

УДК (582.26:574.63)(285)

Н.П. МАСЮК¹, Л.П. ЯРМОШЕНКО²

¹Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины,
01001 Киев, ул. Терещенковская, 2, Украина

²Ин-т гидробиологии НАН Украины,
04210 Киев, просп. Героев Сталинграда, 12, Украина

НОВАЯ НАХОДКА В УКРАИНЕ ВИДА *VOLVOX POLYCHLAMYS* KORSCH. (*VOLVOCALES*, *CHLOROPHYTA*, *VIRIDIPLANTAE*)

Впервые приведены оригинальные микрофотографии спорного вида *Volvox polychlamys* Korsch. и описание локальной популяции этого вида из Киевского водохранилища. Пополнены сведения об его экологии. Отмечено сходство строения клеточных покровов *V. polychlamys* и одноклеточных фитомонад из рода *Vitreochlamys* Batko, обсуждаются их возможные родственные связи.

Ключевые слова: *Volvox polychlamys*, *V. tertius* (*Volvocales*), *Vitreochlamys* (*Chlamydomonadales*), Киевское водохранилище.

Введение

Volvox polychlamys, описанный А.А. Коршиковым в 1938 г. (Коршиков, 1938), представляет спорный в таксономическом отношении вид, самостоятельность которого была поставлена под сомнение уже в год его описания. Так, исследователь вольвокальных водорослей М.А. Пококк (Росокк, 1938), считала *V. polychlamys* идентичным ранее описанному виду *V. tertius* Meyer (Meyer, 1896).

В своей монографии Г.М. Смит (Smith, 1944) также приводит *V. polychlamys* в качестве синонима *V. tertius*. Однако, согласно Х. Этглу (Ettl, 1983), оба этих вида являются самостоятельными валидными таксонами, различающимися по строению клеточных покровов.

В настоящее время решение вопроса о самостоятельности данных видов осложнено, с одной стороны, отсутствием в коллекциях культур любых штаммов, идентифицированных как *V. polychlamys*, с другой – отсутствием аутентичного штамма *V. tertius*. Как следствие, *V. polychlamys*, неоднократно приведенный в списках работ гидробиологического направления для территории Украины (Матвиенко, 1950; Владимирова, Данилова, 1968; Радзимовский, Полищук, 1970; Иванов, 1982; Костикова и др., 1989; Харченко и др., 1990; Михайлюк, 2000), за пределами бывшего СССР не указывается (Ettl, 1983). Кроме того, какие-либо сведения об особенностях локальных популяций этого вида, а также оригинальные

© Н.П. Масюк, Л.П. Ярмошенко, 2009

рисунки и микрофотографии, в этих работах отсутствуют, за исключением штриховых рисунков А.А. Коршикова (1938).

Данная ситуация резко контрастирует с состоянием изученности *V. tertius*, а именно его штамма ССАР 88/3В (=SAG 88-3, =UTEX 132), найденного в 1947 г. Е.А. George в Queen's Ditch (Кембридж), который хорошо изучен не только в фенотипическом, но и в молекулярно-биологическом отношении (Liss et al., 1997; Mai, Coleman, 1997; Nozaki et al., 2002; Herron et al., 2009).

Учитывая спорный таксономический статус *V. Polychlamys*, мы приводим полученные нами результаты изучения этого вида с целью восполнения и уточнения сведений, имеющихся в литературе.

Материалы и методы

Пробы собраны в Глебовском заливе Киевского водохранилища (правый берег водохранилища возле с. Глебовка, Вышгородского р-на, Киевской обл.), в зарослях погруженных высших водных растений с доминированием рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus* L.) 16 августа 2007 г. Пробы изучали в фиксированном состоянии после фиксации 40 %-ным формальдегидом в соотношении 1:100.

Камеральную обработку проб проводили с помощью микроскопов Axio Imager A1 с оптическими системами и программным обеспечением AxioVision (цветная цифровая камера MRc5). Методы исследования – светлое поле и дифференциально-интерференционный контраст (DIC) с применением метиленового синего красителя.

Подсчет численности клеток осуществляли в камере Нажотта объемом 0,02 мл и на пластинке в капле объемом 0,1 мл.

