

УДК 582.261 : 581.16

Н.А. ДАВИДОВИЧ

Карадагский природный заповедник НАН Украины,
Украина, 98188 Феодосия, п. Курортное, ул. Науки, 24**НАСЛЕДОВАНИЕ ПОЛА ПРИ ВНУТРИКЛОНОВОМ
ВОСПРОИЗВЕДЕНИИ ОБЛИГАТНО ДВУДОМНОГО ВИДА
NITZSCHIA LONGISSIMA (BRÉB.) RALFS (*BACILLARIOPHYTA*)**

Исследованы мужские клоны раздельнополой пеннатой диатомовой водоросли *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs, которые способны к нечастому внутрикловновому воспроизведению. Предполагая диплогенотипический характер наследования пола, экспериментально был проверен пол внутрикловнового потомства. В нем обнаружены как мужские, так и женские клоны, которые оказались жизнеспособными и фертильными. Мужские потомки, в свою очередь, также обнаружили способность к внутрикловновому воспроизведению. Два выделенных клона второго инбредного поколения оказались мужскими. При внутрикловновом воспроизведении половой процесс изогамный, а при межкловновом – анизогамный. Установлено, что форма и поведение гамет – наследуемые признаки, связанные с полом. Обсуждается возможность смены "однодомного" и "двудомного" поколений в жизненных циклах диатомовых.

Ключевые слова: *Nitzschia longissima*, диатомовая водоросль, внутрикловновое воспроизведение, наследование пола.

Введение

Проявления и закономерности наследования пола у диатомовых водорослей, а также характер распределения полов и половая структура их популяций по-прежнему остаются малоизученными, несмотря на то, что репродуктивной биологией диатомовых ученые занимаются с момента изобретения светового микроскопа.

До недавнего времени как центрические, так и пеннатые диатомовые в основном считались однодомными, или обоопольными (Lewin, Guillard, 1963; Drebes, 1977), т.е. такими, у которых в пределах одного клона формируются мужские и женские половые продукты. Это означает, что однодомные виды потенциально способны к внутрикловновому воспроизведению, которое, однако, в большинстве случаев является вынужденным (например, при содержании в клонной культуре), а в естественных условиях доминирует, по-видимому, перекрестное (межкловновое) скрещивание (Рощин, 1994). У обоопольных центрических диатомовых любая клетка, образующаяся в процессе полового воспроизведения, несет полную генетическую информацию о каждом из полов. Реализация того или иного пола часто обусловлена размерами клеток (Wiese, 1969; Drebes, 1977) и может зависеть от внешних условий, например режима освещения (Stosch, 1954; Steele, 1965; Schmid, 1995), что свидетельствует о фенотипическом характере детерминации пола у центрических диатомовых.

Двудомность (раздельнополость) впервые была обнаружена у пеннатой диатомовой *Rhabdonema adriaticum* Kütz. (Stosch, 1958). С тех пор накоплено

достаточно информации, свидетельствующей о том, что двудомность типична для пениатных диатомовых; при этом она часто сочетается с однодомностью определенным образом (Рошин, 1994; Черпунов, Mann, 1997, 1999, 2000; Roshchin, Cherpuhov, 1999; Давидович, 2002). В некоторых альгологических работах вместо терминов “однодомность” и “двудомность” используют термины “гомоталлизм” и “гетероталлизм”. Гомоталлизм подразумевает внутриклоновое, а гетероталлизм – облигатное межкловое (межталломное) скрещивание. Указанные термины отчасти взаимозаменяемы. Употребление их в отношении диатомовых, являющихся одноклеточными формами, носит спорный характер при разграничении понятий “индивидуум”, “клон”, “организм”.

Наличие двух скрещивающихся типов в совокупности с морфологической и физиологической анизогамией, найденной у *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs, позволило охарактеризовать однозначно этот вид как облигатно двудомный (Рошин, 1994; Черпунов, 1997; Roshchin, Cherpuhov, 1999). Позднее было отмечено только у мужских клонов сравнительно редко происходящее внутрикловое половое воспроизведение (Давидович, 2001, 2002). Этот факт существенно “усложняет” привычное представление о безусловной связи двудомности с гетероталлизмом. Мы попытались исследовать половые характеристики потомства однополого клона, а результаты изучения закономерностей наследования пола при внутрикловом воспроизведении *N. longissima* изложили в данной работе.

Материалы и методы

Пениатная диатомовая водоросль *Nitzschia longissima* немногочисленна в районе Карадага (юго-восточный Крым) и встречается в планктонных и бентосных пробах регулярно, чаще всего ранней весной и осенью (Рошин и др., 1992). Благодаря большой длине клеток, до 850 мкм, в пробах хорошо заметна. От морфологически сходных видов, например *Nitzschia* (= *Cylindrotheca*) *closterium* (Ehr.) W. Sm., *N. tenuirostris* Mer., она отличается множественными зернистыми (палочковидными) хлоропластами (Прошкина-Лавренко, 1955, 1963).

