

УДК 582.261

А.М.РОЩИН, В.А.ЧЕПУРНОВ

Карадагский филиал Ин-та биологии южных морей
им. А.О.Ковалевского АН Украины,
334876 Крым, пос. Курортное, Украина

ОБРАЗОВАНИЕ АУКСОСПОР В КЛОНОВОЙ КУЛЬТУРЕ *ACHNANTHES BREVIPES* AG. VAR. *INTERMEDIA* (KÜTZ.) CL. (BACILLARIOPHYTA)

Образование аукоспор в клонových культурах *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl. происходит без спаривания клеток. Одиночные материнские клетки чаще всего образуют по одной аукоспоре. Примерно в 30% случаев образованию аукоспор предшествует цитокинез. Если цитокинез явно неравный, то образуется одна аукоспора и одна дегенерирующая остаточная клетка. В случае более или менее равного цитокинеза материнская клетка производит две аукоспоры.

Ключевые слова: Bacillariophyta, аукоспора, клоновая культура.

Введение

При однодомном¹ воспроизведении *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl. одна неспаренная материнская клетка производит одну аукоспору или аукоспору и дегенерирующую остаточную клетку либо две аукоспоры. В известных случаях неаллогамного аукоспорообразования (аутомиксис, партеногенез) у пеннатных диатомовых водорослей одна материнская клетка производит только одну аукоспору (Geitler, 1973; Drebes, 1977). Образование аукоспор в клонových культурах морской и солоноватоводной разновидностей *A. brevipes* var. *intermedia*, исследованное нами, не укладывается в рамки этого сложившегося представления. Результаты исследования излагаются в данном сообщении.

Материалы и методы

Исходный клон *A. brevipes* var. *intermedia* был выделен и введен в культуру из пробы с прибрежного каменистого мелководья, взятой 16.05.89 г. Длина клеток в клоновой культуре 23 мая составляла $32 \pm 0,5$ мкм. Через 2 недели, когда клетки в результате серии делений уменьшились в длину до $26 \pm 0,4$ мкм, началось аукоспорообразование. Из первых аукоспор сформировались клетки длиной $65 \pm 1,0$ мкм. Крупноклеточный клон нового поколения, выделенный в отдельную культуру, в середине августа также перешел к аукоспорообразованию. От него был получен клон третьего поколения, и т.д. Наконец, в середине марта 1991 г. в отдельную культуру выделили клон восьмого поколения, в котором 12 июня, при длине клеток $24 \pm 0,4$ мкм, также началось образование аукоспор. В культурах клонов предыдущих поколений и других однодомных клонов, выделенных из природы и полученных из аукоспор, мы отмечали, что обычно одна материнская клетка порождает одну аукоспору, однако некоторые наблюдения указывали на наличие отклонений от этого правила. Для выяснения всех существующих вариантов образования аукоспор при однодомном воспроизведении и был использован клон восьмого поколения.

Культуру выращивали на рассеянном дневном свете у окна, обращенного на север, при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ по ранее описанной методике (Рощин,

¹Однодомные клоны образуют аукоспоры внутри себя, т.е. в клонových культурах. В случае неодомности (двудомности) для наблюдения аукоспорообразования необходимо высевать в один сосуд клетки двух клонов противоположного пола.

1987). Микрофотографирование производили под микроскопом МБИ-6 с камерой ФЭД-3 (водоиммерсионный объектив $\times 40$, фотоокуляр $\times 7$).

Результаты и обсуждение

В культуре изучавшегося клона, как и всех других однодомных клонов этого вида, которые исследовались раньше, спаривание клеток в период аукоспорообразования отсутствовало. Одиночные (неспаренные) материнские клетки в большинстве случаев производили по одной аукоспоре (фото 1). Перед образованием аукоспоры панцирь материнской клетки раскрывается, ее протопласт принимает более или менее округлую форму (фото 1, а, б) и переходит к биполярному росту (фото 1, в). Полностью выросшая аукоспора (фото 1, г) преобразуется в крупную инициальную клетку.

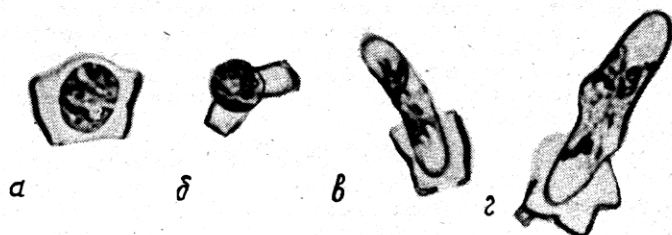


Фото 1. Образование одной аукоспоры неспаренной материнской клеткой в клонной культуре *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а, б – панцирь материнской клетки раскрывается, протопласт округляется; в – растущая аукоспора; г – зрелая аукоспора.

Photo 1. Formation of one auxospore by unmated maternal cell in clonal culture of *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а, б – frustule of the maternal cell is opening, protoplast is rounding; в – growing auxospore; г – mature auxospore.