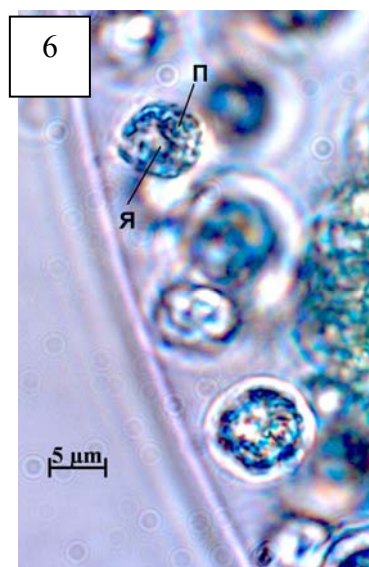
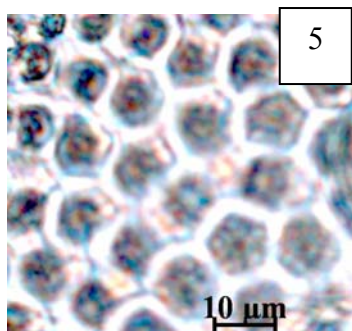
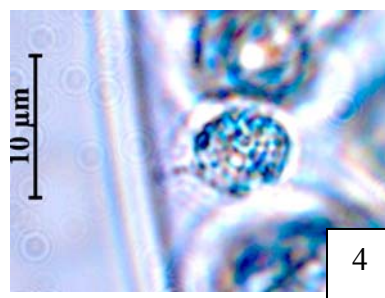
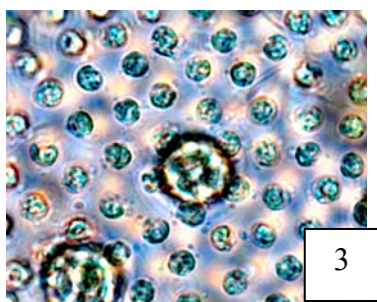
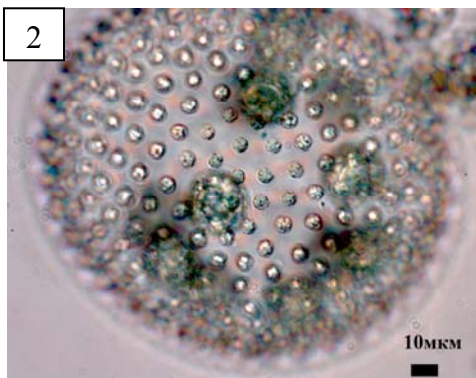
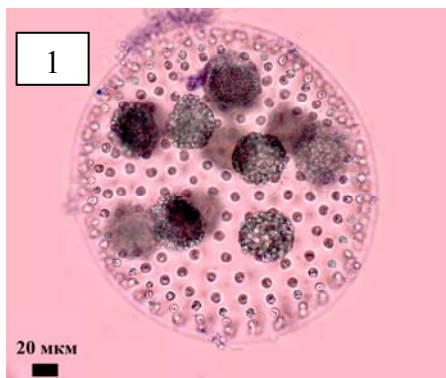
Ниже приведено описание локальной популяции *V. polychlamys* из Глебовского залива Киевского водохранилища.

Результаты и обсуждение

Ценобии широкоэллипсоидные до шаровидных и яйцевидных 75-275 мкм дл. (при среднем значении $145 \pm 29,4$), 63-251 мкм шир. (при среднем значении $125 \pm 28,5$) (рис. 1, 1, 2).

Число клеток в них не превышает 2000. Клетки сбоку яйцевидные, сверху круглые 5,9-8,9 мкм дл. (при среднем значении $7,0 \pm 0,26$), 5,2-7,3 мкм шир. (при среднем значении $6,3 \pm 0,1$) (рис. 1, 3, 4), не связанные плазмодесмами, расположенные в камерах диаметром 8-16 мкм (при среднем значении $11 \pm 0,5$), которые при рассмотрении сверху имеют полигональную форму, напоминающую пчелиные соты (рис. 1, 5).

Только в очень молодых ценобиях с тесно расположенными клетками иногда видны тонкие нитевидные плазмодесмы (Коршиков, 1939).