Клоны водоросли выделяли микропипеточным способом из соскобов обрастаний на камнях, взятых у берега на глубине 0,1-0,5 м, или из планктонных проб, собранных малой планктонной сетью Джеджи (диаметр входного отверстия 0,3 м) в прибрежной зоне Карадага. Всего за период с 1994 по 2004 год из природной популяции было выделено более 70 клонов, которые от нескольких месяцев до нескольких лет хранили в культурах при температуре 16-22 °С и естественном освещении в стеклянных чашках Петри с объемом среды приблизительно 40 мл. Культуры пересевали в свежую среду, приготовленную согласно рекомендации А.М. Рошина (1994), раз в 7-14 дней. Половую совместимость клонов проверяли путем попарных скрещиваний в смешанных посевах в чашках Петри. Наблюдения за гаметогенезом и аукоспорообразованием вели под микроскопами МБС-9 и Violar-PI. Длину клеток (апикальный размер) измеряли при помощи окулярной линейки с ценой деления 7,6 мкм при увеличении 9х. При каждом пересеве внимательно просматривали отдельные клоновые культуры для обнаружения внутриклонового полового воспроизведения.

В тексте, если не указано иное, приводятся средние значения (\bar{x}), их ошибки ($\pm s_x$) и объем совокупности (n).

Результаты

Путем попарных скрещиваний в смешанных посевах была проверена половая принадлежность 70 клонов, выделенных из природной популяции в период с 1994 по октябрь 2004 г. Из них 35 оказались мужскими (исходя из морфологии, поведения гамет и сексуальной совместимости) и 35 – женскими. После того, как в одном из мужских клонов неожиданно были встречены две пары ауксоспор, мы стали тщательно просматривать клоновые культуры. Так, время от времени в некоторых мужских клонах было замечено ауксоспорообразование. Ауксоспоры и инициальные клетки, обычно от одной-двух до нескольких пар на чашку Петри, можно было увидеть только в конце экспоненциальной фазы роста культуры.

В нашу задачу не входило детальное цитологическое исследование процессов гаметогенеза и ауксоспорообразования, однако отметим, что внутриклоновое воспроизведение было всегда аллогамным, в нем участвовала пара гаметангиев, и в каждом из них формировались две шаровидные гаметы. Форма и расположение ауксоспор относительно гаметангиальных створок были такими же, как и при межклоновом воспроизведении. Иногда в паре гаметангиев вместо двух формировалась только одна ауксоспора, развитие второй по каким-то причинам прекращалось на ранних стадиях.

По способности к внутриклоновому воспроизведению мужские клоны заметно различались. В некоторых из них оно происходило регулярно: при каждом пересеве культур в чашке Петри обнаруживались две-три (иногда больше) гаметангиальных пары, пары ауксоспор или инициальные клетки (в зависимости от того, на каком этапе роста находились культуры). В других клонах внутриклоновое воспроизведение было настолько редким, что могло быть легко пропущено при невнимательном наблюдении. Обычно относительное количество ауксоспор и инициальных клеток не превышало 0,1% общего количества клеток в чашке, и только в исключительных случаях частота ауксоспорообразования достигала значений, сравнимых с теми, которые наблюдаются при межклоновом скрещивании. Например, в клоне 8-14-А 30 мая 2002 г. частота внутриклонового ауксоспорообразования составила $14,3 \pm 3,0\%$.

В целом, внутриклоновое воспроизведение было отмечено в 17 из 35 мужских клонов. Не было никаких свидетельств внутриклонового полового воспроизведения в женских клонах, за исключением неясного случая гаметогенеза в клоне D0720-B ♀ и обнаружения пары ауксоспор в клоне (7-30-B) intra-0318-A ♀.

Ранее, путем скрещивания с партнерами, пол которых был уже известен, мы проверили (Davidovich et al., 2004) половую принадлежность 13 клонов, полученных в результате внутриклонового воспроизведения в 6 мужских клонах (табл. 1). Два из этих случаев являлись внутриклоновым воспроизведением во втором поколении, поскольку выяснилось, что вновь выделенные мужские клоны, в свою очередь, также проявляли способность к внутриклоновому воспроизведению. В результате удалось получить клоны второго внутриклонового поколения, [(8-21-B) intra-0610] intra-0129-B и [(8-21-B) intra-0610] intra-0211-A, которые тоже были фертильными. В целом, оказалось, что из 13 клонов, полученных в результате внутриклонового воспроизведения, 5 были женскими, остальные – мужскими. Ранее (Davidovich et al., 2004) эти данные применяли

для изучения половой структуры природной популяции. В данной работе мы их используем, рассматривая возможность чередования внутри-клонового и межклонового способов воспроизведения в жизненных циклах диатомовых.

