klebahn, 1896] выделил пять типов ауксоспоруляции [цит. по Mann, 1993]. 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]. Гайтлер выделял четыре главных типа, основываясь в первую очередь на количестве гамет, порождаемых гаметангиями, и соответственно, количестве ауксоспор в паре гаметангиев. Система классификации, предложенная Гайтлером, была представлена без принципиальных изменений в более поздних обзорных работах [Drebes, 1977; Round et al., 1990; Mann, 1993] и используется большинством современных авторов для практического описания и сравнения типов наблюдаемого полового процесса [Chernunov et al., 2004; Amato, 2010]. Подробная классификация схем оогенеза и сперматогенеза у центрических диатомовых предложена М. Мизуно [Mizuno, 2006, 2008].

Диатомовые являются диплоидными гапобионтами [Bold, Wynne, 1985], это означает, что в жизненном цикле доминирует только одна фаза, в которой организм диплоиден, смена поколений отсутствует. Жизненный цикл у диатомовых связан с изменением размеров клеток. По мере деления вегетативным путем их размер (вдоль апикальной оси у пеннатных или

диаметр у центрических) постоянно уменьшается. Это связано с особенностями построения панциря клеток диатомовых, состоящего из двух половинок (эпитеки и гипотеки), накрывающих одна другую. Восстановление исходных видоспецифических размеров в популяции осуществляется посредством формирования специфической клетки — ауксоспоры, и сопряжено это с половым воспроизведением. Такая схема изменения размеров в жизненном цикле диатомовых известна как правило МакДональда-Пфитцера [Round, 1972; Cherpurnov *et al.*, 2004]. Л. Гайтлер [Geitler, 1932, 1935] установил, что к половому воспроизведению способны только те клетки, размер которых меньше определенной критической границы — так называемого "кардинального пункта" в жизненном цикле. В теории кардинальных пунктов очень важным представляется вывод Гайтлера о том, что размерный и половой цикл взаимосвязаны, и образование ауксоспор является непременным атрибутом полового воспроизведения. А.М. Рошин [Рошин, 1994], работавший с клоновыми культурами водорослей, описал так называемые сложные жизненные циклы, когда в жизненном цикле встречаются несколько периодов полового воспроизведения, прерывающихся периодами вегетативного размножения, а также случаи последовательного ауксоспорообразования в несколько этапов.

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.*, 2008]. Аналогичным образом, многовариантным жизненным циклом обладает *Achnanthes longipes* C.A. Agardh [Cherpurnov, Roschin, 1995; Cherpurnov, Mann, 1997, 1999, 2000], и в принципе, все те виды, у которых гетероталлизм сочетается с гомоталлизмом (т.е. "однодомно-двудомные" виды по А.М. Рошину [Рошин, 1994; Roshchin, Cherpurnov, 1999]) или бесполом ауксоспорообразованием, например, в случае апомиксиса [Sabbe *et al.*, 2004]. Для диатомовых известна также гаплоидия и полиплоидия [Cherpurnov, Roschin, 1995; Cherpurnov *et al.*, 2004], однако при таком развитии событий жизненный цикл оказывается тупиковым. Возможность полиплоидного видообразования у диатомовых не изучалась.

Работая с культурами, А.М. Рошин [1994] серьезное внимание уделял поиску, в его терминологии, "однодомных" и "двудомных" поколений, поскольку считал, что у диатомовых возможно их чередование. Описанное

нами явление андромиксиса [Davidovich *et al.*, 2010] позволяет по-иному трактовать наблюдавшиеся случаи гомо- и гетероталлизма.

Еще сравнительно недавно полагали, что большинство видов диатомовых являются однодомными, и пол у них определяется исключительно эпигенетически [Wiese, 1969; Drebes, 1977]. Диплогенотипическое определение пола было найдено у представителей всего двух родов, *Rhabdonema* Kützinger 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, 1994; Чепурнов, Манн 2001; Cherpurnov *et al.*, 2004]. 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].

Раздел 3. Методы исследования

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. Изучение половых отношений, детерминации пола, систем скрещивания, репродуктивной совместимости и т.п. невозможно без экспериментов с культурами и клоновым культивированием, введенным в диатомологию в конце 19 века П. Микелем [Miquel, 1892].

Для большей стандартизации условий культуры содержали в искусственной морской воде — среда ESAW, оригинальный рецепт которой был опубликован в работе [Harrison *et al.*, 1980], в дальнейшем претерпел небольшие изменения [Berges *et al.*, 2001] и в последнем варианте представлен в работе [Andersen *et al.*, 2005, p.494]. Культуры содержали при квазипостоянной температуре $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ в помещении с естественным освещением со стороны северного окна в экспоненциальной фазе роста, для чего еженедельно осуществляли пересевы в свежую среду. Гомо- и гетероталлическое воспроизведение наблюдали соответственно в клонах и их смешанных посевах.

Наблюдения и фотографирование вели при помощи оптических микроскопов Biolar-PI (PZO, Польша), Eclipse TS100 (Nikon, Япония), CX31 (Olympus, Япония),

Axiostar plus (Zeiss, Германия), настроенных преимущественно по методу дифференциально-интерференционного контраста, а также по методу светлого поля, темного поля, фазового контраста.

Раздел 4. Жизненный цикл диатомовых водорослей

Диатомовые — диплонты с мейозом в конечной фазе гаметогенеза. 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. Анализ полученных нами данных позволил выявить следующие 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 клеточных 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 50 % от общего диапазона размеров, характерных для вида, но обычно несколько уже (30–40 %).

4) Продолжительность жизненной истории у изученных видов составляет от двух до семи с половиной лет, в среднем 4,9 года. Для достижения генеративной фазы в жизненном цикле должно пройти от 1,3 до 3,9 лет, в среднем 2,9 года. При очень больших различиях в максимальных размерах клеток (по этому показателю виды разнились в 80 раз), абсолютной скорости уменьшения размеров (32-х кратное различие), относительной скорости уменьшения размеров (различие в 3,6 раза), продолжительность дорепродуктивной фазы оказалась наиболее выровненной — всего трехкратное различие между видами (табл. 1).

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, *Nitzschia lanceolata* W.Smith, *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle, *P. calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle под именем *P. pseudodelicatissima* (Hasle) Hasle, *Berkeleya micans* (Lyngbye) Grunow ex Van Heurck, *Nitzschia longissima* (Brébisson) Grunow, *N. rectilonga* Takano, *Asterionella formosa* Hassall, *Tabularia fasciculata* (C.Agardh) D.M.Williams & Round, *Haslea ostrearia* (Gaillon) Simonsen, *T. tabulata* (C. Agardh) Snoeijs, *H. karadagensis* Davidovich, Gastineau & Mouget, *Ulnaria ulna* P.Compère, *H. provincialis* Gastineau, Hansen & Mouget,

Таблица 1 — Скорость уменьшения апикального размера клеток и расчетная продолжительность фаз жизненного цикла некоторых видов диатомовых при содержании в культуре в стандартных условиях ^{а)}

Вид	Количество исследованных клонов	Средняя скорость уменьшения размеров и ошибка среднего, мкм · месяц ⁻¹	Известный диапазон размеров, мкм	Максимальный размер гаметангиев, мкм	Средняя скорость уменьшения размеров по отношению к общему диапазону размеров, % · месяц ⁻¹	Расчетная продолжительность всей жизненной истории, лет	Расчетная продолжительность дорепродуктивной (вегетативной) фазы, лет
<i>Ardissonea 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</i> sp.	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

Schizostauron sp., *U. acus* (Kützing) M. Aboal, *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow.

В пробах из природных популяций случаи обнаружения клеток, имеющих максимальные видоспецифические размеры, очень редки. 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.

Раздел 5. Половой процесс у диатомовых

Нам удалось впервые проследить и описать половой процесс у следующих видов диатомовых: *Pseudo-nitzschia multiseries* (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 rectilonga* Takano; *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) D.M. Williams & Round; *T. tabulata* (C. Agardh) Snoeij; *Schizostauron* sp., *Ardissonea crystallina* (C.Agardh) Grunow; *Climaconeis scalaris* (Brébisson) E.J.Cox.

С практической точки зрения интересны токсикогенная *P. multiseries* и используемая в устричных хозяйствах *H. ostrearia*. В связи с массовым развитием *P. multiseries* в Канаде в 1984 году 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; Fryxell et al., 1991, Rosowski et al., 1992; Mann, 1993a, 1993b]. Мы впервые получили и описали половое воспроизведение *P. multiseries* [Davidovich, Bates, 1998a, 1998b; 2002], которое характеризуется анизогамией цис-типа (рис. 1). Причем у всех клеток конкретного клона, участвующих в половом процессе, формируются либо активные, либо пассивные гаметы. На этом основании можно предположить генетическую предопределенность проявления пола. На примере этого вида впервые было описано половое воспроизведение у рода *Pseudo-nitzschia*. Позднее воспроизведение, происходящее по той же схеме, было описано еще у шести видов этого рода: *P. fraudulenta* (Cleve) Hasle [Chepurnov et al., 2004], *P. pungens* (Grunow ex Cleve) Hasle [Chepurnov et al., 2004, 2005], *P. delicatissima* (Cleve) Heiden [Leviardi Ghiron et al., 2008], *P. arenysensis* Quijano-Scheggia, Garcés & Lundholm

