

УДК 582.26

Э.Н. ДЕМЧЕНКО¹, Т.И. МИХАЙЛЮК²¹Киевский национальный ун-т им. Тараса Шевченко,
каф. ботаники, ул. Владимирская, 64, 01001 Киев, Украина²Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины,
ул. Терещенковская, 2, 01001 Киев, Украина

ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВОГО ПРОЦЕССА У НЕКОТОРЫХ НОВЫХ ДЛЯ ФЛОРЫ УКРАИНЫ И РЕДКИХ ВИДОВ *VOLVOCALES (CHLOROPHYTA)*

Приведены результаты исследования полового процесса и жизненных циклов двух новых для флоры Украины и двух редких видов зеленых жгутиковых водорослей. Половой процесс впервые указан для *Chlamydomonas sphagnicola* (F.E. Fritsch) F.E. Fritsch et Takeda. Уточнены детали строения отдельных стадий жизненного цикла и протекания полового процесса у *Ch. suboogama* Tscherm.-Woess, *Ch. coccifera* Gorozh. и *Oogamochlamys gigantea* (O. Dill) Pröschold et al. Обобщены и дополнены данные о морфологии, экологии, географическом распространении этих видов, приведены оригинальные рисунки и микрофотографии. Рассматриваются материалы, касающиеся таксономии исследованных видов в свете особенностей их полового процесса, а также данных молекулярной филогенетики.

Ключевые слова: половой процесс, зеленые водоросли, *Chlamydomonas*, *Oogamochlamys*, *Volvocales*, новые для флоры Украины виды, редкие виды, таксономическое значение признаков.

Введение

На современном этапе развития альгологии, когда происходит значительное переосмысление положения в системе и объема многих таксонов, особое значение должно уделяться детальному изучению особенностей протекания жизненных циклов отдельных их представителей. Часто классические морфологические признаки водорослей вступают в противоречие с молекулярно-филогенетическими данными. В связи с этим возникает необходимость переосмысления таксономического значения используемых морфологических признаков и поиска новых признаков, ранее неизвестных для данных водорослей или считавшихся незначительными.

Тип жизненного цикла, детали протекания и особенности отдельных его стадий являются генетически обусловленными признаками, изучение которых может дать богатый материал для обоснования филогенетических построений и дальнейшей идентификации таксонов. В то же время, особенности жизненных циклов изучены далеко не у всех водорослей. Так, для водорослей порядка *Volvocales (Chlorophyceae, Chlorophyta)* характерен половой процесс, который на сегодняшний день выявлен не у всех его представителей. Для многих видов недостаточно изучены от-

© Э.Н. Демченко, Т.И. Михайлюк, 2012

ISSN 0868-8540 Альгология. 2012. Т. 22. № 1

дельные его стадии и особенности. Первая попытка таксономической ревизии полифилетического рода *Chlamydomonas* Ehrenb. показала, что именно тип и особенности протекания полового процесса являются ключевыми признаками для обоснования групп видов, выделенных на основе молекулярно-филогенетических методов и описанных как два отдельных рода – *Lobochlamys* Pröschold et al. и *Oogamochlamys* Pröschold et al. (Pröschold et al., 2001).

Уточнения и доработки требует также понятийный аппарат, касающийся классификации типов полового процесса, т.к. в литературе имеются достаточно противоречивые трактовки типов, по-разному понимаются взаимосвязи отдельных типов и переходные формы между ними (Масюк, 2010; Pascher, 1927, 1943; Skuja, 1949; Ettl, 1976, 1983). Это часто приводит к неоднозначным и противоречивым трактовкам одинаковых или близких процессов, что в дальнейшем ведет к искусственному увеличению разногласий и конфликтов между данными морфологии и филогении.

Целью нашего исследования было изучение особенностей протекания полового процесса у нескольких редких и новых для флоры Украины видов *Volvocales* для дальнейшего использования их в таксономии.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили пробы, отобранные из толщи воды и дна стоячих водоемов в разные сезоны 1999-2003 гг.: г. Киев (Голосеевский р-н), с. Сыгнавка (Черкасская обл., Шполянский р-н), г. Зноб-Новгородское (Черниговская обл.). Камеральную обработку материала проводили в живом и фиксированном (4 %-ным раствором формальдегида) состоянии, при помощи светового микроскопа Биолам Р-14 (объективы 20^x, 40^x, 90^x). Микрофотографии изготовлены с использованием тринокулярных микроскопов МБИ-6 и ХSP-XY. Пробы сохраняли на окне северной экспозиции. Отдельные представители были выделены в альгологически чистые культуры, которые около 1 года поддерживались на агаризованной и жидкой среде Болда – 1N BBM (Bischoff, Bold, 1963).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований изучены особенности протекания полового процесса у двух новых для флоры Украины видов – *Chlamydomonas coccifera* Gorozh. и *Ch. suboogama* Tscherm.-Woess, а также у редких водорослей – *Ch. sphagnicola* и *Oogamochlamys gigantea*. Ниже приводим описание полового процесса, строение отдельных стадий жизненного цикла, морфологических признаков исследованных популяций водорослей, их экологическую характеристику, распространение в Украине и в мире, а также микрофотографии и оригинальные рисунки

этих таксонов¹. Далее обсуждаются некоторые вопросы, касающиеся таксономии исследованных видов в связи с особенностями их полового процесса в свете новых молекулярно-филогенетических данных.

Chlamydomonas coccifera Gorozh. (рис. 1)

Клетки широкоэллипсоидные до яйцевидных, (16)22–24(27)х(13)19–23(27) мкм. Оболочка плотная, образует четко очерченный, округло-притупленный носик. Длина жгутиков равна длине клетки. Хлоропласт чашевидный, без базального утолщения. Пиреноидов несколько: массивные, округлые, эллипсоидные до неправильных, окружены многими крахмальными гранулами, поэтому кажутся поперечно исчерченными. Стигма удлинненно-штриховидная, расположена в средней части клетки или немного смещена вперед. Ядро центральное. В передней части клетки две пульсирующие вакуоли.

Бесполое размножение происходило путем образования 4–8 зооспор. При изучении природного материала, который хранился на окне северной экспозиции, был отмечен половой процесс, отнесенный нами к оогониогамии. Женские гаметы крупные, округлые или широкоэллипсоидные (диам. 24–27 мкм), при их образовании вегетативная клетка слегка увеличивается, округляется и теряет жгутики. Одна вегетативная клетка дает начало одной женской гамете. Мужские гаметы мелкие (11–13х5–7 мкм), яйцевидные, окружены оболочкой, образующей на переднем конце небольшой округлый носик, с двумя жгутиками, которые в два раза больше длины клетки, образуются в гаметангиях по 16. Оплодотворение женской гаметы происходит непосредственно в женском гаметангии. При этом мужская гамета прикрепляется к женскому гаметангию носиком в любой его точке, растворяет оболочку, после чего ее содержимое перетекает в женскую гамету. Пустые оболочки мужских гамет еще какое-то время прикреплены к оболочке молодой зиготы. В результате полового процесса формируется крупная округлая зигота (диам. 25–30 мкм), окруженная многослойной гладкой оболочкой (толщ. до 5 мкм).