Таблица 1. Половая принадлежность потомства, появившегося в мужских клонах *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs в результате внутриклонового полового воспроизведения (по Davidovich et al., 2004)

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

Примечание. * – здесь и в табл. 2 в скобках указано обозначение родительского клона, после слова intra, свидетельствующего о том, что клон получен в результате внутриклонового воспроизведения, указана дата выделения дочернего клона (месяц, число) и его буквенное обозначение; ** – половая принадлежность определялась по результатам скрещивания с клонами известного пола; «+» – в клоне отмечено внутриклоновое воспроизведение.

Женские и мужские потомки одного клона способны скрещиваться, что было продемонстрировано в частности для пары (8-14-A) intra-1105-A♂ и (8-14-A) intra-1105-C♀. Осуществлено также возвратное скрещивание клона 8-14-A♂ и его потомка (8-14-A) intra-1105-C♀.

Размер инициальных клеток, возникших в процессе внутриклонового аукооспорообразования, не уступал размерам инициальных клеток, сформировавшихся при межклоновом скрещивании. Напротив, за десять лет изучения водоросли из почти 8000 измеренных клеток абсолютный максимум апикальной длины $849,3 \pm 3,2$ мкм (среднее \pm стандартное отклонение, $n=10$) был зарегистрирован в клоне [(8-28-G) intra-1104] intra-1206, который представлял собой вторую внутриклоновую генерацию. Внутриклоновое потомство проходит полный жизненный цикл с критическими границами, приблизительно такими же (табл. 2), как и у потомков, появляющихся при межклоновом скрещивании (табл. 3).

Отмечена положительная зависимость длины инициальных клеток, сформировавшихся в процессе внутриклонового воспроизведения, от длины клеток родительского клона (см. рисунок).

Таблица 2. Длина (апикальный размер) инициальных клеток, появившихся в мужских клонах *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs в результате внутриклонового полового воспроизведения

Наименование клона*	Апикальный размер клеток, мкм	
	родительского клона	дочернего клона или инициальных клеток
(7-15-A) intra 2	210 ± 1	568 ± 2
(7-30-B) intra E 0128-C	нд	622 ± 1
(7-30-B) intra E 0128-D	нд	665 ± 1
(7-30-B)+	375 ± 1	675 ± 13
(8-14-A) intra 0507-A	217 ± 4	613 ± 1
(8-14-A)+	217 ± 4	646 ± 8
(8-14-A-sub C) intra 1105-A	~ 224 ± 1	643 ± 1
(8-14-A-sub C) intra 1105-C	~ 224 ± 1	645 ± 1
(8-14-A-sub C) intra 1105-D	~ 224 ± 1	650 ± 1
(8-17-A)+	288 ± 5	678 ± 9
(8-21-B) intra 0111	~ 277 ± 1	662 ± 1
(8-21-B) intra 0610	241 ± 3	649 ± 1
(8-21-B)+	242 ± 3	703 ± 8
(8-22-V) intra 0911	192 ± 1	648 ± 1
(8-22-V)+	192 ± 1	618 ± 16
(8-28-G) intra 0611	420 ± 1	709 ± 2
(8-28-G)+	420 ± 1	761 ± 7
(D 0915-B)+	229 ± 3	637 ± 10
(E 0912-A)+	250 ± 7	654 ± 8
(G) intra 2	269 ± 3	688 ± 9
(S) intra 0428	~ 185 ± 2	651 ± 4
(S) intra 0705	~ 185 ± 2	632 ± 12
[(8-21-B) intra 0610] E 0211-A	нд	629 ± 2
[(8-21-B) intra 0610] intra E 0129-B	нд	663 ± 1
[(8-28-G) intra 1104] intra 1206	358 ± 1	849 ± 1
Среднее значение ± стандартное отклонение, n	259 ± 73 n = 21	662 ± 54 n = 25
Минимальное значение	185	568
Максимальное значение	420	849

Примечание. Наименование родительского клона указано в скобках. Наименование дочернего клона (после слова intra.) означает, что дочерние клоны не выделялись, и инициальные клетки измерялись непосредственно в родительском клоне. Знак «~» указывает на значительное (в отдельных случаях – от нескольких недель до нескольких месяцев) несоответствие моментов измерения инициальных и родительских клеток; нд – нет данных. Для каждого из клонов представлены средние значения и ошибка среднего; количество измерений (n) – не менее 10.

Т а б л и ц а 3. Диапазоны длины вегетативно делящихся, сексуально индуцибельных и инициальных клеток, появившихся в результате межклонового скрещивания *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs

Клетки	Диапазон длины, мкм	
	минимальный	максимальный
Вегетативные*	45	836
Сексуально индуцибельные**	50	425
Инициальные***	380	836

П р и м е ч а н и е. * – представляют полный диапазон изменения длины клеток данного вида; измерено почти 8000 клеток; ** – клетки, способные к половой репродукции; по данным А.М. Рошина (1994), в половой процесс способны вступать клетки длиной 174–469 мкм; *** – полученные в результате полового воспроизведения, измерено 4216 инициальных клеток и их первых потомков в 302 смешанных посевах сексуально совместимых клонов.