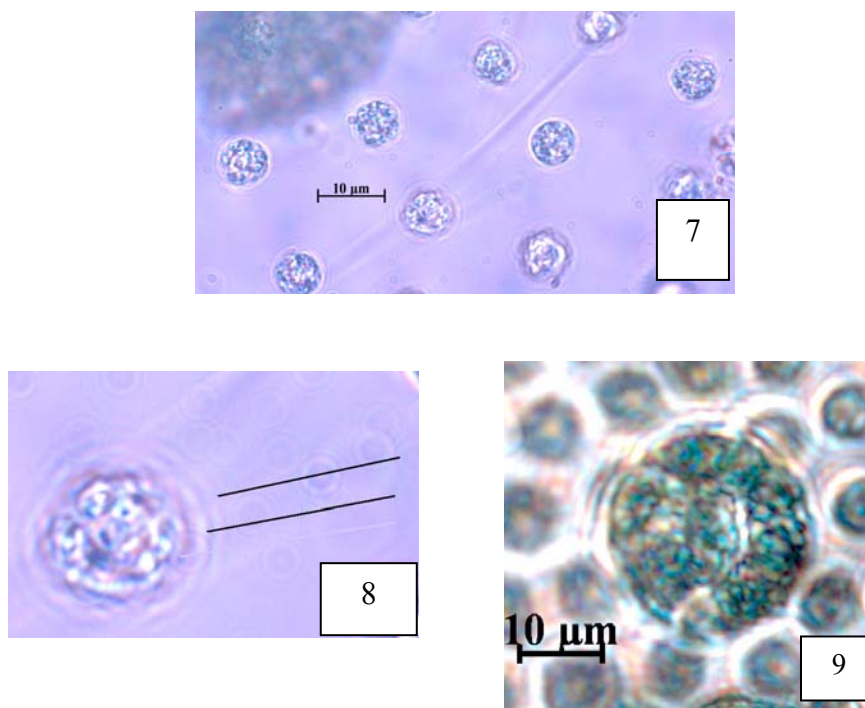


Рис. 1. 1, 2 – внешний вид ценобиев *Volvox polychlamys*; 3 – монадные клетки, вид с поверхности; 4 – отдельная клетка в ценобии, вид сбоку; 5 – полигональные камеры вокруг каждой клетки; 6 – положение ядра (я) и пиреноида (п) в клетках; 7, 8 – клетки окружены двумя оболочками; стенки камер не видны; 9 – эмбрион, окруженный оболочками

Хлоропласт перфорированный, с крупным базальным пиреноидом, слегка сдвинутым в боковое положение, что заметно лишь при рассмотрении клетки в определенном ракурсе. Ядро расположено на одном уровне или несколько выше пиреноида (рис. 1, б).

В препаратах, окрашенных слабым раствором метиленовой синьки, видно, что клетки окружены 2-3 оболочками, а внутренняя оболочка прилегает к протопласту (рис. 1, 7, 8).

Ценобии содержат небольшое количество (10-11) партеногонидий диаметром 16-26 мкм ($20 \pm 1,6$). Молодые эмбрионы окружены двумя оболочками (рис. 1, 9).

Численность *V. polychlamys* в пробе фитопланктона составила 1580 ценобиев на 1 литр, биомасса – 1,6 мг/л.

Место обитания. В болотах, карстовых озерах, заливах рек, пойменных водоемах, водохранилищах, лиманах, в зарослях погруженных высших водных растений.

Местонахождение. Глебовский залив Киевского водохранилища (правый берег), с. Глебовка Вышгородского р-на, Киевской обл.: при температуре воды 22 °С и жесткости 3,4; рН 8; перманганатная окисляемость 15,25 мг О/дм³, бихроматная окисляемость 32,00 мг О/дм³; концентрация: растворенный кислород О₂ – 4,70 мг О/дм³ (54,2%), NH₄⁺ – 0,397 мг N/дм³, NO₂⁻ – 0,000 мг N/дм³, NO₃⁻ – 0,039 мг N/дм³, PO₄³⁻ – 0,012 мг P/дм³; 16.08.2007.

Распространение: Украина, Россия, Беларусь, Словакия.

Обнаруженная нами популяция *V. polychlamys* из Киевского водохранилища довольно точно соответствует первоописанию этого вида (Коршиков, 1938, 1939). Но А.А. Коршиков наблюдал промежуточные оболочки только сбоку, сверху они не были видны (Коршиков, 1939). В нашем материале благодаря современной оптике они видны и сверху.