Местонахождение. Канал с бетонированным дном на территории Экспоцентра Украины (Киев, Голосеевский р-н), выжимка из высших растений, март 1999 г.

Распространение. Пруд в Ботаническом саду (Москва, Россия), его разновидность – *Chlamydomonas coccifera* var. *mesopyrenigera* Skuja (отличается от типовой преимущественной локализацией пиреноидов в средней части клетки), из подобного локалитета (Рига, Латвия) (Goroschankin, 1905; Skuja, 1949). На территории Украины выявлен впервые.

Примечание. В целом, популяция полностью соответствует диагнозу типовой разновидности (Goroschankin, 1905; Pascher, 1927; Ettl,

¹Частично эти материалы были опубликованы в предыдущих наших работах (Демченко, 2001; Демченко, 2011).

1983). Очевидно, это редкий вид, приуроченный к холодным сезонам года. Наблюдаемое нами протекание полового процесса совпадает с уже описанным (Goroschankin, 1905), за исключением того, что слияние мужской и женской гамет происходит в любой точке последней (что характерно для *Chlamydomonas coccifera* var. *mesopyrenigera*), а не со стороны переднего конца, как указано в диагнозе (Pascher, 1927; Ettl, 1983). Поскольку признаки вегетативных клеток обнаруженной популяции соответствуют типовой разновидности, вероятно, границы обоих разновидностей не настолько четкие, как предполагалось ранее.

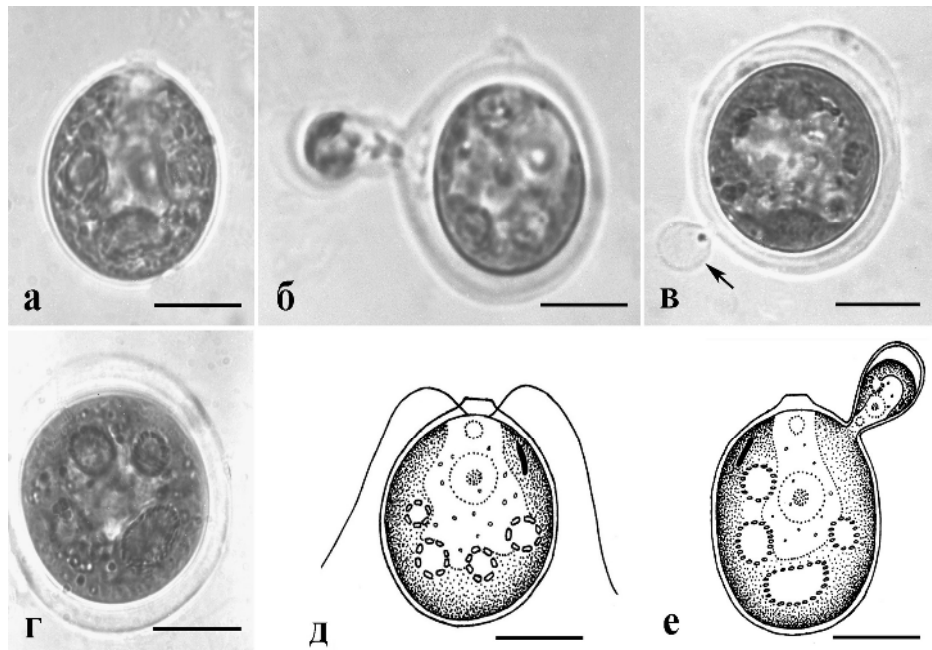


Рис. 1. *Chlamydomonas coccifera*: а, д – вегетативные клетки; б, е – процесс копуляции; в, з – молодые зиготы (в – с прикрепленной пустой оболочкой микрогаметангия (стрелка). Шкала 10 мкм

Chlamydomonas sphagnicola (F.E. Fritsch) F.E. Fritsch et Takeda (рис. 2)

Вегетативные клетки широкоэллипсоидные, почти шаровидные (18,0–20,4x15,6–19,1 мкм). Оболочка плотная, достаточно толстая (до 1,2–2,5 мкм), образует четко очерченный седловидный носик. Жгутики несколько длиннее клетки. Хлоропласт чашевидный, без базального утолщения. Пиреноидов несколько (2–4 или больше), они беспорядочно расположены в хлоропласте, массивные, как правило, округлые до слегка вытянутых, окружены многочисленными крахмальными гранулами. Стигма крупная, эллипсоидная до палочковидной, в передне-среднем положении. Ядро центральное. В передней части клетки две пульсирующие вакуоли.