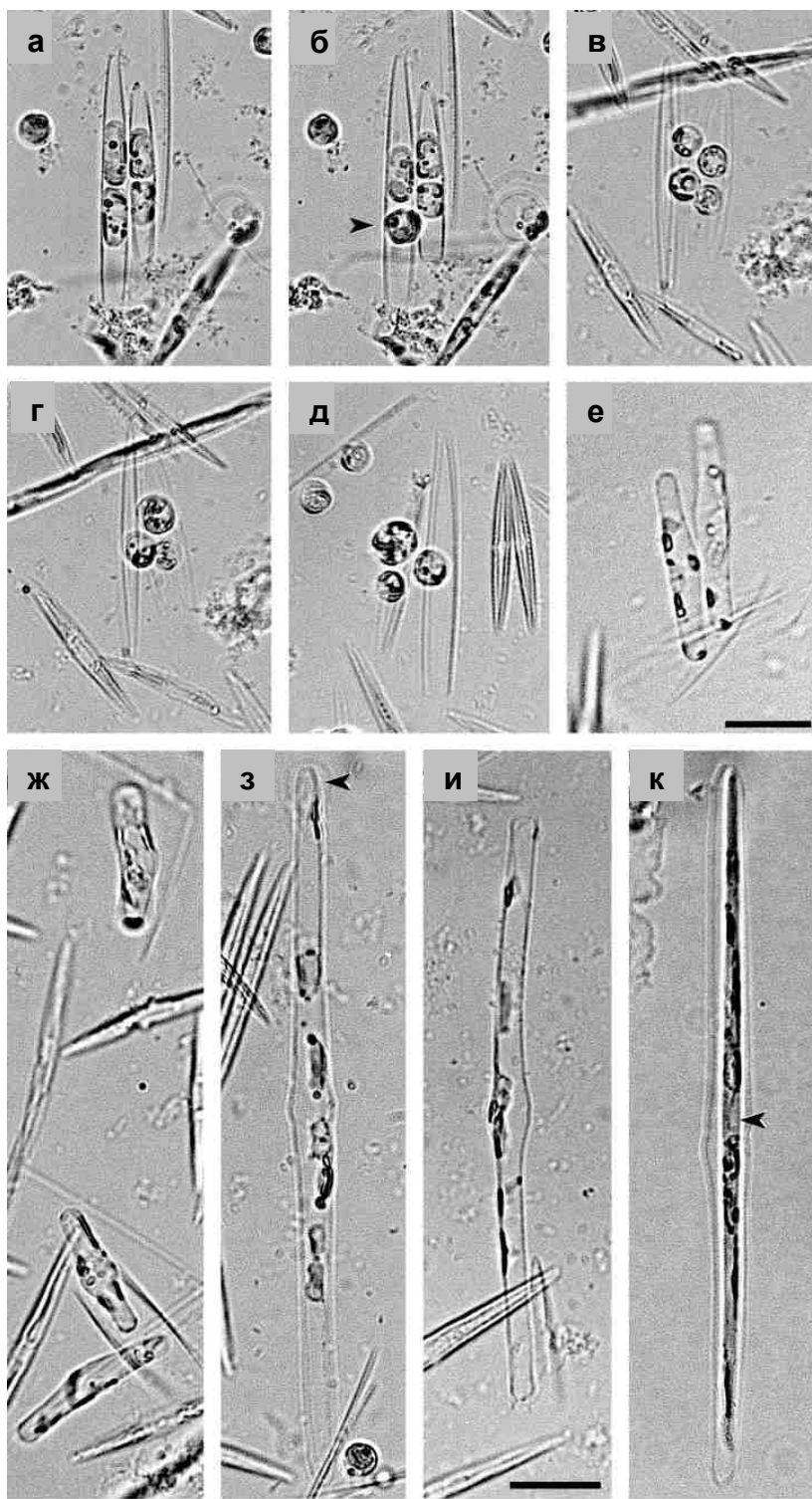


Рисунок 1 — Половое воспроизведение *Pseudonitzschia multiseries*, световая микроскопия [Davidovich, Bates, 1998]: а — в каждом из двух спарившихся гаметангиев формируется по две гаметы (б, в), которые затем попарно сливаются образуя зиготы (г, д); растущие ауксоспоры чаще всего остаются прикрепленными к створкам материнской клетки, располагаясь перпендикулярно к ним и параллельно друг к другу (е), или реже в беспорядке (ж); на концах растущих ауксоспор сохраняются в виде "колпачков" половинки оболочек зигот (з, стрелка); внутри полностью выросшей ауксоспоры (и)

[Quijano-Scheggia *et al.*, 2009].2009), *P. multistriata* (Takano) Takano (D'Alelio *et al.*, 2009), *P. australis* Frenguelli (Holtermann *et al.*, 2010). Нами высказана гипотеза о том, что у гетероталлических планктонных видов достижение высокой плотности ("цветения") необходимо для успешной сингамии.

Благодаря присутствию в фермерских выростных прудах на европейском побережье Атлантики диатомовой водоросли *Haslea ostrearia* [Sprat, 1669; Gaillon, 1820], известной своей способностью синтезировать специфический синий пигмент — мареннин, происходит окрашивание устриц в голубовато-

зеленый цвет. Несмотря на пристальное внимание к феномену окрашивания и вызывающей его диатомовой водоросли, долгое время у нее было известно только внутрикловое (гомоталличное) половое воспроизведение, обнаруженное в 70-е годы прошлого века (Neuville, Daste, 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 и спорадично [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 (рис. 2).

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 & Mouget, [Gastineau *et al.*, 2012], который имеет подобную окраску. Половое воспроизведение этого черноморского вида во всех деталях повторяет схему, уже известную для *H. ostrearia*, доказывая тем самым принадлежность обоих к одному роду [Davidovich *et al.*, 2012a]. Позднее та же схема воспроизведения была описана нами у *H. provincialis* [Gastineau *et al.*, 2016].

Сфокусировать внимание следует на такой закономерности: у видов, принадлежащих одному роду, совпадает не только общая схема, но и многие детали полового процесса. Неизбежным следствием появления расхождений в типах или деталях полового процесса у отдельных клонов будет возникновение репродуктивной изоляции, что является, по сути, фактором видообразования.

Раздел 6. Влияние абиотических факторов на половое воспроизведение диатомовых

Изучено действие основных абиотических факторов (температуры, солености среды, условий освещения) на половое воспроизведение ряда диатомовых. Показано, что способность к вступлению в половой процесс наибольшая 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. Аналогично влиянию других факторов среды действие солености выражалось, прежде всего, в наличии оптимума, при котором появляется наибольшее количество генеративных клеток в смешанных посевах или в отдельных клонах, соответственно при гетеро- и гомоталличном воспроизведении [Давидович и др., 2016]. При скрещивании

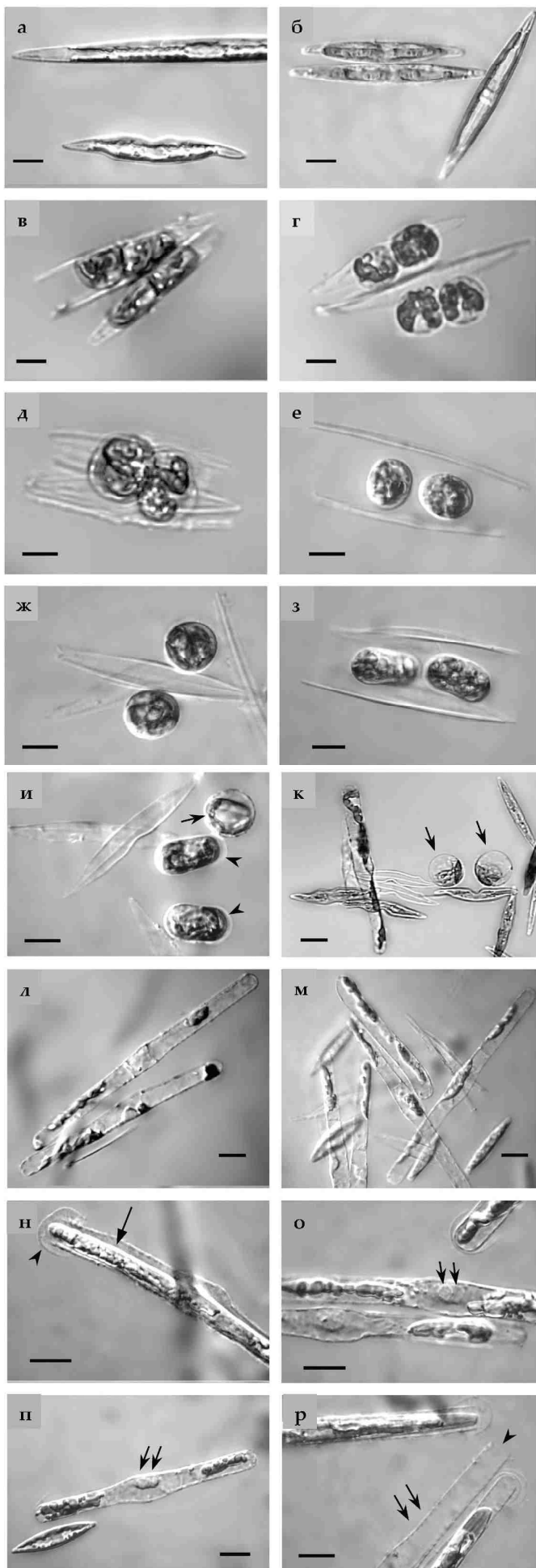


Рисунок 2 — Половое воспроизведение *Haslea ostrearia*, [Davidovich *et al.*, 2009]: **а** – при длительном культивировании клетки нередко приобретают деформации, после полового воспроизведения возвращаются к исходному морфотипу; **б** – спаривание гаметангиальных клеток; **в** – в каждом гаметангии формируются по две гаметы; **г** – по размеру и форме изогамные; **д** – аллогамное слияние гамет происходит благодаря их "разбуханию", поведение гамет изогамно; **е** – зиготы слегка сокращаются после сингамии и лежат между створками родительских клеток; **ж** – зиготы могут лежать также беспорядочно по отношению к гаметангиальным текам; **з** – ауксоспоры, тронувшиеся в рост. **и** – ауксоспоры на ранних этапах роста; **к** – клетки (стрелки), погибшие и раздувшиеся под действием осмотического давления; **л** – растущие ауксоспоры обычно параллельны друг другу; **м** – но могут лежать беспорядочно; **н** – половинки оболочек зигот видны на концах растущих ауксоспор (короткая стрелка), между эпитекой/гипотекой и перизониумом имеется промежуток (стрелка); **о**, **п** – не слившиеся ядра расположены в центре клетки (стрелки); **р** – перизониум имеет четко различимые поперечные кольца (стрелки), инициальная клетка покидает перизониум через апикальное отверстие (короткая стрелка). Масштаб 10 мкм