Дискуссия о самостоятельности *Volvox polychlamys*. А.А. Коршиков впервые нашел *V. polychlamys* в болоте в окрестностях Харькова (Украина) и на основании этих наблюдений привел его краткое описание и оригинальные штриховые рисунки (Коршиков, 1938). Впоследствии, в окрестностях Пустынской биологической станции Горьковского университета (Россия) он нашел его в значительном количестве в карстовых озерах и болотах, что позволило пополнить первые наблюдения и привести уже расширенное описание вида (Коршиков, 1939). Автор отметил большое сходство описанного им вида с *V. tertius* (1896). Оба вида имеют сравнительно небольшие размеры ценобиев (до 500 мм в диаметре), число клеток в них (до 2000), а также небольшое количество партеногонидий, андрогонидий и яйцеклеток, дифференцировка которых начинается рано в процессе развития эмбрионов. У обоих видов обнаружен половой диморфизм: карликовые мужские сфероиды почти вдвое меньше женских, продуцирующих яйцеклетки. Однако, если *V. tertius* является гетероталличным видом, то *V. polychlamys*, по мнению Коршикова (1939), нельзя считать гетероталличным, так как в одном и том же материнском ценобии наряду с яйцеклеткой могут развиваться мужские ценобии. Основные различия между этими видами сводятся к разному строению клеточных покровов.

У *V. polychlamys* клетки покрыты оболочкой, плотно прилегающей к протопласту, и находятся в замкнутых периферических камерах с плоским дном и куполообразным верхом, срастающихся боками со стенками соседних камер. Пространство между стенками камеры и оболочками заполнено жидкой слизью (Коршиков, 1939). В этом пространстве при удачной окраске и хорошем освещении можно наблюдать одну-две промежуточные оболочки.

У *V. tertius* отсутствуют отдельные оболочки, непосредственно прилегающие к протопластам клеток, а также промежуточные оболочки (Meuser, 1896). Согласно описанию и рисункам А. Мейера, каждый протопласт *V. tertius* окружен широкой, ослизненной изнутри кроющей мембраной, обнаруживающей при окраске метиленовой синькой слабо выраженную слоистость, причем число слоев

неопределенное, довольно значительное, во всяком случае, больше трех (Meyer, 1896).

Как показали наблюдения Коршикова (1939), вещество, заполняющее промежутки между оболочками *V. polychlamys*, представляет собой жидкую слизь, не воспринимающую каких-либо красок. Он отрицает толкование А. Мейера, согласно которому у *Volvox* протопласты окружены толстыми слизистыми оболочками, более плотные пограничные слои которых образуют стенки камер (Коршиков, 1939, с. 7).

В настоящее время с помощью электронного микроскопа установлено (Kirk et al., 1986; Kirk, 1998), что у *V. carteri* Stein – представителя секции *Merrillosphaera* (Shaw) Printz, к которой отнесен и *V. tertius*, каждая клетка ценобия окружена плотным фиброзным слоем, прилегающим к плазмалемме, и, кроме того, таким же плотным фиброзным слоем, образующим вокруг каждой клетки куполообразную замкнутую камеру, обращенную куполом наружу ценобия, а боковыми стенками срастающуюся с боковыми стенками камер соседних клеток. Пространство между этими двумя плотными фиброзными слоями у *V. carteri* заполнено бесструктурной слизью.

Таким образом, наблюдения А.А. Коршикова в световом микроскопе 50 лет спустя были подтверждены ЭМ исследованиями. Он предполагал, что соответствующий описанию А. Мейера *V. tertius* действительно существует, но он представляет собой отдельный самостоятельный вид, отличающийся от *V. polychlamys*.

Известный исследователь африканских и американских *Volvocales* М.А. Пококк не согласилась с мнением А.А. Коршикова. Она считала виды *Volvox*, описанные А. Мейером и А.А. Коршиковым, конспецифичными.