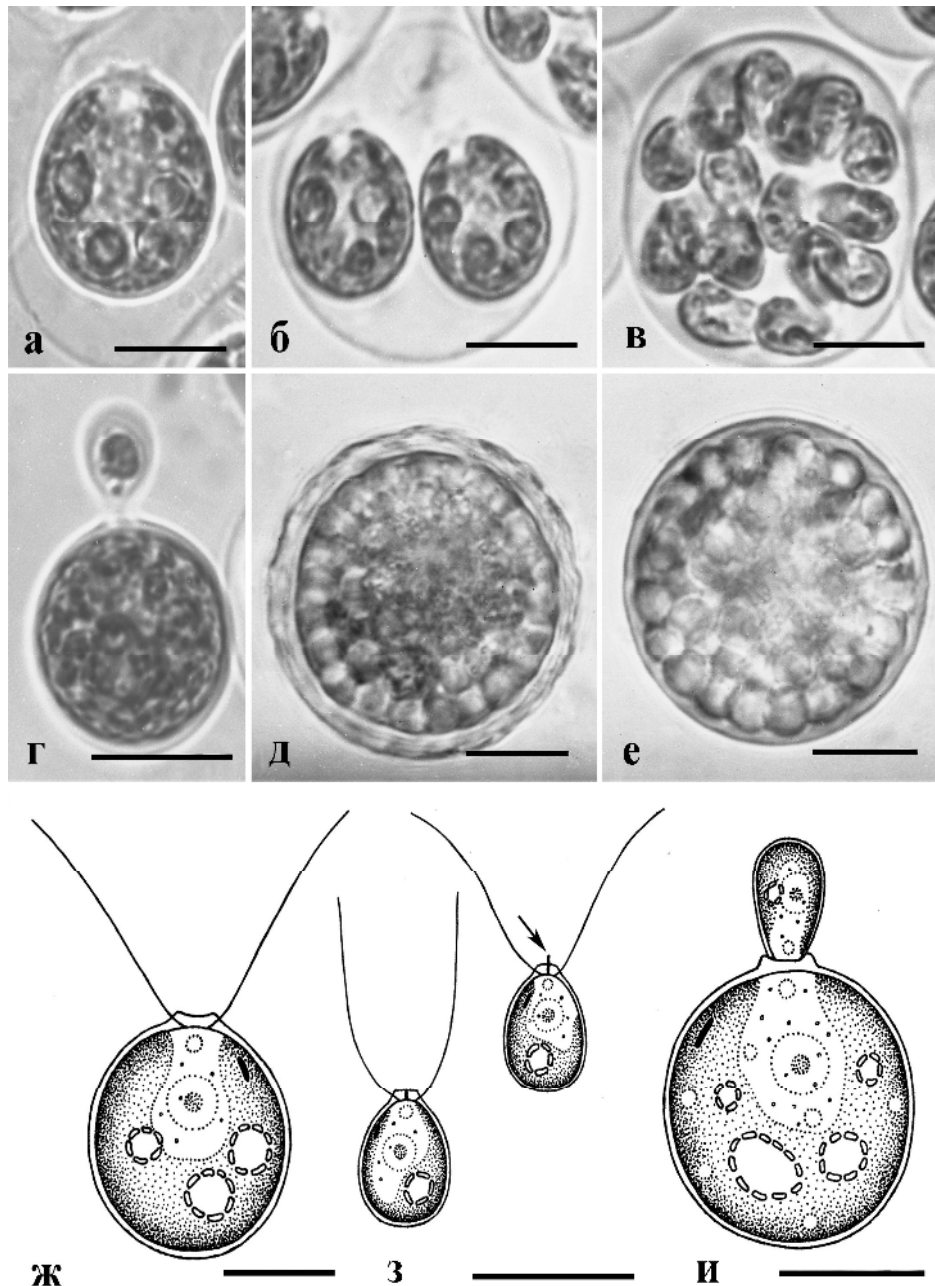


Рис. 2. *Chlamydomonas sphagnicola*: а, ж – вегетативные клетки; б – зооспорангий с двумя зооспорами; в – микрогаметангий; г, и – процесс копуляции; д, е – зрелые зиготы с морщинистой (д) и гладкой (е) оболочкой; з – микрогаметы (стрелкой отмечен копуляционный хоботок). Шкала 10 мкм

Бесполое размножение происходило путем образования 2–4 зооспор, что ранее было известно для данного вида (Ettl, 1983). При наблюдении культуры на жидкой питательной среде отмечен половой процесс,

отнесенный нами к оогониогамии. Женские гаметы крупные, округлые (диам. 16,8–19,2 мкм), образуются по одной в вегетативной клетке путем ее округления и утраты жгутиков. При этом крупный седловидный носик, характерный для вегетативных клеток, остается заметным. Мужские гаметы мелкие (7,2–7,8x5–6 мкм), яйцевидные, окружены оболочкой, образующей на переднем конце широкий килевидный носик, с двумя жгутиками, которые в два раза больше длины клетки, образуются в гаметангиях по 8–16. Перед началом копуляции в мужских гаметах появляются небольшие копуляционные хоботки, которые просовываются через отверстие в носике. Мужские гаметы прикрепляются к женским носиком с копуляционным хоботком в районе между горбиками ее седловидного носика, растворяют оболочку, после чего часть их содержимого перетекает в женскую гамету. При этом хлоропласт мужской гаметы не перетекает, а остается внутри гаметы и со временем отмирает. На первых этапах процесса копуляции в женской гамете образуется большое количество пульсирующих вакуолей, беспорядочно расположенных по периферии клетки, которые исчезают после окончания процесса копуляции. Вероятно, вследствие их «работы» повышается осмотическое давление внутри макрогаметы, из-за чего возникает всасывающая сила, за счет которой содержимое микрогаметы втекает в макрогамету. В результате полового процесса формируется крупная округлая зигота (диам. 22,8–34,8 мкм), которая имеет слоистую оболочку (толщ. до 2,4 мкм), верхний слой ее гофрированный. Иногда он может быть утрачен, вследствие чего зигота имеет гладкую слоистую оболочку. Зрелые зиготы содержат капли масла желтоватого цвета, локализованные по периферии клетки.

Местонахождение. с. Сыгнавка (Черкасская обл., Шполянский р-н), пруд, выжимка из высших растений, февраль 2001 г.

Распространение. В эвтрофных и дистрофных водоемах, болотах, в России, США и Великобритании (Ettl, 1983; Pentecost, 2002). На территории Украины отмечался два раза, в сфагновых болотах, особенно часто весной и осенью (Коршіков, 1938; Матвиенко, 1950).

Примечание. В целом, популяция полностью соответствует диагнозу этого вида (Pascher, 1927; Коршіков, 1938; Дедусенко-Щеголева и др., 1959; Ettl, 1983). Очевидно, это редко встречаемый вид, приуроченный к холодным сезонам года. Половой процесс у него ранее не был отмечен.

Oogamochlamys gigantea (O. Dill.) Pröschold et al. (рис. 3)

Клетки широкоэллипсоидные до эллипсоидно-цилиндрических и обратнойяйцевидных (24,3–27,0x18,9–20,2 мкм). Оболочка тонкая, образует четкий полукруглый носик. Длина жгутиков приблизительно равна длине клетки. Хлоропласт чашевидный, с поверхности — продольно-ребристый. Много (8–11) округлых пиреноидов, расположенных беспорядочно по хлоропласту, окруженных несколькими крахмальными гранаулами. Стигма удлинненно-эллипсоидная, находится в передней части

клетки или сдвинута к середине. В передней части клетки две пульсирующие вакуоли и много — по всему протопласту. Ядро центральное или смещено к задней части клетки.