репродуктивно совместимых клонов из разных популяций с разной соленостью в местах их обитания, было установлено, что наибольшее количество генеративных клеток обнаруживается в смесях, содержащихся при некоторой промежуточной солености. Повышение солености в большинстве случаев инициировало половое воспроизведение, и в некотором диапазоне наблюдалась даже не прямая, а экспоненциальная зависимость между степенью изменения солености и относительным количеством образующихся генеративных клеток.

Из результатов выполненных нами многочисленных экспериментов по изучению действия условий освещения на половое воспроизведение можно отметить следующие. Для эффективного аукоспорообразования важны не сами по себе продолжительность фотопериода и уровень освещенности, а взаимодействие (комбинация) этих факторов [Mouget *et al.*, 2009]. В отношении уровня освещенности физиологические оптимумы для аукоспорообразования существенно ниже таковых для вегетативного размножения [Давидович, Чепурнов, 1993]. В абсолютных цифрах они составляют для аукоспорообразования изученных видов $25\text{--}50 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ плотности светового потока (что приблизительно соответствует освещенности 1,3–2,5 Клк) и для вегетативного размножения $50\text{--}200 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ (2,5–10,0 Клк). Непрерывное освещение, даже слабой мощности, у многих видов ингибирует вступление в половой процесс.

Непосредственно на половой процесс и процесс роста аукоспор условия освещения, если они не экстремальны, заметного влияния не оказывают. У многих видов эти этапы полового воспроизведения могут осуществляться в полной темноте. Однако, индукция полового воспроизведения, т.е. переход от митоза к мейозу реализуется исключительно в G1 фазе клеточного цикла и возможен только в том случае, если накоплен достаточный энергетический и ресурсный потенциал [Давидович, 1994, 1995].

Раздел 7. Движение гамет

В процессе полового воспроизведения одним из ключевых является момент слияния гамет (сингамия). Для достижения сингамии существуют разные механизмы перемещения гамет, эволюционисты рассматривают их смену как один из главных трендов эволюции [Medlin *et al.*, 2016].

Для достижения сингамии у диатомовых в целом задействовано несколько способов движения. У оогамных центрических диатомовых мужские гаметы подвижны благодаря наличию жгутиков. У шовных пеннатных функция достижения полового партнера первоначально осуществляется за счет самих родительских клеток — так называемая гаметангиогамия. Сложнее достичь сингамии тем видам, у которых гаметы безжгутиковые, а сами гаметангии не

способны к активным перемещениям. Возможен случайный перенос клеток вплоть до достижения тесного контакта, однако, гаметы у ряда бесшовных пеннатных, как нам удалось впервые показать на примере *Tabularia fasciculata* [Davidovich *et al.*, 2010; Davidovich *et al.*, 2012, online 2011], способны перемещаться (рис. 3) благодаря особому механизму, обусловленному циклическим процессом формирования и исчезновения на поверхности гамет тонких цитоплазматических выростов, существующих не дольше одной–двух минут. Такой механизм движения гамет ранее не был описан у эукариот. Как было математически доказано позднее [Edgar *et al.*, 2014], это движение, несмотря на хаотический характер, увеличивает вероятность встречи с половым партнером. На сегодняшний день мы зарегистрировали этот механизм движения у четырех видов бесшовных пеннатных диатомовых и одного вида, относящегося к полярным центрическим.

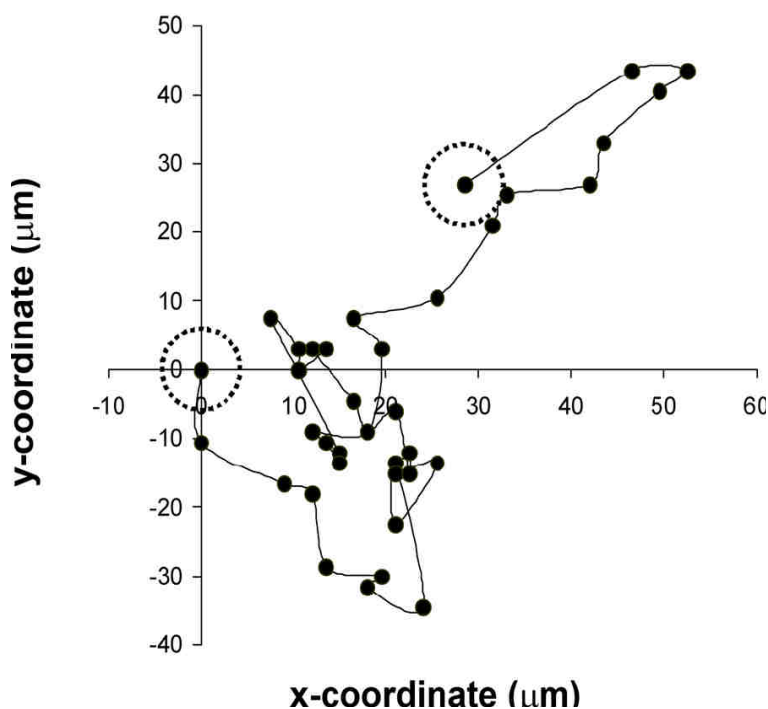


Рисунок 3 — Путь одной мужской гаметы в течение трех минут, показан как проекция траектории в двухкоординатной плоскости [Davidovich *et al.*, 2010]. Получено по результатам съемки видео в реальном времени. Точки представляют положение центра гаметы каждые 4,7 секунды; пунктирные кольца соответствуют действительным размерам гаметы в начальной и конечной позициях

Раздел 8. Распределение полов и система скрещивания

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

Данных о генетических основах определения пола у диатомовых получено пока крайне мало. Известно, что численное соотношение полов, близкое у

большинства раздельнополых организмов к единице, является прямым результатом хромосомного механизма определения пола [Айала, Кайгер, 1987]. При этом количество мужских и женских организмов в популяции приблизительно одинаково у тех видов, у которых один пол гомогаметный, а другой — гетерогаметный. Скрещивание клонов, случайным образом выделенных из природных популяций, показало приблизительно равное соотношение полов у пяти изученных видов (табл. 2). Полученное соотношение подтверждает тот факт, что, по крайней мере у рассмотренных

Таблица 2 — Количественное соотношение полов в природных популяциях отдельных видов диатомовых водорослей

Вид	Количество клонов, случайно выделенных из природной популяции, по принадлежности к полу *		Соотношение полов (пол 1/пол 2)
	Пол 1	Пол 2	
<i>Ardissonaea 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> *	19 (♂)	21 (♀)	0,90
<i>T. fasciculata</i> **	7 (♂)	8 (♀)	0,88
<i>Ulnaria ulna</i>	27 (♂)	20 (♀)	1,35
В среднем			1,03
<i>Примечание.</i> * – 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 комплементарным типам скрещивания; там, где это возможно, принадлежность к мужскому и женскому полам обозначена знаками ♂ и ♀ соответственно; * – канадская популяция; ** – карадагская популяция			

видов, пол определяется генетическими детерминантами (аллельными парами), расположенными в разных хромосомах. Результаты изучения закономерностей наследования пола при внутриклоновом воспроизведении *Nitzschia longissima* впервые привели к пониманию и доказательству характера наследования пола у пеннатных диатомовых [Давидович, 2001; 2002; 2005; Davidovich, 2004; Davidovich *et al.*, 2006].

При нормально протекающем половом процессе в каждой гаметангии у *N. longissima* 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]. Следовательно, 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) _♂

Такая схема диктует равное распределение полов в потомстве при скрещивании мужского и женского клонов, что и наблюдалось у *N. longissima*. Половая принадлежность клонов у этого вида легко идентифицируются по морфологии и поведению гамет ввиду явно выраженной при гетероталличном воспроизведении анизогамии цис-типа. У *N. longissima* мы впервые обнаружили явление, которому дали название андромиксис [Davidovich *et al.*, 2006] — ограниченная способность исключительно мужских клонов к внутриклоновому воспроизведению, которое осуществляется аллогамным путем, т.е. путем спаривания двух генетически идентичных гаметангиальных клеток. При этом возможны два варианта наследования пола в потомстве: 1) если родительский клон гомогаметный, все потомки будут одного пола, 2) если родительский клон гетерогаметный — в потомстве можно обнаружить оба пола. Проверив пол потомства, мы нашли, что наследование осуществляется в нашем случае по второму варианту:

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

Следовательно, мы вправе утверждать, что клоны, воспроизводившиеся гомоталличным путем — они же мужские — являются гетерогаметными по половым факторам. Аналогичный характер детерминации и наследования пола позднее мы обнаружили у бесшовных *Tabularia fasciculata*, *T. tabulata*, и *Ulnaria ulna* [Давидович, Давидович, 2010; Podunay *et al.*, 2014].