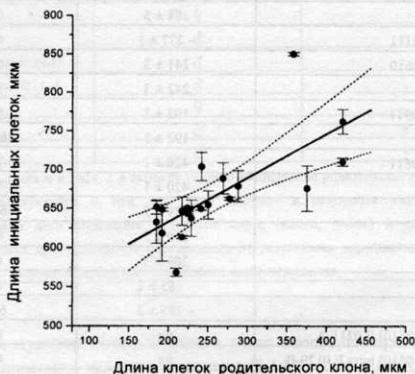


Рисунок. Зависимость длины инициальных клеток, сформировавшихся в процессе внутриклонового воспроизведения, от длины клеток родительского клона ($n = 21$). Уравнение регрессии: $y = 0,56x + 520$, где y – длина инициальных клеток; x – длина клеток родительского клона (мкм); $R^2 = 0,519$. Для средних значений и линии регрессии указаны доверительные интервалы для 95%-й вероятности.

Обсуждение

Пеннатная диатомовая водоросль *Nitzschia longissima* с присущей ей морфологической и физиологической анизогамией (Рошин, 1994; Чепурнов, 1997; Roshchin, Chepurnov, 1999) является прекрасным объектом исследования закономерностей наследования пола у диатомовых водорослей.

Ранее было установлено (Рошин, 1994; Чепурнов, 1997; Roshchin, Chepurnov, 1999), что при скрещивании мужского и женского клонов половой процесс протекает по так называемому “нормальному” типу, подтип IA2

классификации Л. Гейтлера (Geitler, 1973, Mann, 1993). При нормальном половом процессе в каждом гаметангии образуются 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.

Имеются сведения о кариотипах всего лишь 43 таксонов диатомовых, охватывающих 28 родов (Седова, 1996). При этом у центрических число хромосом (в гаплоидном наборе) может составлять от $n = 2$ (*Biddulphia sinensis* Grev.) до $n = 32-34$ (*Cyclotella meneghiniana* Kütz.), у пеннатных – от 4 до 20 и лишь у *Surirella saxonica* Auersw. ex Rab. $n = 64-65$. Хромосомы диатомовых, как правило, слабо или совсем не дифференцированы морфологически (Седова, 1996). Кроме того, не исключено, что пол детерминируется несколькими аллелями, находящимися в более чем двух хромосомах. Поэтому вести речь о хромосомной дивергенции полов было бы не совсем корректно.

Обозначим женский и мужской генетические факторы соответственно F (feminine, female) и M (masculine, male), не имея в виду обязательного наличия половых хромосом (Davidovich et al., 2004). Таким образом, спаривание мужского и женского гаметангиев обеспечивает сочетание факторов согласно классической схеме:

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

Эта схема указывает на равное распределение полов в потомстве при скрещивании мужского и женского клонов, что и наблюдалось у *N. longissima*. Так, для выяснения пола сестринских (произошедших от одной гаметангиальной пары) инициальных клеток были исследованы четыре пары гаметангиев (Рощин, 1994; Mann, Cherpurnov, 2003); оказалось, что в каждой паре формировалась одна мужская и одна женская инициальные клетки. Приблизительно равным оказалось и постзиготическое соотношение полов в природной популяции (Davidovich et al., 2004).

Внутрикловое воспроизведение у *N. longissima* осуществляется аллогамным путем, т.е. путем спаривания двух генетически идентичных гаметангиев, поэтому схема наследования половых факторов будет выглядеть следующим образом (Давидович, 2002; Davidovich et al., 2004):

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

Итак, теория предсказывает появление во внутрикловом потомстве мужского клона женских особей, мужских особей и «суперсамцов» в соотношении 1:2:1. На первый взгляд, появление в мужском клоне женских особей может показаться необычным, однако пол потомства можно проверить экспериментально. Действительно, из потомства 6 мужских клонов, воспроиз-

водившихся внутрикловым способом, было выделено 13 новых клонов; среди которых 5 оказались женскими, остальные – мужскими (см. табл. 1). Полученные статистические данные недостаточны для того, чтобы делать вывод о количественном соотношении полов, но сам факт появления мужских и женских клонов подтверждает правильность предложенной схемы наследования пола.

Пока не представляется возможным увидеть появление «суперсамцов», обладающих сразу двумя аллелями мужского типа. Такие потомки могут проявлять себя как обычные мужские клоны, но, скорее всего, они нежизнеспособны и развитие их прекращается на ранних стадиях. В пользу такого предположения свидетельствуют наблюдавшиеся иногда гаметангиальные пары, в которых одиночная аукоспора располагается рядом с дегенерирующей зиготой.