На основе микрофотографий, которые прислала М.А. Пококк, А.А. Коршиков пришел к выводу, что водоросль, найденная ею в Украине, тождественна описанному им виду (т.е., *V. polychlamys*). Прежние находки *V. tertius* в озерах вокруг Северо-Донецкой биостанции в окрестностях Харькова (Коршиков, 1938) он также считал сомнительными (Коршиков, 1939). На основании изучения материалов, собранных в Англии, Германии, Чехословакии, Польше, Украине и России, М.А. Пококк (Росок, 1938) приводит детальное описание структуры и жизненного цикла *V. tertius*. Однако это описание по некоторым признакам не совпадает с первоописанием А. Мейера (1896). Пококк М.А., в отличие от А. Мейера, кроме стенок камеры, обнаружила индивидуальную оболочку, прилегающую к протопласту клетки. Слоистость оболочек, которую А. Мейер (Meyer, 1896) считал характерной особенностью описанного им вида, М.А. Пококк не упоминает и на рисунках не показывает. В конце работы автор приводит "Characteristics of the British species of *Volvox*", где для *V. tertius* наличие индивидуальных оболочек, прилегающих к протопласту, не указано. Однако отмечена возможность пере-смотра классификации видов данной секции *Volvox* на основании изучения клеточных покровов.

Таким образом, в одной и той же статье М.А. Пококк (Pocock, 1938) приводит противоречащие друг другу описания одного и того же вида *V. tertius* sensu Pocock, ни одно из которых не соответствует ни первоописанию *V. tertius* Meyer (Meyer, 1896), ни диагнозу *Volvox polychlamys* (Коршиков, 1938, 1939). Возможно, в силу этих противоречий Х. Эттл в издании " Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 9", посвященном зеленым жгутиконосцам (Ettl, 1983), не учел точку зрения М.А. Пококк (1938) и, сохранив *V. tertius* и *V. polychlamys* как самостоятельные виды, привел их характеристики согласно диагнозам А. Мейера и А.А. Коршикова соответственно.

О важности отличительных признаков *V. polychlamys* и *V. tertius*. Особенности строения клеточных покровов *V. polychlamys*, отличающие его от *V. tertius*, могут иметь филогенетическую интерпретацию.

Согласно А.А. Коршикову, «все оболочки ... образуются не сразу, а в последовательном порядке. Раньше всего ... образуются самые наружные оболочки, составляющие стенки камер, и лишь позднее – промежуточные. Эти последние, конечно, вначале прилегают к протопласту, а позднее отходят от него, заменяясь новыми, которые или остаются плотно прилегающими к протопласту, или также отходят от него, оттесняя первую промежуточную оболочку» (Коршиков, 1939).

Подобный способ серийного продуцирования оболочек наблюдался также у некоторых одноклеточных фитомонад, например у видов *Vitreochlamys* Batko. Так, А.А. Коршиков (1938) отмечал, что *Chlamydomonas aulata* Pascher (= *Vitreochlamys aulata* (Pascher) Batko) способен легко переходить в пальмеллевидное состояние с образованием системы вставочных оболочек типа *Gloeocystis*. Э.Н. Демченко, кроме описанного А.А. Коршиковым пальмеллевидного состояния, наблюдал в культурах этого вида многочисленные подвижные клетки, каждая из которых окружена двумя оболочками: наружной, расплывающейся, и внутренней, с четко очерченными контурами (Масюк, Демченко, 2001).

Подобное строение клеточных покровов наблюдалось также в культурах *Chlamydomonas* sp.: перед началом деления клеток оболочка отходила от протопласта, который выделял новую оболочку, в то время как старая размягчалась, расширялась и постепенно ослизнялась (Масюк, Демченко, 2001). В этих же культурах присутствовали своеобразные подвижные «колонии» из 2-4 клеток, покрытых расширенной ослизняющейся наружной оболочкой материнской клетки, связанных плазмодесмами и/или мостиками, образованными внутренней клеточной оболочкой, и образовавшихся в результате незавершенной протопитотомии (рис. 2) (Масюк, Демченко, 2001).

Такие временные, случайно образующиеся при рассогласовании процессов митоза и цитокинеза «колонии» могут иллюстрировать возможный путь образования ценобиальных *Volvocales* в процессе эволюции одноклеточных фитомонад (ср. Kirk, 1998).

В настоящее время общепризнано, что род *Volvox* (L.) Ehr. (как и большинство других родов ценобиальных *Volvocales*) – гетерогенное полифилетическое образование, берущее начало от каких-то одноклеточных фитомонад (Nozaki et al., 1995; Kirk, 1998; Nozaki, 2003).