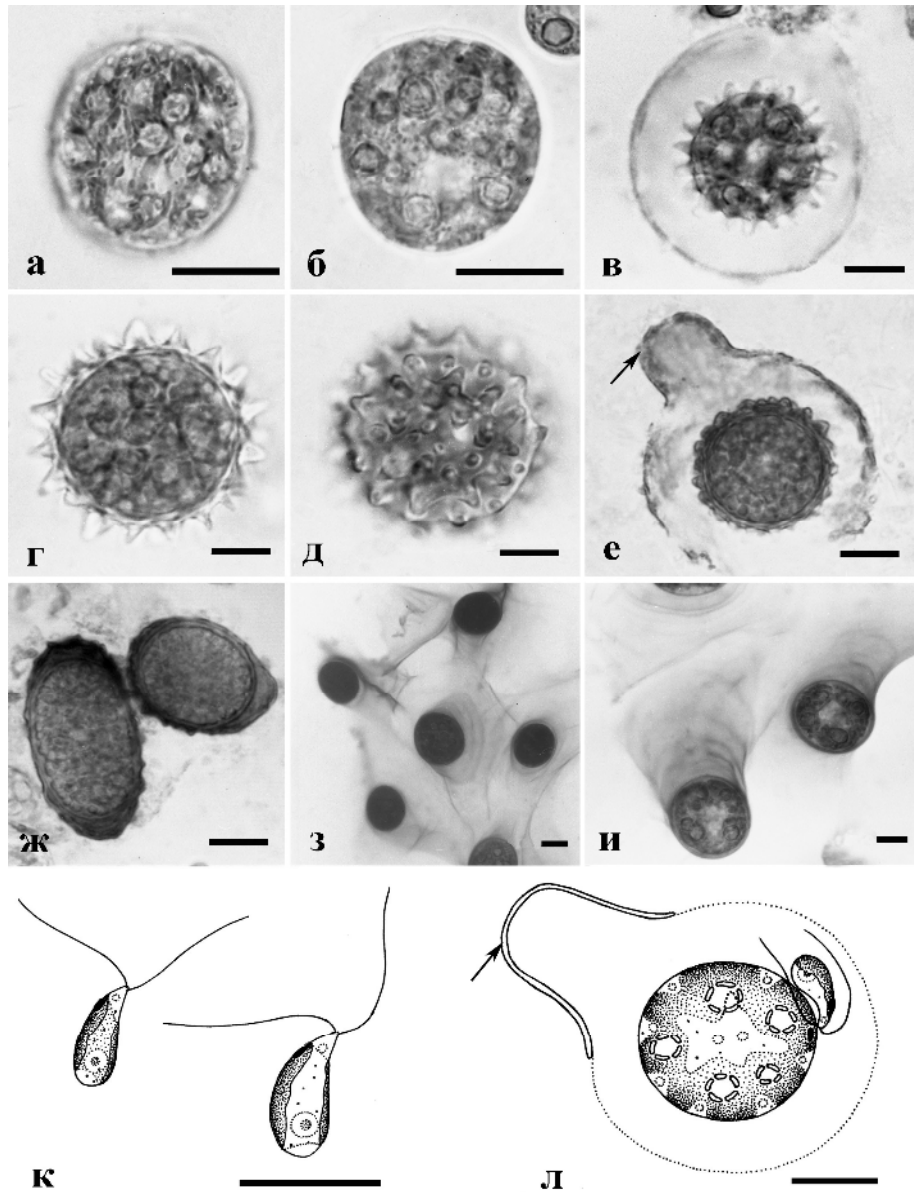


Рис. 3. *Oogamochlamys gigantea*: а, б — вегетативные клетки с поверхности (а) и в оптическом сечении (б); в-ж — зрелые зиготы (с прозрачной (в) и инкрустированной (е) слизистой капсулой, вид зиготы в оптическом сечении (г) и с поверхности (д), зиготы эллипсоидной формы (ж); з, и — пальмеллевидное состояние (общий вид (з) и детали структуры слизи (и); к — микрогаметы; л — процесс копуляции в слизистой капсуле, выделяемой макрогаметой. Стрелкой указан остаток оболочки макрогаметангия. Шкала 10 мкм

Бесполое размножение происходило путем образования 2–4 зооспор, половой процесс был отнесен нами к оогамии. Женские гаметы крупные, округлые (диам. 20–30 мкм), при их образовании вегетативная клетка выходит из оболочки, теряет жгутики, увеличивается, округляется и окружается слизистой капсулой. Одна вегетативная клетка дает начало одной женской гамете. Мужские гаметы мелкие (8,1–9,6x5,4–6,0 мкм), ассиметрично-капельвидные, без оболочки, с двумя жгутиками, которые в полтора раза больше длины клетки, с корытообразным хлоропластом желтоватого оттенка, удлинненно-эллипсоидной стигмой, двумя апикальными пульсирующими вакуолями и задним ядром. Они образуются в гаметангиях в больших количествах – по 32–64. При оплодотворении мужская гамета проникает через слизистую капсулу и прикрепляется к женской гамете, сливаясь с ней. В результате полового процесса формируется крупная округлая зигота (диам. 22,8–34,8 мкм), включенная в слизистую капсулу, происходящую от капсулы, выделяемой женской гаметой. Зрелая зигота имеет очень толстую слоистую оболочку, на внешних слоях которой видны многочисленные конусовидные выросты. Внутреннее содержимое зрелой зиготы становится оранжево-бурым, с многочисленными включениями, которые дают реакцию на крахмал. При этом зрелая зигота включена в расширенную слизистую капсулу (диам. 40–50 мкм), часто инкрустированную солями железа. Также (в культуре на агаризованной среде) наблюдали пальмеллеподобное состояние, когда клетки выделяли обильную слоистую слизь, в которой располагались на значительном расстоянии друг от друга, часто на слоистых слизистых «ножках» наподобие *Normotilopsis*-образной колонии.

Местонахождение. Хлопья и пенная пленка на поверхности загрязненной лужи (Киев, Голосеевский р-н), 2003 г. Позднее неоднократно был зафиксирован в пробах «цветения» воды в разных районах Киева (Демченко, 2011).

Распространение. Описан (как *Chlamydomonas gigantea* O. Dill) из водоема в Базеле (Швейцария), позднее отмечен в Дании, Венгрии, США, Австрии, Чехии и ЮАР (Pascher, 1927; Ettl, 1983). Согласно работе Т. Прөшольда с соавт. (Pröschold et al., 2001), вместе с рядом морфологически и генетически подобных видов (*Ch. pseudogigantea* Korshikov, *Ch. capensis* Росcock, *Ch. megalis* В. Bisch. et Н.С. Bold) отнесен к новому роду *Oogamochlamys* Pröschold et al. На территории Украины выявлен как *Ch. pseudogigantea* А.А. Коршиковым только в окрестностях Харькова – в сфагновых болотах, лужах и почве (Коршиков, 1938; Дедусенко-Щеголева и др., 1959; Масюк, Лилицкая, 2000), позднее – в дождевой луже в Киеве (Лилицкая, 2004).

Примечание. В целом популяция полностью соответствует диагнозу вида (Pascher, 1927; Коршиков, 1938). Хотя А.А. Коршиков указывает его как редкий вид для территории Украины (Коршиков, 1938), нами он неоднократно был выявлен в эфемерных водоемах, хотя массово не развивался никогда (Демченко, 2011). Наблюдаемое нами протекание полового процесса в целом совпадает с уже описанным

(Коршіков, 1938; Geitler, 1954; Pröschold et al., 2001). Однако авторами не указывается факт сохранения слизистой капсулы вокруг зиготы, выделяемой яйцеклеткой перед оплодотворением. Во всех наших наблюдениях зигота, помимо толстой оболочки с крупными конусообразными выростами, была окружена мощной слизистой капсулой, которая довольно часто со временем инкрустировалась солями железа и приобретала бурый оттенок. Наблюдались также отдельные случаи растворения слизистой капсулы, отслоение и сбрасывание внешних слоев оболочки зиготы и нетипичная эллипсоидная форма зигот. Пальмеллевидное состояние для данного вида указывается впервые.

Chlamydomonas suboogama Tscherm.-Woess (рис. 4)

Вегетативные клетки широкоэллипсоидные до эллипсоидно-цилиндрических (18,0-21,6x13,2-16,8 мкм). Оболочка средней толщины, спереди образует небольшой полукруглый носик. Длина жгутиков несколько больше длины клетки. Хлоропласт чашевидный, с массивной базальной частью. С поверхности он разделен на многочисленные продольные, узкие ребра. Пиреноид один, базальный, округлый до широкоэллипсоидного, окружен несколькими крупными крахмальными гранулами. Стигма крупная, эллипсоидная, в передне-среднем положении. Ядро центральное. В передней части клетки две пульсирующие вakuоли.