Как мужские, так и женские клоны, появившиеся в результате внутриклового воспроизведения, оказались вполне жизнеспособными. Специальных опытов по определению скорости деления мы не проводили, но потребность в пересевах в свежую среду у них была такой же, как и у всех других клонов, содержащихся в культуре. Как мы уже отмечали, внутрикловое потомство однополое и скрещивается с клонами противоположного пола. Пол потомков, собственно, и был установлен путем скрещивания с уже известными клонами. У внутриклового потомства такие же морфометрические характеристики и положение кардинальных точек в жизненном цикле, как и у межклонового (ср. табл. 2 и 3). Довольно отчетливо проявилось влияние размеров клеток родителей на размеры клеток потомства (см. рисунок). Таким образом, судя по внешним признакам, можно заключить, что внутрикловое потомство полноценно в физиологическом и генетическом смысле: жизнеспособно, фертильно, проходит обычный жизненный цикл.

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

Гомоталлизм, проявлявшийся у некоторых пеннатных видов диатомовых, в совокупности с гетероталлизмом, А.М. Рошин (1994) охарактеризовал как однодомно-двудомность. К однодомно-двудомным были отнесены изученные им

(Рошин, 1994) виды: *Tabularia tabulata* (Ag.) Kütz. (= *Synedra tabulata* (Ag.) Kütz.), *Fragilaria delicatissima* Pr.-Lavr., *Achnanthes brevipes* Ag. var. *intermedia* (Kütz.) Grun., *Grammatophora marina* (Lyngb.) Kütz., *Navicula pennata* A. S. var. *pontica* Mer., *Nitzschia lanceolata* W. Sm. При этом подчеркивалось, что у гетерогамных видов *Tabularia tabulata* и *Fragilaria delicatissima* мужские клоны, способные сочетаться с женскими, сохраняют также ограниченную способность к однодомному воспроизведению (Рошин, 1994). Любопытно, что однодомное воспроизведение сопровождалось изогамией. Обнаружив проявление гомоталлизма у *N. longissima*, нам следовало бы отнести этот вид к однодомно-двудомным видам. Тем не менее, установленная нами схема наследования полов при гомоталлическом воспроизведении мужского клона и устойчивое разделение клонов на два скрещивающихся типа (мужской и женский) при очевидной морфологической и поведенческой гетерогамии свидетельствуют о двудомном распределении полов (раздельнополости), которое, однако, не препятствует внутрикловому воспроизведению одного из них.

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

Такая же как и у *N. longissima* схема полового поведения мужских и женских клонов и принцип наследования пола применимы, очевидно, и в отношении *Fragilaria delicatissima* см. Рошин, 1994, с. 113-118).

Гаметы, формирующиеся в паре мужских гаметангиев *N. longissima*, соответствуют мужскому типу (округлые), так что при внутрикловом воспроизведении половой процесс протекает в форме изогамии (Davidovich et al., 2004), и тем самым, резко отклоняется от *цис*-анизогамного типа (IA2), характерного для межклонового скрещивания (Рошин, 1994). При последующем межкловном скрещивании женские клоны, образовавшиеся внутрикловым

2004), и тем самым, резко отклоняется от *цис*-анизогамного типа (IA2), характерного для межкловового скрещивания (Рошин, 1994). При последующем межклововом скрещивании женские клоны, образовавшиеся внутриклововым путем, формировали типичные женские гаметы (колоколовидные). Следовательно, форма гамет – это наследуемый признак, связанный с полом. Этот факт логично объясняет причину существования двух типов полового процесса, “обслуживающих” однодомное (внутриклововое) и двудомное (межклововое) воспроизведение. О существовании такого разделения говорилось неоднократно (Рошин, 1994; Roshchin, Cherpunov, 1999), и сейчас становится понятной его причина. Межклововое и однополое внутриклововое воспроизведение закономерно различаются типами полового процесса (соответственно, гетеро- и изогамия) у тех видов, у которых физиологическая *цис*-анизогамия сопровождается морфологической *цис*-анизогамией: *Achnanthes brevipes* var. *intermedia*, *Grammatophora marina*, *Fragilaria delicatissima*, *Tabularia tabulata* (Рошин, 1994; Roshchin, Cherpunov, 1999). У видов, которым присуща морфологическая изогамия, хотя физиологически они могут быть как изогамными (*Achnanthes longipes*), так и анизогамными (*транс*-анизогамия у *Nitzschia lanceolata*), внутриклововое и межклововое воспроизведение является изогамным (Roshchin, Cherpunov, 1999).