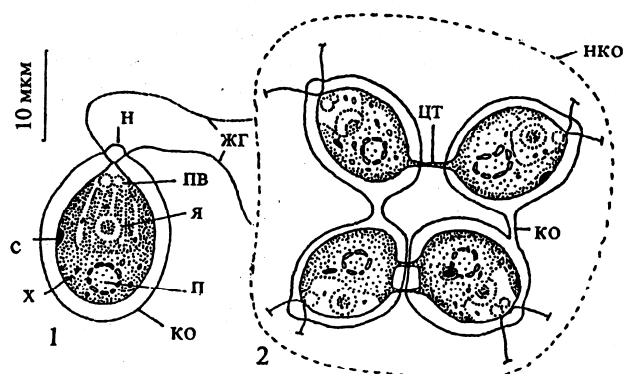


Рис. 2. Протоцитотомия у *Vitreochlamys aulata*: 1 – взрослая вегетативная клетка с отстающей от протопласта клеточной оболочкой (ко), папиллой (н), двумя жгутиками (жг), апикальными пульсирующими вакуолями (пв), рассеченным спереди хлоропластом (х), стигмой (с), пиреноидом (п) и ядром (я); 2 – четыре, не полностью разделившиеся дочерние клетки, соединенные мостиками клеточной оболочки (ко) или цитоплазматическими тяжами (цт), образовавшимися в результате двух последовательных делений способом протоцитотомии внутри расплывающейся наружной оболочки родительской клетки (нко) (по данным Масюк, Демченко, 2001)

В частности, одним из наиболее вероятных потомков тех гипотетических одноклеточных фитомонад – предшественников ценобиальных *Volvocales*, считают *Chlamydomonas reinhardtii* Dang., обнаруживающего сходство с *V. carteri* Stein (Kirk, 1998). Судя по сходству клеточных покровов, такими предшественниками *V. polychlamys* могли быть одноклеточные фитомонады, близкие современным видам *Vitreochlamys*.

Заключение

Вопрос о таксономическом значении признаков, отличающих *V. polychlamys* от *V. tertius*, все еще остается открытым. Поэтому актуальной задачей, по нашему мнению, является выделение в культуру штаммов *V. polychlamys*, представляющих, в первую очередь, локальные украинские популяции данного вида. Дальнейший сравнительный анализ штаммов *V. tertius* и *V. polychlamys* на

основе фенотипных и молекулярно-генетических подходов позволит решить вопрос о самостоятельности данных видов и будет способствовать более глубокому пониманию путей эволюции как зеленых жгутиконосцев, так и базальной части *Chlorophyceae* в целом.

Благодарности

Авторы выражают искреннюю благодарность В. Палубку (морская лаборатория, центр экотоксикологии, г. Сарасота, Флорида, США) за помощь в предоставлении литературных источников.

N.P. Massjuk¹, L.P. Yarmoshenko²

¹N.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,
2, Tereshchenkovskaya St., 01601 Kiev, Ukraine

²Institute of Hydrobiology, National Academy of Sciences of Ukraine,
12, Prosp. Geroev Stalingrada, 04210 Kiev, Ukraine

NEW FIND IN UKRAINE SPECIES *VOLVOX POLYCHLAMYS* KORSCH.
(*VOLVOCALES*, *CHLOROPHYTA*, *VIRIDIPLANTAE*)

For the first time original microphotos of disputable species *Volvox polychlamys* Korsch., as well as ecological data and the description of a local population of this species from the Kiev reservoir are presented. A similarity of a structure of cell covers of *V. polychlamys* and unicellular phytomonads from genus *Vitreochlamys* Batko is noted, the possibility of their relations are discussed.

Key words: *Volvox polychlamys*, *V. tertius*, *Vitreochlamys*, *Chlamydomonadales*, Kiev reservoir.

Владимирова К.С., Данилова Л.Е. Водоросли Дуная, заливов Килийской дельты и придунайских водоемов в пределах СССР // Докл. X юбил. конф. по вопр. лимнологии Дуная (Болгария, 10-20 окт. 1968 г.). София: Изд-во Болг. АН, 1968. – С. 141-168.

Иванов А.И. Фитопланктон устьевых областей рек Северо-Западного Причерноморья. – Киев: Наук. думка, 1982. – 212 с.