Раздел 9. Наследование, связанное с полом

Известно, что наследование внеядерной митохондриальной ДНК и митохондрий у большинства многоклеточных организмов, включая человека, происходит по материнской линии [Barr *et al.*, 2005]. Как это осуществляется у

диатомовых оставалось невыясненным. Представление о раздельнополости, или генетической двудомности диатомовых (касается пеннатных) сформировалось сравнительно недавно. Возможно, именно поэтому подобные исследования на диатомовых ранее не проводили.

Для выяснения закономерностей наследования митохондрий мы выбрали шовную пеннатную диатомею *Haslea ostrearia*, система скрещивания которой нами досконально изучена. Показано [Davidovich *et al.*, 2009], что основным путем 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, обитающих на Атлантическом побережье Франции и Швеции. Популяции оказались репродуктивно совместимыми. Изучение молекулярных последовательностей митохондриального гена цитохромоксидазы субъединицы 1 (*cox 1*) показало наличие замещений нуклеотидов в семи позициях, надежно отличающих одну популяцию от другой [Gastineau *et al.*, 2013]. 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, причем неважно, из какой популяции происходил клон этого пола. Наша работа [Gastineau *et al.*, 2013] 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*.

Установленный феномен открывает великолепную перспективу для исследований в области филогеографии и реконструкции расселения раздельнополых диатомовых, учитывая, что один из полов не может участвовать в интродукции в популяцию митохондриальной ДНК, в то время как по линии второго пола митохондриальная ДНК не исчезает в поколениях, будучи перенесенной из одной популяции в другую.

Раздел 10. Репродуктивная изоляция как критерий вида у диатомовых

Ключевым понятием биологической концепции вида является понятие репродуктивной изоляции [Dobzhansky, 1935, 1951; Майр, 1968, 1974]. Диатомовые представляют собой ту группу организмов, к которым, как показывают в том числе наши исследования, в большинстве случаев может быть применен критерий репродуктивной совместимости/изоляции. Использование этого критерия позволило нам выявить комплексы криптических видов, и описать ряд новых видов (табл. 3).

Таблица 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 2) <i>Haslea karadagensis</i> * Davidovich, Gastineau et Mouget 3) <i>Haslea provincialis</i> * Gastineau, Hansen et Mouget	Бискайский залив, АО Черное море Средиземное море
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow	1) <i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow 2) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Черное море Черное море
<i>Nitzschia rectilonga</i> Takano	1) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano 2) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano 3) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano 4) <i>Nitzschia</i> cf. <i>rectilonga</i> Takano	Бискайский залив** Красное море Средиземное море Черное море
<i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (Hasle) Hasle	1) <i>Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima</i> (Hasle) Hasle 2) <i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> * Lundholm, Moestrup et Hasle	Коллекция ССМР Черное море
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams and Round	1) <i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams et Round 2) <i>Tabularia affinis</i> (Kützing) Snoeijs	Черное море Черное море
Примечание. * – вновь описанные виды; ** – Атлантический океан		

В то же время, исследование репродуктивной совместимости популяций, удаленных друг от друга на значительные расстояния, позволило подтвердить их конспецифичность в следующих случаях (табл. 4).

Раздел 11. Репродуктивные границы и биогеография диатомовых

Являются ли диатомовые водоросли космополитами или же им присуща локальность распределения — один из главных вопросов биогеографии этих микроорганизмов. Исследуя распространение рода *Ulnaria* (Kützing) Compère, мы собрали пробы из девяти популяций, расположенных на Евразийском континенте на значительном удалении друг от друга (рис. 4). В результате попарного скрещивания выяснилось, что клоны охотно вступают в гетероталличный половой процесс в комбинациях, отвечающих их половому типу. При этом успешно сочетались клоны из всех изученных популяций. Однако, обнаружилось, что гибридное потомство первого поколения (*F1*)

Таблица 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, АО** 2 Северное море, АО 3) восточное побережье США, АО 4) западное побережье Австралии, ИО	(1) – (2) = 1,5 (1) – (3) = 5,5 (1) – (4) = 13,9
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson ex Kützing) Grunow	1) западное побережье Франции, АО 2) п-ов Крым, Черное море	(1) – (2) = 2,8
<i>Nitzschia ventricosa</i> Kitton	1) о. Мартиника, Карибское море, АО 2) Мексиканский залив, АО 3) о. Ля Гомера, Канарские о-ва, АО 4) о. Мадагаскар, ИО	(1) – (2) = 4,0 (1) – (3) = 4,8 (1) – (4) = 12,4 (3) – (4) = 8,4
<i>Tabularia fasciculata</i> (C.A. Agardh) Williams and Round	1) восточное побережье Канады, АО 2) п-ов Крым, Черное море	(1) – (2) = 7,2
Примечание. * – для популяций, репродуктивная совместимость которых подтверждена в экспериментах; ** – АО – Атлантический океан, ИО – индийский океан		

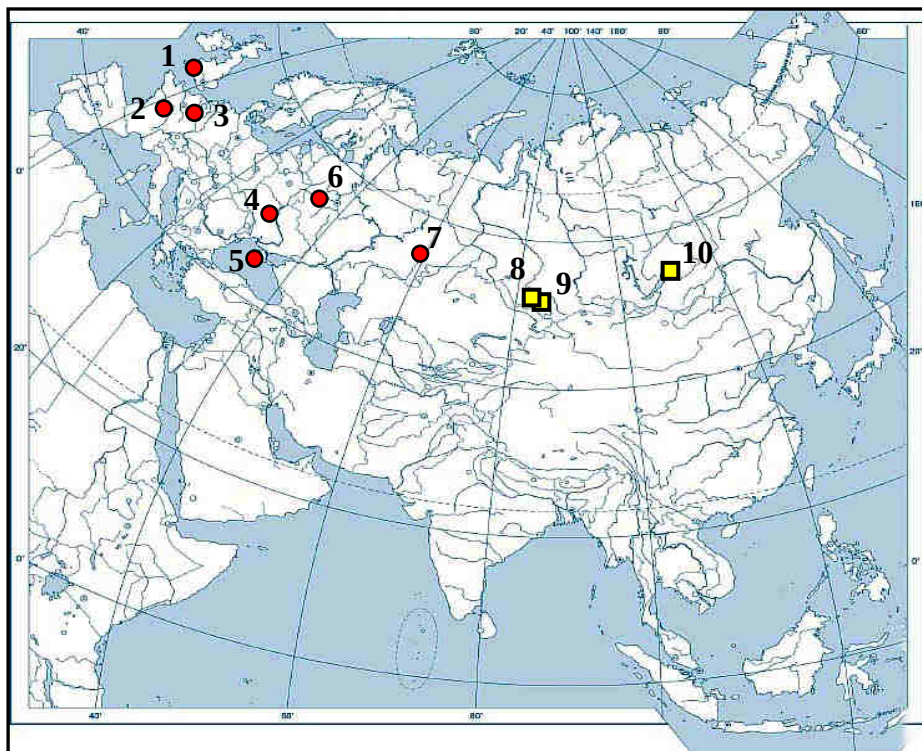


Рисунок 4 — *Ulnaria ulna* на Евразийском континенте образует две репродуктивно изолированные группы популяций: 1–7 и 8–10. Репродуктивная изоляция обнаруживается во втором поколении

способно скрещиваться почти со всеми популяциями, если оно получено без участия восточноевразийских родительских клонов. Гибриды, полученные с

участием восточноевразийских клонов, оказались нефертильными в скрещиваниях с западноевразийскими популяциями. 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.

С точки зрения репродуктивной биологии, окончательный вывод об эволюционном расхождении видов можно сделать только на основе данных о репродуктивной изоляции, поскольку даже очевидные морфологические или генетические различия, как показывают, например, наши исследования, выполненные на *Tabularia fasciculata* [Kaczmaraska et al., 2009], не отрицают отсутствия репродуктивных барьеров и сохраняющейся возможности переноса генетической информации (рис. 5).