Таким образом, у *N. longissima* при межклововом скрещивании подвижные гаметы продуцирует только один из гаметангиев в паре, условно говоря “мужской”, и именно мужской клон способен к внутриклововому воспроизведению. Если считать подвижность гамет основным фактором, обуславливающим способность к внутриклововому воспроизведению, то однополое (при условии раздельнополости) внутриклововое воспроизведение может быть найдено, помимо упомянутых *Fragilaria delicatissima*, *Tabularia tabulata*, и у других видов диатомовых, характеризующихся *цис*-анизогамным типом полового процесса (IA2 – по классификации Л. Гейтлера), например таких, как *Achnanthes javanica* f. *subconstricta* (Meist.) Hust. (Mizuno, 1994), *Diatoma elongatum* (Lyngb.) Ag. (Round et al., 1990), *Licmophora abbreviata* Ag. var. *abbreviata* Ag. (Рошин, 1994), *L. ehrenbergii* (Kütz.) Grun. (Рошин, Чепурнов, 1994), *L. gracilis* (Ehr.) Grun. var. *anglica* (Kütz) Perag. (Mann, 1982), *Mastogloia smithii* Thw. (Stickle, 1986), *Pseudo-nitzschia calliantha* Lundholm, Moestrup & Hasle (в своей работе мы определили этот вид как *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* (Hasle) Hasle (Davidovich, Bates, 1998), однако позднее Н. Лундхольм с соавторами (Lundholm et al., 2003) отнесла исследованные нами клоны к вновь описанному виду *P. calliantha*), *Pseudo-nitzschia multiseriata* (Hasle) Hasle (Davidovich, Bates, 1998), *Scriatiella unipunctata* (Lyngb.) Ag. (Рошин, 1994), *Synedra amphicephala* Kütz. (Geitler, 1958), *S. rumpens* Kütz. var. *fragilarioides* Grun. (Geitler, 1952), *S. ulna* (Nitzsch.) Ehr. (Geitler, 1939). Раздельнополость части из них была доказана (Рошин, 1994; Davidovich, Bates, 1998).

По той же причине подвижности/неподвижности гамет однополое внутриклововое воспроизведение потенциально возможно и в случае анизогамии типа IIВ. Такой тип анизогамии отмечен, например, у *Cocconeis pellucida* Grun. (Mizuno, 1998), *C. placentula* Ehr. var. *pseudolineata* Geitler (Mizuno, Okuda, 1985; Mizuno, 1998), *C. scutellum* Ehr. var. *ornata* Grun. (Mizuno, Okuda, 1985), *Sellaphora pupula* (Kütz.) Mer. (Mann, 1984). Заметим, однако, что длительное скрупулезное

талличного воспроизведения. Учитывая принцип подвижности/неподвижности гамет, можно ожидать, что у тех двудомных видов, у которых гаметы как мужского, так и женского гаметангиев одинаково подвижны (IB и IC типы по Гейтлеру), либо подвижна только одна из гамет в гаметангии (тип IA1, физиологическая *транс*-анизогамия), внутрикловое воспроизведение будет наблюдаться в обоих скрещивающихся клонах. Схема скрещивания, описанная для двудомной (Рошин, 1994) и *транс*-анизогамной (Cherupnov, Mann, 1997) *Nitzschia lanceolata*, подтверждает это предположение. Было установлено, что у этого вида клоны обоих полов способны к нечастому внутрикловому воспроизведению (Рошин, 1994).

Особый вопрос о скрещиваемости между собой мужских клонов. У *N. longissima* гаметогенез и аукоспоробразование отмечались иногда в смешанных посевах мужских клонов, как правило, тех, которые воспроизводились внутрикловым путем. Частота встречаемости аукоспор в смесях была невысокой, приблизительно такой же, как при внутрикловом воспроизведении. Появление гамет/аукоспор в смесях мужских клонов мы объясняли внутрикловым воспроизведением отдельных клонов в смеси, хотя на самом деле не исключена способность последних к межкловому скрещиванию, что предстоит еще уточнить.

Очень сложная система скрещивания была описана у *Achnanthes longipes* Ag. (Cherupnov, Roschin, 1995; Cherupnov, Mann, 1997, 1999, 2000). Обнаружены "однодомные", "бисексуальные" и "однополые" клоны. Однодомные клоны охотно скрещивались с другими однодомными, бисексуальными и однополыми. Бисексуальные клоны скрещивались со всеми другими, а также и между собой и отличались от однодомных только частотой внутриклового аукоспоробразования. Здесь уместно напомнить, что не у всех мужских клонов *Nitzschia longissima* было обнаружено внутрикловое воспроизведение. Из 35 изученных клонов только 17 проявили в разной степени такую способность. Мы, однако, избегаем употребления термина "однодомность" в отношении *N. longissima*. Судя по схеме наследования пола, мужские клоны – это клоны, несущие в генетическом наборе F и M половые факторы. В отличие от них, в женских клонах представлены только F факторы. В то же время, морфология и поведение гамет в клонах, способных к внутрикловому воспроизведению, типично мужские.