Нередко протопласт после раскрытия материнской клетки претерпевает неравное деление (фото 2, а), которое не сопровождается образованием новых створок. В таких случаях более крупный дочерний протопласт развивается в аукоспору (фото 2, б, в), а более мелкий через некоторое время разрушается (фото 2, б-г). Дольше всего сохраняются его хлоропласты (фото 2, г). В этом варианте, как и в предыдущем, одна материнская клетка производит одну аукоспору, но, кроме нее, еще маленькую дегенерирующую клеточку.

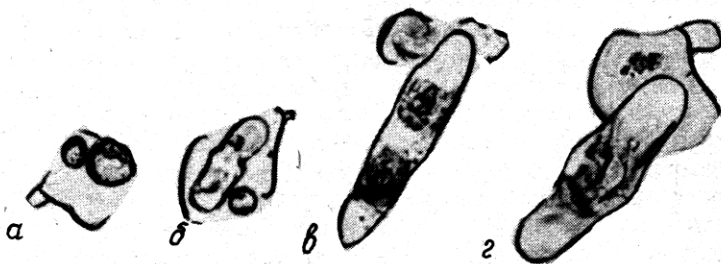


Фото 2. Образование одной аукоспоры и одной маленькой дегенерирующей остаточной клетки неспаренной материнской клеткой в клонной культуре *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а – материнская клетка после очень неравного цитокинеза; б-г – более крупный дочерний протопласт развивается в аукоспору, а остаточная клетка разрушается.

Photo 2. Formation of auxospore and one small degenerating cell by unmated maternal cell in clonal culture of *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а – maternal cell after very unequal cytokinesis; б-г – more large daughter protoplast is developed into auxospore and residual cell is destructed.

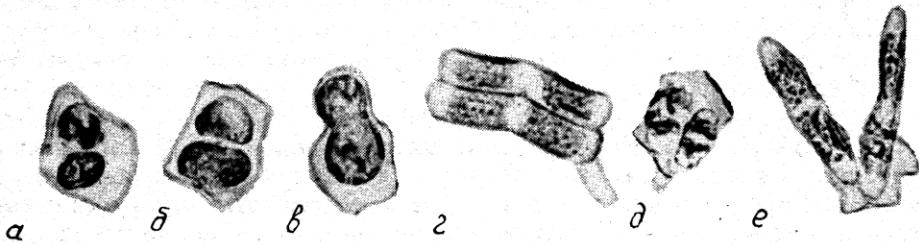


Фото 3. Образование двух аукуспор неспаренной материнской клеткой в клоновой культуре *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а-в – более или менее равные деления материнских клеток аукуспор; в, г – оба дочерних протопласта развиваются в аукуспоры; д – инициальная клетка после первого вегетативного деления.

Photo 3. Formation of two auxospore by unmated maternal cell in clonal culture of *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl.: а-в – more or less equal cytokinesis of maternal cells; в, г – both daughter protoplasts are developed into auxosporal; д – initial cell after first vegetative dividing.

Наконец, также нередко случаи, когда протопласт раскрывшейся материнской клетки совершает более или менее равное деление (фото 3, а-в), причем это деление может происходить в плоскости, перпендикулярной (фото 3, а) или параллельной (фото 3, б) первальварной оси клетки, или же направленной под каким-либо другим углом к ней. Оба дочерних протопласта, образовавшиеся в результате равного деления, как правило, переходят к биполярному росту (фото 3, в) и развиваются в две аукуспоры (фото 3, г). Инициальные клетки, сформировавшиеся из аукуспор, вскоре переходят к вегетативным делениям (фото 3, д). Таким образом, в этом варианте, в отличие от двух предыдущих, одна материнская клетка порождает две аукуспоры.

Представление о количественном соотношении трех вариантов дают результаты учета 301 случая образования аукуспор. Из них в 214 случаях образовалась одна аукуспора, в 30 – аукуспора и остаточная клетка, в 57 – две аукуспоры. Произведя небольшое округление, получаем, что примерно 70% материнских клеток развиваются по первому варианту, 10% по второму, 20% по третьему.

У всех до сих пор изученных видов *Achnanthes* Borgy кроме *A. brevipes* var. *intermedia*, образованию аукуспор предшествует спаривание клеток и половой процесс "нормального типа" (Geitler, 1973, 1979, 1980). В каждой материнской клетке формируется по две гаметы, которые аллогамно копулируют, образуя две зиготы. В итоге пара материнских клеток производит две аукуспоры. У *A. brevipes* var. *intermedia* еще Г.Карстен (Karsten, 1987) наблюдал в природном материале образование одной аукуспоры из неспаренной материнской клетки (он пользовался старым названием этой водоросли – *A. subsessilis* Kütz.), что соответствует наиболее обычному варианту аукуспорообразования в наших клоновых культурах. Рассматривая данные Г.Карстена, Л.Гейтлера (Geitler, 1977, 1979) предполагал педогамное слияние гамет в неспаренных клетках *A. subsessilis*, однако в нашем исследовании это не подтвердилось. В клоновых культурах *A. brevipes* var. *intermedia* аукуспоры образуются не аллогамно и не педогамно, а скорее всего автогамно, но автогамия еще должна быть подтверждена изучением превращений ядра.