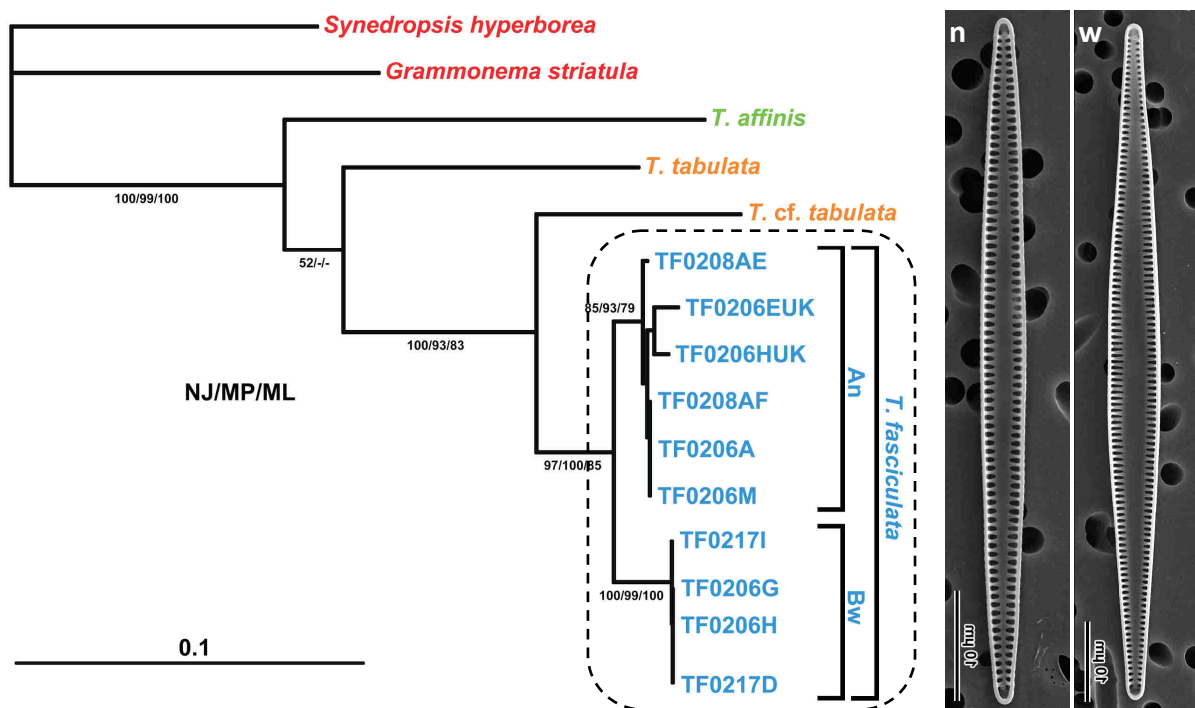


Рисунок 5 — Дендрограмма, построенная по методу объединения ближайших соседей на основании анализа последовательности 5.8S гена рибосомальной ДНК и ITS2 региона ядерно-кодируемой рибосомальной ДНК клонов *Tabularia fasciculata* с атлантического побережья Канады (мыс Торментайн) и побережья Крыма (Карадаг, наименования клонов оканчиваются на -UK). *Synedropsis hyperborea* и *Grammonema striatula* выбраны в качестве внешней группы. При наличии двух явно различающихся генотипов (**An** и **Bw**) и двух морфотипов (**n** и **w**) все клоны *T. fasciculata*, обведенные пунктирной линией, репродуктивно совместимы [Kaczmaraska et al., 2009].

Раздел 12. Репродуктивные особенности и филогения диатомовых

Наиболее значимыми признаками при описании полового процесса являются [Geitler, 1935; Mann, 1993]:

- 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.

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) [Mizuno, 2006, 2008].

По мере накопления данных становится все более очевидным, что тип полового процесса является отличительной и очень консервативной родовой характеристикой. Анализ имеющегося материала показал, что половой процесс, описанный в совокупности всех цитологических деталей, может служить надёжной родовой характеристикой. Основной тип полового процесса у всех представителей рода один и тот же. У близкородственных видов различия незначительны и касаются мелких деталей, за исключением тех случаев, когда у одного и того же вида задействованы разные пути воспроизведения (например, анизогамное гетероталличное воспроизведение и аутомиксис при внутрикловом воспроизведении). В ряде случаев родоспецифический характер имеют отдельные черты полового процесса.

Тип полового процесса может служить важнейшим критерием не только для рода, но и для таксонов более высокого ранга. Так, например, формирование жгутиковых спермиев и эпигенетический характер определения пола служат принципиальным доказательством принадлежности к центрическим диатомовым. Однако, недавно нами был обнаружен [Davidovich *et al.*, 2016; Davidovich *et al.*, 2017] неоогамный способ гетероталличного воспроизведения у *Ardissonea crystallina* (рис. 6), которая, вместе с

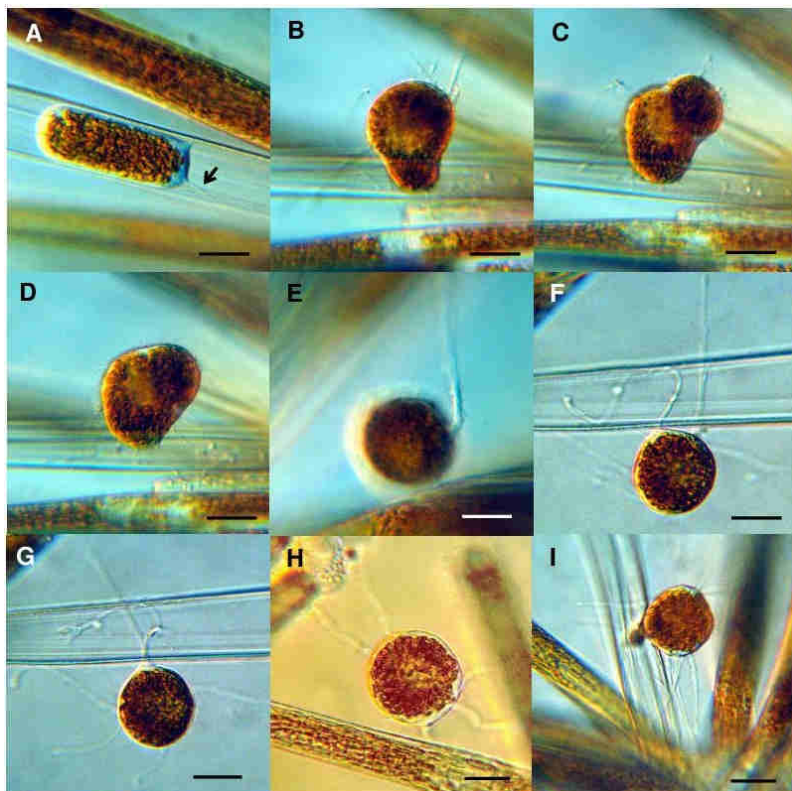


Рисунок 6 — У мужских гамет *Ardissonaea crystallina* жгутики отсутствуют, однако на поверхности периодически формируются цитоплазматические выросты, которые облегчают поиск половых партнеров и обеспечивают контакт с женскими гаметангиальными клетками [Davidovich *et al.*, 2017]. Масштаб 10 мкм

близкородственными родами *Toxarium* J.W. Bailey и *Climacosphenia* Ehrenberg, принадлежит согласно молекулярным данным [Medlin *et al.*, 2008; Theriot *et al.*, 2010; и др.] к полярным центрическим (рис. 7).

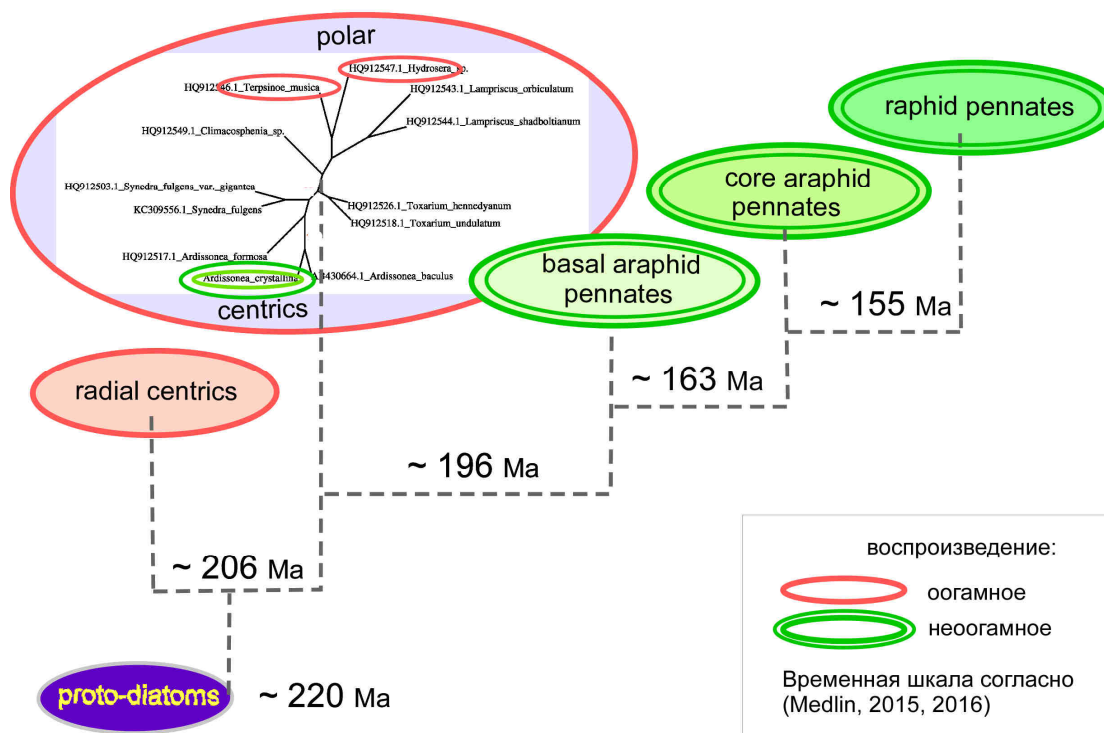


Рисунок 7 — Эволюционные отношения и типы полового воспроизведения современных диатомовых

В ближайшем окружении находятся виды, демонстрирующие типичную оогамия, например, *Hydrosera triquetra* Wallich [Idei *et al.*, 2015]. При этом эволюционная дистанция, отделяющая *A. crystallina* от последних гораздо меньше в сравнении с дистанцией между ней и пеннатными диатомовыми, что позволяет рассматривать токсариид, как наиболее предпочтительную группу для исследования генетических изменений, благодаря которым произошла утрата жгутиковых сперматозоидов, появилась размерная изогамия, а вместе с этим изменился способ детерминации пола (от эпигенетического к генетическому контролю), произошел переход от гомоталлизма к гетероталлизму.