Заключение

Изучение закономерностей наследования пола при внутрикловом воспроизведении привело нас к выводам, позволяющих по-иному взглянуть на ранее полученные результаты, касающиеся «однодомности – двудомности» диатомовых. Схема наследования пола, описанная для *Nitzschia longissima*, давшая повод для критического анализа систем скрещивания *Achnanthes longipes*, *Fragilaria delicatissima*, *Tabularia tabulata* и других видов, требует более углубленного изучения вопроса об «однодомности/двудомности» диатомовых в целом. Мы по-прежнему далеки от понимания того, каков генетический механизм

детерминации пола у диатомовых. Для ответа на этот вопрос, помимо используемого нами метода скрещиваний, желательно привлечь молекулярно-генетические методы исследований.

N. A. Davidovich

Diatom Biology Laboratory, Karadag Nature Reserve, National Academy of Sciences of Ukraine,
24, Nauki St., Kurortnoye, 99188 Feodosiya, Ukraine
e-mail: nickolai@crimea.com

INHERITANCE OF THE SEX AT THE INTRACLONAL REPRODUCTION OF THE
OBLIGATORILY DIOECIOUS SPECIES *NITZSCHIA LONGISSIMA* (BRÉB.) RALFS
(BACILLARIOPHYTA)

Male clones of the pennate heterothallic diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs were studied. Infrequently they are able to intraclonal reproduction. Predicting diplogenotypic mode of sex inheritance we checked the sex of descendants resulting from the intraclonal reproduction. Both male and female viable and fertile clones were revealed in the intraclonal progeny. Male descendants proved to be able to reproduce themselves intraclonally as well. Two new clones derived from the second inbred generation turned to be male ones. The sexual process was isogamous when intraclonal reproduction take place and heterogamous at interclonal reproduction. The gamete form and behavior are heritable attributes associated with the sex. The possibility of change of "monoecious" and "dioecious" generations in the life cycles of diatoms is discussed.

Key words: *Nitzschia longissima*, diatom, intraclonal sexual reproduction, inheritance of the sex.

Давидович Н.А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей // Физиол. раст. – 1994. – 41, № 2. – С. 250-255.

Давидович Н.А. Сочетание инбредного и аутбредного скрещивания в системе размножения диатомовой водоросли *Nitzschia longissima* // Наук. зап. Терноп. держ. пед. ун-ту. Сер. Биология. Спец. вип. – 2001. – 15, № 4. – С. 72-73.

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

Майр Э. Популяции, виды и эволюция. – М.: Мир, 1974. – 460 с.

Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли планктона Черного моря. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1955. – 223 с.

Прошкина-Лавренко А.И. Диатомовые водоросли бентоса Черного моря. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963. – 244 с.

Роцин А.М. Диатомовая водоросль с однодомным и двудомным воспроизведением // Журн. общ. биол. – 1987. – 48, № 6. – С. 771-783.

Роцин А.М. Жизненные циклы диатомовых водорослей. – К.: Наук. думка, 1994. – 171 с.

Роцин А.М., Чепурнов В.А. Аллогамный половой процесс и гаплоидный партеногенез у двудомной водоросли *Licthophora ehrenbergii* (Kütz.) Grun. (*Bacillariophyta*) // Альгология. – 1994. – 4, № 4. – С. 3-10.

Роцин А.М., Чепурнов В.А., Кустенко Н.Г. Диатомовые водоросли. Флора и фауна заповедников СССР: Водоросли, грибы, мохообразные Карадагского заповедника (Аннотированные списки видов). – М., 1992. – С. 7-18.

Седова Т.В. Кариология водорослей. – СПб: Наука, 1996. – 386 с.