В условиях культуры (на агаризованной среде) наблюдали бесполое размножение путем образования 2–4 зооспор. Отмечен также половой процесс, охарактеризованный нами как субоогамия. Женские и мужские гаметангии образуются из одной вегетативной клетки и при ее делении, когда одна из дочерних клеток становится макрогаметангием, а вторая – микрогаметангием. Женские гаметы по размерам соответствуют вегетативным клеткам, округлые (диам. 12,0–18,4 мкм), образуются по одной в гаметангии, имеют жгутики, лишены оболочек. Мужские гаметы образуются в гаметангиях по 8–16, мелкие (7,2–8,4x3,6–4,2 мкм), голые, округлые до яйцевидных, каплевидных или с оттянутым задним концом, с двумя жгутиками, которые в два раза больше длины клетки. Слияние гамет происходит в слизистой капсуле, выделяемой женской гаметой. Мужская гамета прикрепляется к женской своим передним концом в любой ее точке, постепенно сливаясь с ней. При полном слиянии гамет молодая зигота теряет жгутики, принадлежащие макрогамете, но какое-то время сохраняет жгутики, приобретенные от микрогаметы. Зрелая зигота крупная (диам. 15,6–18,0 мкм), округлая, с толстой оболочкой, состоящей из нескольких слоев (шир. 1,5–2,0 мкм), находится внутри капсулы, плотно прилегающей или отстоящей на некотором расстоянии от зиготы. Капсула богато инкрустирована красновато-коричневыми гранулами, имеет иррегулярно-зернистый рисунок с поверхности. Для данного вида наблюдали также (в культуре на агаризованной среде) пальмеллевидное состояние. При этом клетки выделяли обильную, мягкую, легко расплывающуюся глеоцистоидную слизь.

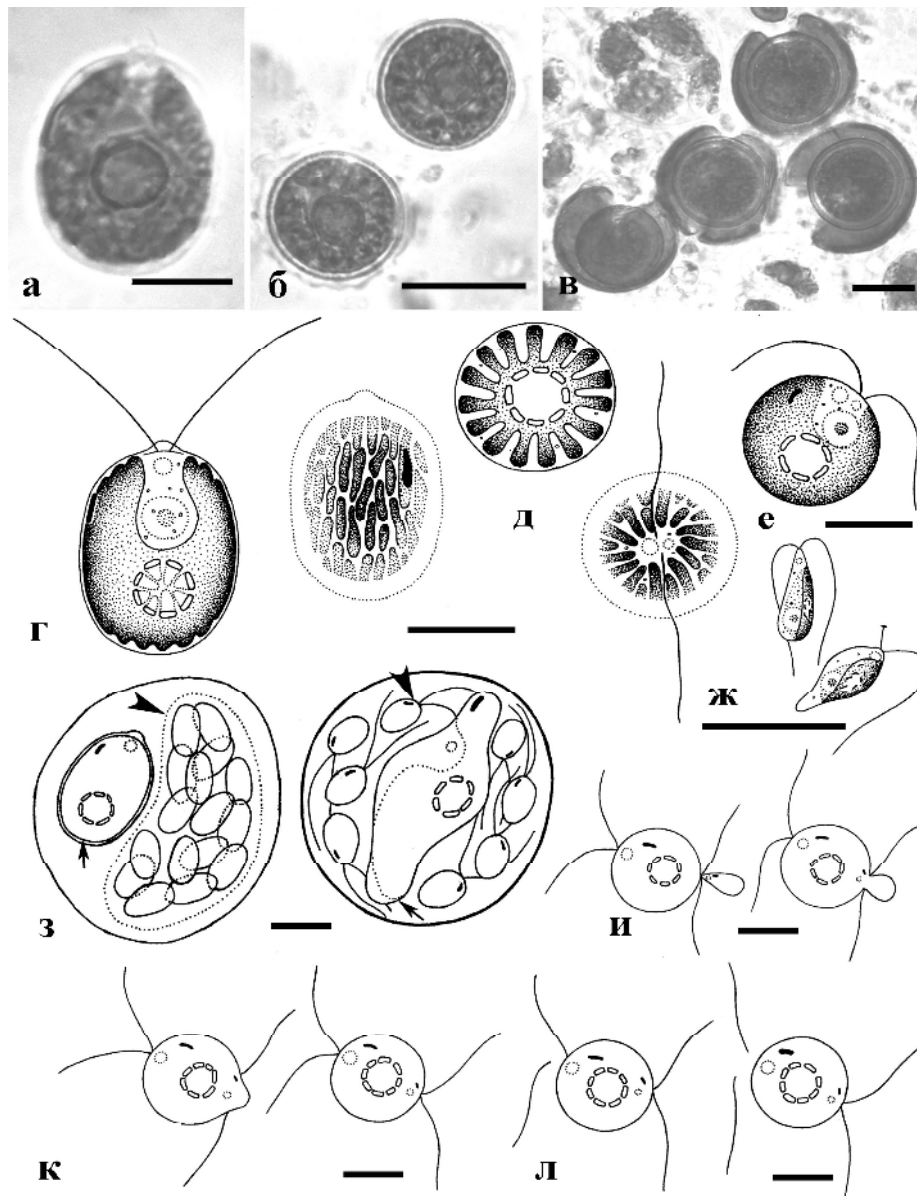


Рис. 4. *Chlamydomonas suboogama*: а, г (слева) – общий вид вегетативных клеток, г (справа) – вид с поверхности; д (вверху) – вид со стороны папиллы в сечении, д (внизу) – вид со стороны папиллы с поверхности; б – молодые зиготы; в – зрелые зиготы, включенные в бурые капсулы (трещины капсул вызваны надавливанием покровного стекла на препарат); е – макрогамета; ж – микрогаметы; з – гаметангии (слева – макро- (стрелка) и микрогаметангий (головка стрелки), образовавшиеся из одной клетки; справа – выход макрогаметы (стрелка) и микрогамет (головка стрелки) в пределах общей оболочки гаметангия; и-л) последовательные стадии копуляции. Шкала 10 мкм

Местонахождение. Позеленение песка на дне возле берега р. Десенка, окрестности г. Зноб-Новгородское (Черниговская обл.), август 2001 г.

Распространение. Пруд с бетонированным дном, в Ботаническом саду Вены (Австрия) (Tschermak-Woess, 1962; Ettl, 1976). На территории Украины выявлен впервые.

Примечание. Популяция в целом соответствует диагнозу этого вида (Tschermak-Woess, 1962; Ettl, 1976). Отличия наблюдались в меньшем количестве гаметангиев, происходящих из одной вегетативной клетки (известно о возникновении трех макрогаметангиев и одного микрогаметангия (Ettl, 1976)), в большем количестве микрогамет в одном микрогаметангии (в описании – 4, реже 8 (Ettl, 1976), а также в том, что микрогаметы изначально лишены оболочек (в описании указано, что они покрыты оболочкой, которая сбрасывается перед копуляцией (Tschermak-Woess, 1962). Половой процесс в деталях описан ранее (Tschermak-Woess, 1959: цит. по Ettl, 1976) и отнесен к гетерогамии и ее разновидности – субоогамии (Ettl, 1976). В описании данного вида, включенном в монографию Г. Эттла (Ettl, 1983), отмечается, что зигота окружена гладкой оболочкой и имеет оранжево-красное содержимое, однако на оригинальном рисунке (Ettl, 1976, fig. 857, g) показано, что зигота окружена капсулой, инкрустированной темноокрашенными гранулами, что также наблюдалось нами. Пальмеллевидное состояние для данного вида указывается впервые.