Эта находка позволяет говорить о параллельной и независимой эволюции (гомоплазии) типов полового процесса, равно как и способа детерминации пола у видов, находящихся на концах филогенетически глубоко разделенных ветвей эволюционного дерева. Таким образом, изучение репродуктивных особенностей не только помогает понять филогенетические отношения между отдельными таксонами, но в то же время ставит новые вопросы относительно эволюции диатомовых и эволюции пола у эукариот в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие пола и полового воспроизведения у эукариот, причины его появления, пути эволюции относятся 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 определения пола невозможно сделать без учета данных, полученных для диатомовых водорослей.

Принимая во внимание облигатность и исключительную роль полового воспроизведения в жизненном цикле абсолютного большинства диатомовых водорослей, мы вправе предположить, что именно в области репродуктивной биологии следует искать причины, объясняющие расцвет этой филогенетической группы. Как нам представляется, не в последнюю очередь это связано с половым воспроизведением и формированием репродуктивных барьеров. 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, Neitman, 2014].

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 — эпигенетической регуляцией у центрических и генетической у пениатных — 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]. В зависимости от выраженности этих явлений организмы можно разделить на бесполое, обоеполое (гермафродитные) и раздельнополое (двудомные). Переход от гермафродитизма к двудомности 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 [Геодакян, 2000].. Здесь опять уместно обратиться к диатомовым, поскольку у них представлен весь спектр репродуктивных отношений.

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 приступали. Подтвержденный нами механизм унипарентального наследования митохондриальных генетических маркеров открывает возможность для оценки генетических дистанций между удаленными популяциями и реконструкции их расселения. Методы репродуктивной биологии крайне эффективны при изучении криптических комплексов, видов двойников.

Перспективными и важными представляются исследования в области репродуктивной биологии, жизненных циклов диатомовых, связанные с их практическим культивированием.

Терминология по репродуктивной биологии диатомовых

Репродуктивную биологию диатомовых следует рассматривать как цельное, самостоятельное направление исследований, имеющее собственные объекты, методы и задачи, способное генерировать новые знания (в том числе общебиологического характера), располагающее специфическим понятийным аппаратом и терминологией. Составлен ранее отсутствовавший в русскоязычной научной литературе словарь из 248 терминов и их синонимов [Давидович, 2017].

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. Впервые установлено, что пол у пеннатных диатомовых (*Nitzschia longissima* (Brébisson ex Kützing) Grunow, *N. rectilonga* Takano, *Tabularia fasciculata* (C.A. Agardh) Williams and Round, *T. tabulata* (C.A. Agardh) Snoeijs; *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 соответствует половине 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 *Tabularia 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* (Kützinger) 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 центрических (*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 ОСНОВНЫХ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах, входящих в международные базы данных Scopus, WoS

1. **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 // **Russian Journal of Plant Physiology**. 1992. Vol. 39, Part 2. P. 386–390. (импакт фактор JCR = **0,816** – здесь и далее по данным за 2017 год электронного ресурса <https://clarivate.com/webofsciencegroup/solutions/journal-citation-reports>; импакт фактор SJR = **0,370**; квартиль = **Q3** – здесь и далее по данным электронного ресурса <https://www.scimagojr.com/journalrank.php> на момент обращения 19.09.2019)
2. **Davidovich, N.A.** Factors controlling the size of initial cells in diatoms // **Russian Journal of Plant Physiology**. 1994 Vol. 41, Part 2. P. 220–224. (импакт фактор JCR = **0,816**; импакт фактор SJR = **0,370**; квартиль = **Q3**)
3. **Davidovich N.A.** Transition to sexual reproduction and control of initial cell size in *Nitzschia lanceolata* // **Diatom Research**. 1998. Vol. 13, No 1. P. 29–38. . (импакт фактор JCR = **1,000**; импакт фактор SJR = **0,457**; квартиль = **Q3**)
4. **Davidovich N.A.**, Bates S.S. Sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. pseudodelicatissima* (Bacillariophyceae) // **Journal of Phycology**. 1998. Vol. 34, Iss. 1. P. 126–137. (импакт фактор JCR = **3,000**; импакт фактор SJR = **1,123**; квартиль = **Q1**)
5. **Davidovich N.A.** Sexual reproduction of *Berkeleya micans* (Lyngb.) Grun. (Bacillariophyta) // **International Journal on Algae**. 2001. Vol. 3, Iss. 3. P. 1–12. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)
6. **Davidovich N.A.** Photoregulation of sexual reproduction in Bacillariophyta (review) // **International Journal on Algae**. 2002. Vol. 4, Iss. 2. P. 56–71. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)
7. **Davidovich N.A.** Sexual heterogeneity of the clones of *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) // **International Journal on Algae**. 2002. Vol. 4, Iss. 3. P. 104–116. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)
8. **Davidovich N.A.** Sex inheritance during intracolonial reproduction in the obligatory dioecious species *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) // **International Journal on Algae**. 2005. Vol. 7, Iss. 2. P. 136–149. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)

9. Kaczmarska I., **Davidovich N.A.**, Ehrman J.M. Sex cells and reproduction in the diatom *Nitzschia longissima* (Bacillariophyta): discovery of siliceous scales in gamete cell walls and novel elements of the perizonium // **Phycologia**. 2007. Vol. 46, Iss. 6. P. 726–737. (импакт фактор JCR = **1,798**; импакт фактор SJR = **0,736**; квартиль = **Q2**)
10. **Davidovich N.A.**, Mouget J.-L., Gaudin P. Heterothallism in the pennate diatom *Haslea ostrearia* (Bacillariophyta) // **European Journal of Phycology**. 2009. Vol. 44, Iss. 2. P. 251–261. (импакт фактор JCR = **2,471**; импакт фактор SJR = **0,820**; квартиль = **Q2**)
11. Kaczmarska I., Ehrman J.M., Moniz M.B.J., **Davidovich N.** Phenotypic and genetic structure of interbreeding populations of the diatom *Tabularia fasciculata* (Bacillariophyta) // **Phycologia**. 2009. Vol. 48, Iss. 5. P. 391–403. (импакт фактор JCR = **1,798**; импакт фактор SJR = **0,736**; квартиль = **Q2**)
12. Mouget J.-L., Gastineau R., Davidovich O., Gaudin P., **Davidovich N.A.** Light is a key factor in triggering sexual reproduction in the pennate diatom *Haslea ostrearia* // **FEMS Microbiology Ecology**. 2009. Vol. 69, Iss. 2. P. 194–201. (импакт фактор JCR = **3,495**; импакт фактор SJR = **1,485**; квартиль = **Q1**)
13. **Davidovich N.** Tendencies in development of reproductive biology in diatomic algae // **International Journal on Algae**. 2010. Vol. 12, Iss. 1. P. 5–18. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)
14. **Davidovich N.A.**, Kaczmarska I., Ehrman J.M. Heterothallic and homothallic sexual reproduction in *Tabularia fasciculata* (Bacillariophyta) // **Fottea**. 2010. Vol. 10, Iss. 2. P. 251–266. (импакт фактор JCR = **1,476**; импакт фактор SJR = **0,568**; квартиль = **Q2**)
15. **Davidovich N.A.**, Davidovich, O.I. Sexual reproduction and mating system of the diatom *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijs (Bacillariophyta) // **International Journal on Algae**. 2011. Vol. 13, Iss. 1. P. 18–36. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)
16. **Davidovich N.A.**, Kaczmarska I., Karpov S.A., Davidovich O.I., MacGillivray M.L., Mather L. Mechanism of male gamete motility in araphid pennate diatoms from the genus *Tabularia* (Bacillariophyta) // **Protist**. 2012. Vol. 163, Iss. 3. P. 480–494. (on-line publication 2011, doi:10.1016/j.protis.2011.09.002) (импакт фактор JCR = **2,702**; импакт фактор SJR = **1,162**; квартиль = **Q2**)
17. **Davidovich N.A.**, Gastineau R., Gaudin P., Davidovich O.I., Mouget J.-L. Sexual reproduction in the newly-described blue diatom, *Haslea karadagensis* // **Fottea, Olomouc**. 2012. Vol. 12, Iss. 2. P. 219–229. (импакт фактор JCR = **1,476**; импакт фактор SJR = **0,568**; квартиль = **Q2**)
18. Gastineau R., **Davidovich N.A.**, Bardeau J.-F., Caruso A., Leignel V., Hardivillier Y., Jacqueline B., Davidovich O.I., Rincé Y., Gaudin P., Cox E.J.,

Mouget J.-L. *Haslea karadagensis* (Bacillariophyta): a second blue diatom, recorded from the Black Sea and producing a novel blue pigment // **European Journal of Phycology**. 2012. Vol. 47, Iss. 4. P. 469–479. (импакт фактор JCR = **2,471**; импакт фактор SJR = **0,820**; квартиль = **Q2**)

19. Gastineau R., Leignel V., Jacquette B., Hardivillier Y., Wulff A., Gaudin P., Bendahmane D., **Davidovich N.A.**, Kaczmarska I., Mouget J.-L. Inheritance of mitochondrial DNA in the pennate diatom *Haslea ostrearia* (Naviculaceae) during auxosporulation suggests a uniparental transmission // **Protist**. 2013. Vol. 164, Iss. 3. P. 340–351. (импакт фактор JCR = **2,702**; импакт фактор SJR = **1,162**; квартиль = **Q2**)

20. Shorenko K.I., Davidovich O.I., **Davidovich N.A.** On the taxonomy, reproduction, and distribution of the diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow (Bacillariophyta) // **International Journal on Algae**. 2014. Vol. 16, Iss. 1. P. 5–28. (импакт фактор SJR = **0,229**; квартиль = **Q3**)