Коршиков О.А. *Volvocinae* // Визначник прісноводних водоростей УРСР. Т. 4. – К.: Вид-во АН УРСР, 1938. – 184 с.

Коршиков А.А. *Volvox polychlamys* sp. n. // Бюл. Моск. об-ва испыт. природы. Отд. биол. – 1939. – 48, вып. 1. – С. 5-12.

Костикова Л.Е., Литвинова М.В., Скорик Л.В. Систематический список водорослей Днепра и водохранилищ днепровского каскада // Растительность и бактериальное население Днепра и его водохранилищ. – Киев: Наук. думка, 1989. – С. 129-185.

- Масюк Н.П., Демченко Э.Н. Новый тип деления клеток у хламидомонадовых водорослей (*Chlamydomonadaceae, Chlorophyta*) // Альгология. – 2001. – **11**, № 3. – С. 298-308.
- Матвиенко А.М. Водоросли Моховатого болота из окрестностей Харькова // Тр. НИИ биологии Харьк. ун-та. – 1950. – **13**. – С. 159-195.
- Михайлюк Т.І. Водорості Канівського природного заповідника: Дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2000. – 486 с.
- Радзимовский Д.О., Полищук В.В. Планктон р. Прип'яті. – К.: Наук. думка, 1970. – 212 с.
- Харченко Т.А., Тимченко В.М., Иванов А.И. и др. Биопродуктивность и качество воды Сасыкского водохранилища в условиях его опреснения. – Киев: Наук. думка, 1990. – 276 с.
- Ettl H. *Chlorophyta I. Phytomonadina* // Süßwasserflora von Mitteleuropa. Bd. 9. – Jena: Fischer, 1983. – 807 S.
- Herron M.D., Hackett J.D., Aylward F.O., Michod R.E. Triassic origin and early radiation of multicellular volvocine algae // Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. – 2009. – **106**, N 9. – P. 3254-3258.
- Kirk D.L., Birchem R., King N. The extracellular matrix of *Volvox*: a comparative study and proposed system of nomenclature // J. Cell Sci. – 1986. – **80**. – P. 207-231.
- Kirk D.L. *Volvox*. Molecular-genetic origins of Multicellularity and cellular differentiation. – Cambridge: Univ. Press, 1998. – 381 p.
- Liss M., Kirk D.L., Beyser K., Fabry S. Intron sequences provide a tool for high-resolution phylogenetic analysis of volvocine algae // Curr. Genet. – 1997. – **31**, N 3. – P. 214-227.
- Mai J.C., Coleman A.W. The internal transcribed spacer 2 exhibits a common secondary structure in green algae and flowering plants // J. Mol. Evol. – 1997. – **44**, N 3. – P. 258-271.
- Meyer A. Die Plasmaverbindungen und die Membranen von *Volvox globator*, *aureus*, und *tertius*, mit Rücksicht auf die thierischen Zellen // Bot. Zeitg. – 1896. – **53**. – S. 187-217.
- Nozaki H., Itoh M., Sano R. et al. Phylogenetic relationships within the colonial *Volvocales* (*Chlorophyta*) inferred from *rbcL* gene sequence data // J. Phycol. – 1995. – **31**. – P. 970-979.
- Nozaki H., Takahara M., Nakazawa A. et al. Evolution of *rbcL* group IA introns and intron open reading frames within the colonial *Volvocales* (*Chlorophyceae*) // Mol. Phylogen. Evol. – 2002. – **23**, N 3. – P. 326-338.
- Nozaki H. Origin and evolution of the genera *Pleodorina* and *Volvox* (*Volvocales*) // Proc. 4th Intern. Symp. "Biology and Taxonomy of Green Algae" (Smolenice, Slovakia, June 24-28, 2002) // Biologia, Sect. Bot. – 2003. – **58**, N 4. – P. 425-431.
- Pocock M.A. 1938. *Volvox tertius* Meyer. With notes on the two other British species of *Volvox* // J. Quek. Microsc. Club. 4th Ser. – 1938. – **1**. – P. 33-58.
- Smith G.M. A compative study of the species of *Volvox* // Trans. Amer. Microsc. Soc. – 1944. – N 4. – P. 265-310.

Получена 25.02.09

Рекомендовал к печати И.Ю. Костиков