Таким образом, согласно нашим наблюдениям и литературным данным, описанные выше разновидности половых процессов водорослей характеризуются общим признаком – существенно различающимися размерами женской и мужской гамет, а также отличительным – наличием оболочки у гамет (*Ch. coccifera* и *Ch. sphagnicola*) или их отсутствием (*O. gigantea* и *Ch. suboogama*). Именно эти признаки, по нашему мнению, являются наиболее существенными при разграничении разных типов полового процесса.

Так, *Ch. coccifera* и *Ch. sphagnicola* характеризуются сходным типом полового процесса, который следует отнести к оогониогамии, что подтверждается наблюдениями других авторов в отношении первого таксона (Goroschankin, 1905; Skuja, 1949). Сходными являются также морфологические признаки этих видов – одинаковое строение хлоропласта, крахмальной обертки пиреноида, близкое строение носика и расположение стигмы (см. рис. 1, а, д; 2, а, б, ж). Подобные морфологические признаки имеют также некоторые другие виды хламидомонад – *Ch. braunii* Gorozh., *Ch. monadina* (Ehrenb.) F. Stein и его разновидности, *Ch. opisthopyren* Skuja, *Ch. nova* Skuja и др. (Ettl, 1983). Наши исследования ряда штаммов хламидомонад (из коллекций SAG, CCAC, AСКУ) позволили соотнести их с указанными выше видами и выявить достаточно близкое сходство их морфологических признаков и жизненных циклов. Проведенные молекулярно-филогенетические исследования данных штаммов подтвердили их генетическое родство и обособленность от

других представителей хламидомонад. Таким образом, данные виды были объединены в один род – *Microglena* Ehrenb. emend. Demchenko et al.¹ (Demchenko et al., 2011; Demchenko et al., in press). Виды хламидомонад группы «*Ch. monadina*» и ранее отмечались как обособленная таксон омиическая группа ранга рода (Pröschold et al., 2001; Liu et al., 2006; Eddie et al., 2008), описанная в порядке *Volvocales* как *Monadina* согласно правилам филогенетической номенклатуры (Nakada et al., 2008).

Однако, согласно литературным данным и некоторым нашим наблюдениям, *Ch. monadina* и *Ch. braunii* имеют иной тип полового процесса – гетерогамия или продвинутую анизогамию (Goroschankin, 1890; Pascher, 1927; Ettl, 1983; Rosowski, Hoshaw, 1988). Согласно классификации типов полового процесса у зеленых жгутиковых водорослей, разработанной Г. Эттлом (Ettl, 1983), при гетерогамии гаметы обоих полов подвижны, покрыты оболочками и различаются размерами. Анизогамия и оогониогамия – частные случаи гетерогамии: при анизогамии гаметы обоих полов различаются существенно как морфологически, так и функционально, однако остаются подвижными. При оогониогамии женская гамета образуется одна в гаметангии, сбрасывает жгутики, но остается внутри оболочки (оогония), к стенке которого прикрепляется подвижная мужская гамета, оплодотворение происходит внутри оогонии. Таким образом, существенным отличием продвинутой анизогамии и оогониогамии является наличие жгутиков у женской гаметы в первом случае и их отсутствие во втором. Некоторые авторы считают это отличие важным и обсуждают оба типа полового процесса как кардинально отличные, сравнивая даже оогониогамия, наблюдаемую у *Ch. coccifera*, с классической оогамией (Rosowski, Hoshaw, 1988). Подобное мнение высказано также в других работах (Ettl, 1976; Масюк, 2010), где отмечено, что классическая оогамия (при которой женская гамета сбрасывает оболочку и оплодотворяется голая неподвижная яйцеклетка) и оогониогамия – близкие типы полового процесса, различия между которыми не всегда четкие.

Однако в описании полового процесса у *Ch. braunii* (Goroschankin 1890), отнесенного к гетерогамии, указывается, что соединенные гаметы со жгутиками могут двигаться совместно лишь в начале, а в момент перетекания содержимого микрогаметы в макрогамету жгутики отбрасываются и клетки становятся неподвижными. О нефункциональности жгутиков макрогаметы также указывается в описании полового процесса у одного их штаммов *Ch. monadina* (Rosowski, Hoshaw, 1988). В этой же работе отмечается, что микрогаметы прикрепляются к макрогамете не в районе папиллы, а в верхней боковой ее части, что, по мнению Х. Эттла (Ettl, 1976), является типичным признаком оогониогамии. Близость продвинутой гетерогамии и оогониогамии признавал А. Пашер,

¹Род *Microglena* восстановлен потому, что *Chlamydomonas monadina* (Ehrenb.) F. Stein (базионим: *Microglena monadina* Ehrenb.) – наиболее ранний таксон данной группы (Ehrenberg, 1832).

наблюдая четкие переходы между этими типами полового процесса у *Ch. praecox* (Pascher 1943; Ettl 1976, 1983).

Таким образом, учитывая нефункциональность жгутиков макрогаметы и их утрату в процессе копуляции, а также то, что гаметы обоих полов покрыты оболочкой и оплодотворение происходит внутри оболочки макрогаметы (оогония), продвинутую анизогамию и оогониогамию следует считать близкими и взаимопереходящими типами полового процесса, что также высказывалось другими авторами (Pascher, 1943; Ettl, 1976). Близкие типы полового процесса внутри группы «*Ch. monadina*» являются одним из наиболее существенных обоснований их генетического родства. Еще в 1938 г. А.А. Коршиков отнес к *Ch. monadina* несколько морфологически отличающихся разновидностей по причине сходной «необычайно характерной формы полового процесса» (Коршиков, 1938, с. 76). К сожалению, многие из предложенных А.А. Коршиковым разновидностей либо не были признаны, либо отнесены к другим видам рода *Chlamydomonas* (Pascher, 1927; Ettl, 1976). Сегодня с помощью молекулярно-филогенетического анализа показано, что разновидности *Ch. monadina* являются близкими видами одного рода – *Microglena* Ehrenb. (Demchenko et al., 2011; Demchenko et al., in press) и наиболее существенный признак, объединяющий их, – близкий тип полового процесса. *Ch. coccifera* и *Ch. sphagnicola*, вероятно, – отдельные виды данного рода.

Половой процесс, характерный для *Oogamochlamys*, является классической оогамией и характеризуется копуляцией голой микрогаметы (сперматозоида) с голой неподвижной макрогаметой (яйцеклеткой) (Ettl, 1983; Pröschold et al., 2001). Согласно нашим наблюдениям, слизистая капсула, образующаяся вокруг макрогаметы, – производная ее сброшенной оболочки (рис. 3, е, л). Довольно часто она также сохраняется вокруг зиготы, инкрустируется солями железа и, приобретая бурый оттенок, становится дополнительной защитной оболочкой. Половой процесс, наблюдаемый у *Ch. suboogama*, сходен с оогамией, однако макрогамета сохраняет жгутики, потому данный тип отнесен к субоогамии – одной из разновидностей гетерогамии (Ettl, 1976; 1983). По нашему мнению, в данном случае, как и в случае с оогонииогамией и продвинутой анизогамией, роль жгутиков, вероятно, не столь существенна, поскольку они нефункциональны (Ettl, 1976). Гораздо более важными являются такие общие с типичной оогамией признаки, как сбрасывание (или отсутствие) оболочек гаметами перед копуляцией и выделение макрогаметой слизистой капсулы, от которой происходит капсула вокруг зиготы, наблюдаемая также у *Ch. suboogama* (рис. 4, в). Из-за сходства полового процесса следует предположить возможное родство данного вида с *Oogamochlamys*, а также вероятное таксономическое положение *Ch. suboogama* внутри групп, имеющих оогамный половой процесс – *Oogamochlamydia* или *Reinhardtinia*, являющихся сестринскими на филогенетическом древе *Volvocales* (Nakada et al., 2008).