21. Gastineau R., Turcotte F., Pouvreau J.-B., Moranchais M., Fleurence J., Windarto, E., Prasetya F.S., Arsad S., Jaouen P., Babin M., Coiffard L., Couteau C., Bardeau J.-F., Jacquette B., Leignel V., Hardivillier Y., Marcotte I., Bourgougnon, N., Tremblay R., Deschênes J.-S., Badawy H., Pasetto P., **Davidovich N.**, Hansen G., Dittmer J., Mouget J.-L. Marennine, promising blue pigments from a widespread *Haslea* diatom species complex // **Marine Drugs**. 2014. Vol. 12. P. 3161–3189. (импакт фактор JCR = **4,379**; импакт фактор SJR = **0,855**; квартиль = **Q2**)

22. **Davidovich N.A.**, Davidovich O.I., Podunai Yu.A., Shorenko K.I., Kulikovskii M.S. Reproductive properties of diatoms significant for their cultivation and biotechnology // **Russian Journal of Plant Physiology**. 2015. Vol. 62, Iss. 2. P. 153–160. (импакт фактор JCR = **0,816**; импакт фактор SJR = **0,370**; квартиль = **Q3**)

23. Shorenko K.I., **Davidovich N.A.**, Kulikovskiy M.S., Davidovich O.I. The species boundaries and biogeography of two closely related diatom species: *Nitzschia longissima* (Bréb.) Grunow, 1862 and *N. rectilonga* Takano, 1983 // **Inland Water Biology**. 2016. Vol. 9, Iss. 1. P. 18–26. (импакт фактор JCR = **0,360**; импакт фактор SJR = **0,333**; квартиль = **Q3**)

24. Gastineau R., Hansen G., **Davidovich N.A.**, Davidovich O., Bardeau J.-F., Kaczmarska I., Ehrman J.M., Leignel V., Hardivillier Y., Jacquette B., Poulin M., Moranchais M., Fleurence J., Mouget J.-L. A new blue-pigmented hasleoid diatom, *Haslea provincialis*, from the Mediterranean Sea. *European Journal of Phycology* // **European Journal of Phycology**. 2016. Vol. 51, Iss. 2. P. 156–170. (импакт фактор JCR = **2,471**; импакт фактор SJR = **0,820**; квартиль = **Q2**)

25. Podunay Yu.A., Davidovich O.I., **Davidovich N.A.** Effect of culture density on sexual reproduction of *Ardissonaea crystallina* (Bacillariophyta) inhabiting the

Black Sea // **Moscow University Biological Sciences Bulletin**. 2016. Vol. 71, Iss. 2. P. 82–86. (импакт фактор SJR = **0,228**; квартиль = **Q3**)

26. Davidovich O.I., **Davidovich N.A.**, Podunay Yu.A., Shorenko K.I., Witkowski A. Effect of salinity on vegetative growth and sexual reproduction of algae from the genus *Ardissonaea* de Notaris (Bacillariophyta) // **Russian Journal of Plant Physiology**. 2016. Vol. 63, Iss. 6. P. 776–782. (импакт фактор JCR = **0,816**; импакт фактор SJR = **0,370**; квартиль = **Q3**)

27. **Davidovich N.A.**, Davidovich O.I., Witkowski A., Li C., Dąbek P., Mann D.G., Zgłobicka I., Kurzydłowski K.J., Gusev E., Górecka E., Krzywda M. Sexual reproduction in *Schizostauron* (Bacillariophyta) and a preliminary phylogeny of the genus // **Phycologia**. 2017. Vol. 56, Iss. 1. P. 77–93. (импакт фактор JCR = **1,798**; импакт фактор SJR = **0,736**; квартиль = **Q2**)

28. **Давидович Н.А.** Определения и понятия репродуктивной биологии диатомовых водорослей (терминологический словарь) // **Новости систематики низших растений**. 2017. Т. 51. С. 71–105. (импакт фактор SJR = **0,264**; квартиль = **Q3**)

29. **Davidovich N.A.**, Davidovich O.I., Podunay Y.A., Gastineau R., Kaczmarek I., Poulíčková A., Witkowski A. *Ardissonaea crystallina* has a type of sexual reproduction that is unusual for centric diatoms // **Scientific Reports**. 2017. Vol. 7, No. 14670. P. 1–16. (импакт фактор JCR = **4,122**; импакт фактор SJR = **1,414**; квартиль = **Q1**)

30. Kaczmarek I., Ehrman, J.M., **Davidovich, N.A.**, Davidovich, O.I., Podunay, Y.A. Structure and development of the auxospore in *Ardissonaea crystallina* (C. Agardh) Grunow demonstrates another way for a centric to look like a pennate // **Protist**. 2018. Vol. 169, Iss. 4. P. 466–483. (импакт фактор JCR = **2,702**; импакт фактор SJR = **1,162**; квартиль = **Q2**)

Статьи в Российских научных журналах из перечня ВАК, входящие в базу данных РИНЦ (RSCI)

1. **Давидович Н.А.** О скорости размножения клеток в зависимости от их объема в культурах пеннатных диатомовых водорослей // **Физиология растений**. 1991. Т. 38, вып. 3. С. 567–572. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = **1,276** – здесь и далее по данным электронного ресурса <https://elibrary.ru/defaultx.asp> на момент обращения 19.09.2019)

2. **Давидович Н.А.** Продолжительность деления клеток *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar. et Kar. (Bacillariophyta) в разные периоды жизненного цикла // **Физиология растений**. 1992. Т. 39, вып. 3. С. 599–605. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = **1,276**)

3. Давидович Н.А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей // **Физиология растений**. 1994. Т. 41, № 2. С. 250–255. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 1,276)
4. Давидович Н.А. Размер инициальных клеток диатомовой водоросли *Nitzschia lanceolata*, сформировавшихся при разных режимах освещения // **Цитология**. 1995. Т. 37, № 3. С. 257–265. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,721)
5. Давидович Н.А., Давидович О.И., Подунай Ю.А., Шоренко К.И., Куликовский М.С. Репродуктивные особенности диатомовых водорослей: значение для культивирования и биотехнологии // **Физиология растений**. 2015. Т. 62, № 2. С. 167–175. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 1,276)
6. Шоренко К.И., Давидович Н.А., Куликовский М.С., Давидович О.И. Видовые границы и особенности биогеографии двух близких видов диатомовых водорослей *Nitzschia longissima* (Breb.) Grunow, 1862 и *N. rectilonga* Takano, 1983 // **Биология внутренних вод**. 2016. № 1. С. 21–29. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,822, в базе RSCI)
7. Подунай Ю.А., Давидович О.И., Давидович Н.А. Влияние плотности культуры на половое воспроизведение *Ardissonaea crystallina* (Bacillariophyta) // **Вестник Московского ун-та. Сер. 16. Биология**. 2016. № 2. С. 19–24. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,792)
8. Давидович О.И., Давидович Н.А., Подунай Ю.А., Шоренко К.И., Витковски А. Влияние солености среды на вегетативный рост и половое воспроизведение водорослей из рода *Ardissonaea* De Notaris (Bacillariophyta) // **Физиология растений**. 2016. Т. 63, № 6. С. 796–803. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 1,276)
9. Подунай Ю.А., Давидович Н.А., Куликовский М.С., Гусев Е.С. Особенности полового воспроизведения и система скрещивания *Ulnaria acus* (Bacillariophyta) // **Журнал Сибирского федерального университета. Биология**. 2017. Т. 7, № 14670. С. 1–13. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,458, в базе RSCI)
10. Давидович О.И., Давидович Н.А., Муже Ж.-Л. Влияние температуры на вегетативный рост и половое воспроизведение двух видов диатомовых водорослей рода *Haslea* // **Биология моря**. 2018. Т. 44, № 1. С. 10–15. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,910, в базе RSCI)

Монографии и разделы монографий

2. Gastineau R., Davidovich N.A., Hallegraeff G.M., Prober I., Mouget J.-L. Reproduction in Microalgae // *Reproductive Biology of Plants* / Eds K.G. Ramawat J.M. Mérillon, K.R. Shivanna. CRC Press, 2014. P. 1–28.

3. Gastineau R., **Davidovich N.**, Hansen G., Rines J., Wulff A., Kaczmarska I., Ehrman J., Hermann D., Maumus F., Hardivillier Y., Leignel V., Jacquette B., Meleder V., Hallegraeff G., Yallop M., Perkins R., Cadoret J-P., Saint-Jean B., Carrier G., Mouget J-L. *Haslea ostrearia*-like Diatoms: Biodiversity out of the Blue // *Advances in Botanical Research: Sea Plants*, Vol. 71 / Ed. N. Bourgoignon. United Kingdom, Academic Press, 2014. P. 441–465.

4. Gastineau R., Prasetya F.S., Falaise C., Cognie B., Decottignies P., Morancais M., Méléder V., **Davidovich N.**, Turcotte F., Tremblay R., Pasetto P., Dittmer J., Bardeau J.-F., Pouvreau J.-B., Mouget J.-L. Marennine-like pigments: blue diatom or green oyster cult? Stéphane La Barre, Stephen S. Bates (Eds.). *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules*. Volume 2. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 2018. P. 529–551.

Статьи в сборниках научных трудов

1. **Давидович Н.А.** Эколого-физиологические исследования полового воспроизведения диатомовых // *Труды Карадагского филиала Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины*. 1994. Севастополь, 1997. С.63–66.

2. **Davidovich N.A.**, Bates S.S. Patterns of sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pseudodelicatissima* // *Harmful microalgae* / Eds B. Reguera, J. Blanco, M.L. Fernandez, T. Wyatt. Paris, Xunta de Galicia and the IOC of UNESCO, 1998. P.152–155.