У аллогамных пennisпанных видов с половым процессом "нормального типа" две гаметы в каждой гаметангии образуются в результате цитокинеза после первого мейотического деления ядра. При менее распространенном "редуцированном типе" полового процесса цитокинез после первого мейотического деления ядра отсутствует, следствием чего является образование одной гаметы в каждой гаметангии. У некоторых других видов происходит очень неравный цитокинез, и тогда в дополнение к единственной гамете образуется маленькая дегенерирующая остаточная клетка (Geitler, 1973; Drebes, 1977).

При аутомиксисе в форме педогамии в материнских клетках ауксоспор после первого мейотического деления ядра происходит цитокинез, ведущий к образованию двух гамет, как и в гаметангиях аллогамных видов с "нормальным типом" полового процесса. Автогамное образование ауксоспор до сих пор было известно только без цитокинеза в материнских клетках (Geitler, 1973). Однако у *A. brevipes* var. *intermedia* наблюдается факультативный цитокинез в материнских клетках ауксоспор при вполне вероятном аутомиксисе в форме автогамии. В тех сравнительно редких случаях, когда этот цитокинез очень неравный, меньший дочерний протопласт отмирает, вероятно, по той же причине, по которой отмирают вегетативные клетки, достигшие минимальных для вида размеров. Не исключено, что еще у каких-то не изученных видов будет найдено автогамное ауксоспорообразование с облигатным цитокинезом в материнских клетках ауксоспор после первого мейотического деления ядра, т.е. с образованием двух ауксоспор из каждой материнской клетки.

Мы не случайно постоянно указывали, что речь идет об ауксоспорообразовании *A. brevipes* var. *intermedia* в клонных культурах, т.е. при однодомном воспроизведении. Уже сообщалось, что у *Synedra tabulata* (Ag.) Kütz. и *Nitzschia lanceolata* W. Sm., кроме однодомного воспроизведения, существует и двудомность (Рощин, 1987, 1990). У *Achnanthes longipes* Ag. также удалось обнаружить двудомность через 10 лет после наблюдений однодомного ауксоспорообразования в клонных культурах (Рощин, 1984). Мы много раз выделяли из природной популяции и подолгу выращивали в культуре неодомные клоны *A. brevipes* var. *intermedia*. Два неодомных клона были получены из ауксоспор в условиях культуры. Поэтому мы не сомневаемся в существовании и у этой водоросли также и двудомного ауксоспорообразования со спариванием клеток и с аллогамной копуляцией гамет. Но пока не удавалось одновременно иметь в культуре неодомные клоны противоположного пола.

A.M.Roshchin, V.A.Chepurnov

Karadag Branch of A.O.Kovalevsky Institute of Biology
of Southern Seas, Academy of Sciences of Ukraine,
Settl. of Kurortnoe, the Crimea, 334876, Ukraine

AUXOSPORE FORMATION
IN CLONAL CULTURE OF *ACHNANTHES BREVIPES* AG.
VAR. *INTERMEDIA* (KÜTZ.) CL. (BACILLARIOPHYTA)

Formation of auxospores in the clonal cultures of *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Cl. occurs without cell pairing. Each single maternal cells most often forms one auxospore. In approximately 30% of cases the formation of auxospores is preceded by cytokinesis. One auxospore and one degenerating residual cell are formed under unequal cytokinesis. In the case of more or less equal cytokinesis two auxospores are produced by the maternal cell.

Key words: *Bacillariophyta*, *auxospore*, *clonal culture*.

- Рощин А.М. Жизненные циклы бентосной диатомовой водоросли *Achnanthes longipes* Ag. // Биол. науки. - 1984. - № 11. - С. 71-78.
Рощин А.М. Диатомовая водоросль с однодомным и двудомным воспроизведением // Журн. общ. биол. - 1987. - 48, № 6. - С. 771-783.
Рощин А.М. Сочетание однодомности и двудомности у диатомовой водоросли *Nitzschia lanceolata* W. Sm. // Там же. - 1990. - 51, № 5. - С. 699-708.
Drebes G. Sexuality // Bot. Monographs. - 1977. - 13. - P. 250-283.
Geitler L. Auxosporenbildung und Systematik bei pennaten Diatomeen und die Cytologie von Cocconeis - Sippen // Osterr. bot. Z. - 1973. - 122, H.5 - S. 299-321.
Geitler L. Entwicklungsgeschichtliche Eigentümlichkeiten einiger Achnanthes - Arten (Diatomeae) // Plant Syst. and Evol. - 1977. - 126, N 4. - S.377-392.
Geitler L. Zur Lebensgeschichte der Diatomee Achnanthes linearis und Bemerkungen über andere Achnanthes - Arten // Ibid. - 1979. - 132, N 3. - S. 231-238.
Geitler L. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und Taxonomie einiger Achnanthes - Arten, Subgenus Microneis (Bacillariophyceae) // Ibid. - 1980. - 134, N 1-2. - S. 1-10.
Karsten G. Untersuchungen über Diatomeen. II // Flora. - 1897. - 83. - S. 33-53.

Получена 09.09.91