Итак, можно сделать вывод, что границы между разными типами полового процесса зеленых жгутиковых водорослей можно провести в зависимости от приоритета того или иного морфологического признака. В существующей классификации (Ettl, 1976, 1983) большое значение уделяется признаку наличия/отсутствия жгутиков у макрогаметы, но недостаточное внимание уделено признаку наличия/отсутствия оболочек у гамет в процессе копуляции. Однако известно, что несмотря на подобное строение оболочек, их детали строения и химический состав в разных группах зеленых фитомонад различаются (Масюк, 2010). Так, на основе различной ультраструктуры кристаллического гликопротеинового слоя оболочек выделено несколько групп фитомонад (Roberts, 1974; Roberts et al., 1982; Woessner, Goodenough, 1994). Подобные результаты получены при изучении автолизинных спорангиальных стенок хламидомонад, которые также оказались достаточно специфичными и разделили все их разнообразие на несколько групп (Schlösser, 1984; Ettl, Schlösser, 1992). Полученные в этих работах выводы о родстве некоторых родов и видов *Volvocales* во многом были подтверждены данными молекулярной филогенетики (Pröschold et al., 2001; Nakada et al., 2008; и др.). Таким образом, детали строения оболочек данной группы водорослей имеют ключевое значение в систематике фитомонад и могут быть использованы как филогенетический маркер (Масюк, 2010).

На морфологическом уровне разница в строении оболочек водорослей пор. *Volvocales* выражается, в первую очередь, в степени их ослизнения, что, в целом, коррелирует как с выше описанными группами, так и с молекулярно-филогенетическими данными. Представители группы *Oogamochlamydia* характеризуются обильным выделением слизи и образованием пальмелл, что наблюдалось у *Oogamochlamys gigantea* (рис. 3, з, и). В связи с обильным ослизнением оболочек протопласты обеих гамет или макрогаметы перед копуляцией освобождаются за счет ослизнения их оболочек и образования слизистой капсулы, в которой и происходит их слияние. Поскольку оогенез у *O. gigantea* индуцируется прикреплением микрогаметы к оболочке вегетативной клетки (Pröschold et al., 2001), последующее сбрасывание и ослизнение оболочки макрогаметы связано либо с обширным действием автолизинных микрогаметы, либо с запуском выделения автолизинных самой макрогаметой.

Представители *Monadinia* (или рода *Microglena*), к которым относятся *Ch. coccifera* и *Ch. sphagnicola*, имеют плотные, слабо ослизняющиеся оболочки. Оогенез в их случае также инициируется микрогаметой, прикрепленной к оболочке вегетативной клетки. Однако протопласт микрогаметы входит в полость оогония через отверстие в оболочках, образованное за счет локального действия энзимов микрогаметы. Протопласты обеих гамет сливаются внутри интактной оболочки макрогаметы, которая в дальнейшем трансформируется во внешнюю оболочку зиготы.¹

¹Наблюдаемое сбрасывание оболочки макрогаметы у представителей рода *Microglena* и родственных ему таксонов (Pascher, 1943, Abb. 9c; Demchenko et al., in

Половой процесс *Ch. suboogama* практически полностью повторяет все этапы копуляции у *O. gigantea*, за исключением присутствия нефункциональных жгутиков у макрогаметы. Вегетативные клетки данного вида имеют ослизняющиеся оболочки, которые и играют ключевую роль в гаметогенезе и копуляции. Данный тип полового процесса, по нашему мнению, следует считать близким к классической оогамии, а этого представителя, место которого в системе *Volvocales* пока не определено, вероятно следует причислять к видам с легко ослизняющимися оболочками сестринских групп *Oogamochlamydia* или *Reinhardtinia*.

Заключение

Для двух новых для флоры Украины, а также двух редких видов водорослей приводятся особенности протекания полового процесса, строение отдельных стадий жизненного цикла, а также морфологические признаки исследованных популяций. Половой процесс впервые указан для *Chlamydomonas sphagnicola*, уточнены детали морфологии и жизненных циклов для *Ch. suboogama*, *Ch. coccifera* и *Oogamochlamys gigantea*; для последнего впервые указано также наличие пальмел левидного состояния. Вероятно, ключевым признаком для разграничения разных типов полового процесса следует считать, в первую очередь, поведение оболочек гамет при копуляции (т.е. наличие/отсутствие интактных оболочек при слиянии гамет). Степень различия в строении и размерах гамет обоих полов, вероятно, имеет меньшее значение, чем указано в литературе. Признак наличия/отсутствия интактных оболочек при слиянии гамет является филогенетически значимым и коррелирует с данными молекулярной филогенетики.

- Дедусенко-Щеголева Н.Т., Матвиенко А.М., Шкорбатов Л.А. Зеленые водоросли. Класс Вольвоксовые. *Chlorophyta: Volvocineae* // Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 8. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. – 230 с.
- Демченко Е. Статевий процес у *Chlamydomonas sphagnicola* (Fritsch) Fritsch et Takeda // Актуальні проблеми ботаніки та екології: Мат. конф. – Ніжин, 2001. – С. 13–14.
- Демченко Э.Н. «Цветение» воды эфемерных водоемов г. Киева (Украина) // Альгология. – 2011. – 21, № 1. – С. 87–105.
- Коршиков О.А. *Volvocineae* // Визначник прісноводних водоростей УРСР. IV. – К.: Вид-во АН УРСР, 1938. – 184 с.
- Лилицкая Г.Г. Зеленые жгутиковые водоросли малых водоемов г. Киева и его окрестностей. 2. *Chlamydomonadaceae (Chlorophyta)* // Альгология. – 2004. – 14, № 3. – С. 348–358.

press, fig. 8 h) – явление редкое и встречающееся преимущественно в культуре. Кроме того, под сброшенной оболочкой вокруг протопласта макрогаметы мгновенно образуется новая, поэтому копуляция в любом случае происходит при интактной оболочке оогония. Сброшенная оболочка оогония, возможно, является лишь одним из отделившихся ее слоев.