3. Bates S.S., **Davidovich N.A.** Factors affecting the sexual reproduction of diatoms, with emphasis on *Pseudo-nitzschia* spp. // *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.

4. **Давидович Н.А.** Лимитированный объем среды как фактор, ограничивающий половое воспроизведение диатомовых водорослей в культуре // *Карадаг. Гидробиологические исследования : Сборник научных трудов, посвященный 90-летию Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского и 25-летию Карадагского природного заповедника НАН Украины* / Ред. А.Л. Морозова, В.Ф. Гнубкин. Книга 2-я. Симферополь: Изд-во "Сонат", 2004. С.181–188.

5. **Davidovich N.A.**, Kaczmarska, I., Ehrman, J.M. The sexual structure of a natural population of the diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs // *Proceedings of the 18th International Diatom Symposium* (2004, Miedzyzdroje, Poland) / Ed. by Witkowski . Bristol: Biopress Ltd., 2006. P. 27–40.

6. **Давидович Н.А.**, Давидович О.И. Использование среды ESAW в опытах по изучению полового воспроизведения диатомовых водорослей // 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. 572 с.

Статьи в других рецензируемых изданиях

1. **Давидович Н.А.**, Чепурнов В.А. Периодические компоненты динамики численности бентосных диатомовых водорослей верхней сублиторали Черного моря в районе Карадага // **Экология моря**. 1992. Вып. 40. С. 27–32. (пятилетний импакт-фактор РИНЦ = 0,229)

2. **Давидович Н.А.**, Чепурнов В.А. Интенсивность ауксоспорообразования у двух видов Bacillariophyta в зависимости от освещенности и продолжительности фотопериода // **Альгология**. 1993. Т. 3, N 3. С. 34–41.

3. **Давидович Н.А.** Половое воспроизведение *Berkeleya ticans* (Lyngb.) Grun. (Bacillariophyta) // **Альгология**. 1999. Т. 9, №1. С. 3–12.

4. **Давидович Н.А.** Фоторегуляция полового воспроизведения у Bacillariophyta. (Обзор) // **Альгология**. 2002. Т. 12, № 2. С. 259–272.

5. **Давидович Н.А.** Половая гетерогенность клонов *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) // **Альгология**. 2002. Т. 12, № 3. С. 279–289.

6. **Давидович Н.А.** Наследование пола при внутрикловом воспроизведении облигатно двудомного вида *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Bacillariophyta) // **Альгология**. 2005. Т. 15, № 4. С. 385–398.

7. **Давидович Н.А.** Тенденции в развитии репродуктивной биологии Bacillariophyta // **Альгология**. 2009. Т. 19, № 4. С. 436–449.

8. Gastinea, R., **Davidovich N.**, Gaudin P., Mouget J.-L Sexual reproduction in *Haslea ostrearia*: size, partner, and atmosphere matter // **The Phycologist**. 2009. No. 76. P. 12.

9. **Давидович Н.А.**, Давидович О.И. Половое воспроизведение и система скрещивания *Tabularia tabulata* (C. Agardh) Snoeijns (Bacillariophyta) // **Альгология**. 2010. Т. 20, № 4. С. 385–405.

10. Шоренко К.И., Давидович О.И., **Давидович Н.А.** К вопросам таксономии, репродукции и распространения *Nitzschia longissima* (Breb.) Grunow (Bacillariophyta) // **Альгология**. 2013. Т. 23, № 2. С. 113–137.

11. Podunay Yu.A., Davidovich O.I., **Davidovich N.A.** Mating system and two types of gametogenesis in the fresh water diatom *Ulnaria ulna* (Bacillariophyta) // **Альгология**. 2014. Т. 24, № 1. С. 3–19.

Тезисы докладов и публикации в материалах конференций (выборочно)

1. **Давидович Н.А.** Фоторегуляция ауксоспорообразования у диатомовых водорослей // Экология и география диатомовых водорослей. Тез.докл. VI школы по диатомовым водорослям (совещание диатомологов стран СНГ, 15–18 мая 1995 г.). Минск, 1995. С.27–28.
2. **Davidovich N.A.**, Bates S.S. Patterns of sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pseudodelicatissima* // Harmful microalgae / Eds. B. Reguera, J. Blanco, M.L. Fernandez, T. Wyatt. Paris: Xunta de Galicia and the IOC of UNESCO, 1998. P.152–155.
3. **Давидович Н.А.** Сочетание инбредного и аутбредного скрещивания в системе размножения диатомовой водоросли *Nitzschia longissima* // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. №4 (15). Спеціальний випуск: Гідроекологія. 2001. С.72–73.
4. **Davidovich N.A.** Species specific sizes and size range of sexual reproduction in diatoms // Proceedings of the 16th International Diatom Symposium, Athens 2000. (Ed. by A. Economou–Amilli), 601 pp. University of Athens, Greece, 2000. P.191–196.
5. **Davidovich N.A.** Additional evidence for the diplogenotypic sex distribution in the unicellular diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs // Abstract book of the First (Inaugural) Ukrainian Congress for Cell Biology (Lviv, April 25–28, 2004). P.175.
6. **Давидович Н.А.** Подчиняется ли *Asterionella formosa* правилу МакДональда-Пфитцера? // Актуальные проблемы современной альгологии : Тез. докл. III Междунар. конф. (20–23 апреля 2005) / Под ред. Т.В.Догадиной. Харьков: Харьковский национальный университет, 2005. С.44–45.
7. **Давидович Н.А.** Внутрикловое воспроизведение у раздельнополых видов диатомовых водорослей // Морфология, клеточная биология, экология, флористика и история развития диатомовых водорослей : Материалы X Междунар. науч. конф. диатомологов стран СНГ (г. Минск, 9–14 сент. 2007 г) / Отв. ред.: Г.К. Хурсевич, А.А. Свирид. Минск: БГПУ, 2007. С. 5–7.
8. **Давидович Н.А.**, Давидович О.И. Влияние солености на размножение и воспроизведение некоторых видов диатомовых водорослей // Летопись природы: Том XXIII. 2006 год / Под ред. А.Л. Морозовой. Симферополь: Н.Оріанда, 2008. С. 344–352.
9. **Давидович Н.А.**, Подунай Ю.А., Давидович О.И. Об отсутствии биологической репродуктивной изоляции между аллопатрическими популяциями *Synedra ulna* (Bacillariophyta) // Наукові записки Тернопільського

державного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія. 2010. № 2 (43). С. 153–156.

10. **Давидович Н.А.** Применение методов и принципов репродуктивной биологии для решения проблем таксономии диатомовых водорослей // Диатомовые водоросли: морфология, систематика, флористика, экология, палеогеография, биостратиграфия : Материалы XII междунар. конф. диатомологов (Москва, 19-24 сентября 2011 г.) : сборник / Ред. кол. В.М.Гаврилов и др. М.: Университетская книга, 2011. С. 33–35.

11. **Davidovich N.A.** 'Pseudopodial' activity of the gamete surface in araphid pennate diatoms // 22nd International Diatom Symposium (Aula Academica, Ghent, 26-31 August 2012) : Abstracts / Eds Koen Sabbe, Bart Van de Vijver & Wim Vyverman. VLIZ Special Publication 58. P. 150.

12. **Давидович Н.А.** Использование данных о репродуктивной биологии для построения естественной филогенетической системы диатомовых // Вопросы современной альгологии / Ежегодный бюллетень. Спец. выпуск. 2015 : Материалы XIV международной научной конференции диатомологов "Диатомовые водоросли: успехи, проблемы и перспективы исследований", посвященной 160-летию со дня рождения К.С. Мережковского (24–29 августа 2015 г., Звенигород). 2015. С. 41–43.

13. **Davidovich N., Davidovich O., Górecka E., Krzywda M., Dąbek P., Witkowski A.** Sexual reproduction in *Schizostauron* // Abstract book of the 9th Central European Diatom Meeting, 10-13th March 2015, Bremerhaven. P. 42.

14. **Давидович Н.А.,** Куликовский М.С. Роль репродуктивной биологии в решении проблем филогеографии диатомовых водорослей // Проблемы систематики и географии водных растений : Материалы международной конференции (21–24 октября 2015 г.). Ярославль: Филигрань, 2015. С. 31–32.

15. **Davidovich N.A., Davidovich O.I., Podunay Y.A.** Nonoogamous sexual reproduction in the polar centric diatom *Ardissonaea crystallina* // Protistology. 2016. Vol. 10, No. 2. P. 93.

16. **Davidovich N.A., Davidovich O.I., Podunay Yu.A.** Evolution of nonoogamous reproduction in diatom lineages // Диатомовые водоросли: современное состояние и перспективы исследований : Материалы XV международной научной конференции (XV Диатомовая школа), пос. Борок, Ярославская область, 24–27 августа 2017 года. Ярославль: Филигрань, 2017. С. 89.

17. **Davidovich N.A., Davidovich O.I., Podunay Yu. A., Gastineau R., Witkowski A.** How deep is homoplasy in *Ardissonaea crystallina* and pennate diatoms? // 11 International Phycological Congress (Szczecin, Poland 13–19 August 2017) : Abstracts of papers. Phycologia. 2017. Vol. 56, No. 4, Supplement. P. 39.

Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 2,1 Тираж 120 экз. Заказ №10ДА/17

Отпечатано с оригинал-макета в типографии ИП Бражникова Д.А.
295053, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Оленчука, 63,
тел. +7 978 71 72 902, e-mail: braznikov@mail.ru