- Масюк Н.П., Лулицкая Г.Г. *Chlamydomonadales, Volvocales* // Разнообразие водорослей Украины / Под.ред. С.П. Вассера, П.М. Царенко // Альгология. – 2000. – **10**, № 4. – С. 164–174.
- Масюк Н.П. Флора водорослей України. Зелені рослини (*Viridiplantae*). I. Фітомонادی (*Phytomonadina*). Вип. 1. Загальна характеристика. Ч. 1. Будова, розмноження, онтогенез і цикли розвитку. – К.: Академперіодика, 2010. – 314 с.
- Матвиенко А.М. Водоросли моховатого болота из окрестностей Харьковова // Тр. НИИ биологии Харьков. ун-та. – 1950. – **13**. – С. 159–195.
- Bischoff H.W., Bold H.C. Some soil algae from *Enchanted Rock* and related algal species // Phycol. Stud. (Univ. Texas Publ., N 6318). – 1963. – **4**. – P. 43–59.
- Demchenko E., Mikhailyuk T., Pröschold T. *Microglena* Ehrenb., a well-known flagellated alga previously assigned to *Chlamydomonas monadina* group (*Chlorophyceae, Chlorophyta*) // Ботаніка та мікологія: проблеми і перспективи на 2011-2020 роки: Всеукр. наук. конф. – Київ, 2011. – С. 177–178.
- Demchenko E., Mikhailyuk T., Coleman A.W., Pröschold T. Generic and species concept in *Microglena* Ehr. previously assigned as *Chlamydomonas monadina* using an integrative approach // Eur. J. Phycol. (in press).
- Eddie B., Krembs C., Neuer S. Characterization and growth response to temperature and salinity of psychrophilic, halotolerant *Chlamydomonas* sp. ARC isolated from Chukchi Sea ice // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 2008. – **354**. – P. 107–117.
- Ehrenberg C.G. Über die Entwicklung und Lebensdauer der Infusionsthiere; nebst ferneren Beiträgen zu einer Vergleichung ihrer organischen Systeme // Abh. Königl. Akad. Wiss., Berlin. – 1832. – S. 1–154.
- Ettl H. Die Gattung *Chlamydomonas* Ehrenb. (*Chlamydomonas* und die nächstverwandten Gattungen II) // Beih. Nova Hedw. – 1976. – **49**. – 1122 S.
- Ettl H. *Chlorophyta* I. *Phytomonadina* // Sü wasserflora von Mitteleuropa. Bd. 9. – Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1983. – 807 S.
- Ettl H., Schlösser U.G. Towards a revision of the systematics of the genus *Chlamydomonas* (*Chlorophyta*). 1. *Chlamydomonas applanata* Pringsheim // Bot. Acta. – 1992. – **105**. – P. 323–330.
- Geitler L. Echte Oogamie bei *Chlamydomonas* // Österr. Bot. Z. – 1954. – **101**. – S. 570–578.
- Goroschankin J.N. Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chlamydomonaden // Flora. – 1905. – **94**. – S. 420–423.
- Goroschankin J.N. Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Systematik der Chlamydomonaden. I. *Chlamydomonas braunii* // Bull. Soc. Imp. Nat. Moscou NS. – **4**. – 1890. – P. 498–520.
- Liu C., Huang X., Wang X., Zhang X., Li G. Phylogenetic studies on two strains of Antarctic ice algae based on morphological and molecular characteristics // Phycologia. – **45**. – 2006. – P. 190–198.
- Nakada T., Misawa K., Nozaki H. Molecular systematics of *Volvocales* (*Chlorophyceae, Chlorophyta*) based on exhaustive 18S rRNA phylogenetic analyses // Mol. Phylog. Evol. – 2008. – **48**. – P. 281–291.
- Pascher A. *Volvocales*. Phytomonadinae. Flagellatae. IV. *Chlorophyceae*. I // Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. Haft. 4. – Jena: Verlag von Gustav Fischer, 1927. – 506 S.
- Pascher A. Beiträge zur Morphologie der ungeschlechtlichen und geschlechtlichen Vermehrung der Gattung *Chlamydomonas* // Beih. Bot. Central. – 1943. – **62/A**. – S. 197–220.

- Pentecost A.* Order *Volvocales* // The Freshwater Algal Flora of the British Isles. An identification guide to freshwater and terrestrial algae. – Cambridge: Cambr. Univ. Press, 2002. – P. 303–327.
- Pröschold T., Marin B., Schlösser U.G., Melkonian M.* Molecular phylogeny and taxonomic revision of *Chlamydomonas* (*Chlorophyta*). 1. Emendation of *Chlamydomonas* Ehrenberg and *Chloromonas* Gobi, and description of *Oogamochlamys* gen. nov. and *Lobochlamys* gen. nov. // Protist. – 2001. – **152**. – P. 265–300.
- Roberts K.* Crystalline glycoprotein cell walls of algae: their structure, composition and assembly // Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. – 1974. – **B268**. – P. 129–146.
- Roberts K., Hills G.J., Shaw P.J.* The structure of algal cell walls // Electron microscopy of proteins. – New York: Acad. Press, 1982. – Vol. 3. – P. 1–40.
- Rosowski J.R., Hoshaw R.W.* Advanced anisogamy in *Chlamydomonas monadina* (*Chlorophyceae*) with special reference to vacuolar activity during sexuality // Phycologia. – **27**. – 1988. – P. 494–504.
- Schlösser U.G.* Species-specific sporangium autolysins (cell-wall-dissolving enzymes) in the genus *Chlamydomonas* // Systematics of the green algae. – London: Acad. Press, 1984. – P. 409–418.
- Skuja H.* Drei Fälle von Sexueller Reproduktion in der Gattung *Chlamydomonas* Ehrenb. // Svensk Bot. Tidskr. – 1949. – **43**, N 2/3. – S. 586–602.
- Tschermak-Woess E.* Zur Kenntnis von *Chlamydomonas suboogama* // Planta. – 1962. – **59**. – P. 68–76.
- Woessner J.P., Goodenough U.W.* Volvocine cell walls and their constituent glycoproteins: an evolutionary perspective // Protoplasma. – 1994. – **181**. – P. 245–258.

Получена 30.05.2011

Рекомендовал к печати П.М. Царенко

E.N. Demchenko¹, T.I. Mikhailyuk²

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, Department of Botany, Ukraine, 64, Volodymyrska St., 01001, Kyiv

²N.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, 2, Tereshchenkivska St., 01001, Kyiv, Ukraine

PECULIARITIES OF SEXUAL REPRODUCTION OF SOME NEW FOR THE FLORA OF UKRAINE AND RARE SPECIES OF *VOLVOCALES* (*CHLOROPHYTA*)

The results of investigation of sexual reproduction and life cycles of two new for the flora of Ukraine and two rare species of green flagellate algae are presented. Sexual reproduction of *Chlamydomonas sphagnicola* (F.E. Fritsch) F.E. Fritsch et Takeda is found for the first time. The details of structure of some stages of life cycle and behavior of sexual reproduction of *Ch. suboogama* Tscherm.-Woess, *Ch. coccifera* Gorozh. and *Oogamochlamys gigantea* (O. Dill) Pröschold et al. are specified. The data of morphology, ecology, geographical distribution of these species are summarized and completed; original drawings and micrographs are provided as well. The materials concerned taxonomy of studied species in the light of peculiarities of their sexual reproduction as well as data of molecular phylogeny are discussed.

Key words: sexual reproduction, green algae, *Chlamydomonas*, *Oogamochlamys*, *Volvocales*, new for the flora of Ukraine species, rare species, taxonomical significance of characters.