- Чепурнов В.А. Половой процесс и формирование аукоспор у диатомовых водорослей (*Bacillariophyta*) // Тр. Карадаг. фил. Ин-та биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины: Сб. науч. тр. – Севастополь, 1997. – С. 53-62.
- Chepurnov V.A., Roschin A.M. Inbreeding influence on sexual reproduction of *Achnanthes longipes* Ag. (*Bacillariophyta*) // Diatom Res. – 1995. – 10, N 1. – P. 21-29.
- Chepurnov V.A., Mann D.G. Variation in the sexual behaviour of natural clones of *Achnanthes longipes* (*Bacillariophyta*) // Eur. J. Phycol. – 1997. – 32, N 2. – P. 147-154.
- Chepurnov V.A., Mann D.G. Variation in the sexual behaviour of *Achnanthes longipes* (*Bacillariophyta*). II. Inbred monoecious lineages // Ibid. – 1999. – 34, N 1. – P. 1-11.
- Chepurnov V.A., Mann D.G. Variation in the sexual behaviour of *Achnanthes longipes* (*Bacillariophyta*). III. Progeny of crosses between monoecious and unisexual clones // Ibid. – 2000. – 35. – P. 213-223.
- Davidovich N.A. Species specific sizes and size range of sexual reproduction in diatoms // Proc. 16th Intern. Diatom Symp. Athens & Aegean Islands, 25 August – 1 September 2000 / Ed. by A. Economou-Amilli. – Athens: Univ. Athens, 2001. – P. 191-196.
- Davidovich N.A., Bates S.S. Sexual reproduction in the pennate diatoms *Pseudo-nitzschia multiseriata* and *P. pseudodelicatissima* (*Bacillariophyceae*) // J. Phycol. – 1998. – 34, N 1. – P. 126-137.
- Davidovich N.A., Kaczmarzka I., Ehrman J.M. The sexual structure of a natural population of the diatom *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs // Abstr. of the 18th Intern. Diatom Symp. Miedzyzdroje, 2-7 Sept. 2004 / Ed. by A. Witkowski et al. – Univ. Szczecin, Poland, 2004. – P. 117.
- Drebes G. Sexuality // The Biology of Diatoms. Botanical Monographs. Vol. 13 / Ed. by D. Werner. – Oxford: Black. Sci. Publ., 1977. – P. 250-283.
- Geitler L. Gameten- und Auxosporenbildung von *Synedra ulna* im Verleisch mit anderen pennaten Diatomeen // Planta, Arch. Wiss. Bot. – 1939. – 30, N 3. – S. 551-566.
- Geitler L. Untersuchungen über Kopulation und Auxosporenbildung pennater Diatomeen: IV. Vierkernige Zygoten bei *Navicula cryptocephala* var. *veneta*; V. Allogamie bei *Synedra rumpens* var. *fragilarioides* // Österr. Bot. Z. – 1952. – 99, N 5. – S. 598-605.
- Geitler L. Notizen über Rassenbildung, Fortpflanzung, Formwechsel und morphologische Eigentümlichkeiten bei pennaten Diatomeen // Ibid. – 1958. – 105. – S. 408-442.
- Geitler L. Auxosporenbildung und Systematik bei pennaten Diatomeen und die Cytologie von *Cocconeis*-Sippen // Ibid. – 1973. – 122. – S. 299-321.
- Lewin J.C., Guillard R.R.L. Diatoms // Ann. Rev. Microbiol. – 1963. – 17. – P. 373-414.
- Lundholm N., Moestrup Ø., Hasle G.R., Hoef-Emden K. A study of the *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* / *cuspidata* complex (*Bacillariophyceae*): what is *P. pseudodelicatissima*? // J. Phycol. – 2003. – 39, N 4. – P. 797-813.
- Mann D.G. Auxospore formation in *Licmophora* (*Bacillariophyta*) // Plant Syst. Evol. – 1982. – 139. – P. 289-294.
- Mann D.G. Observations on copulation in *Navicula pupula* and *Amphora ovalis* in relation to the nature of diatom species // Ann. Bot. – 1984. – 54. – P. 429-438.
- Mann D.G. Patterns of sexual reproduction in diatoms // Hydrobiologia. – 1993. – 269/270. – P. 11-20.
- Mann D.G., Chepurnov V.A., Droop S.J.M. Sexuality, incompatibility, size variation, and preferential polyandry in natural populations and clones of *Sellaphora pupula* (*Bacillariophyceae*) // J. Phycol. – 1999. – 35. – P. 152-170.
- Mann D.G., Chepurnov V.A., Idei M. Mating system, sexual reproduction, and auxospore formation in the anomalous raphid diatom *Eunotia* (*Bacillariophyta*) // Ibid. – 2003. – 39, N 6. – P. 1067-1084.
- Mizuno M. Sexual reproduction and auxospore formation in *Achnanthes javanica* f. *subconstricta* // Diatom Res. – 1994. – 9, N 1. – P. 133-141.

- Mizuno M. Sexual reproduction and auxospore formation of the marine monoraphid diatom *Cocconeis pelliculosa* // Ibid. – 1998. – 13, N 1. – P. 103-112.
- Mizuno M., Okuda K. Seasonal change in the distribution of cell size of *Cocconeis scutellum* var. *ornata* (*Bacillariophyceae*) in relation to growth and sexual reproduction // J. Phycol. – 1985. – 21, N 4. – P. 547-553.
- Roshchin A.M., Chepurinov V.A. Dioecy and monoecy in the pennate diatoms (with reference to the centric taxa) // 14th Intern. Diatom Symp., 1996. – Koenigstein: Koeltz Sci. Books, 1999. – P. 241-261.
- Round F.E., Crawford R.M., Mann D.G. The diatoms. Biology and morphology of the genera. – Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1990. – 747 p.
- Schmid A.-M.M. Sexual reproduction in *Coccinodiscus granii* Gough in culture: a preliminary report // Proc. 13th Intern. Diatom Symp., Maratea, Italy, 1-7 Sept. 1994. – Bristol: Biopress Ltd, 1995. – P. 139-159.
- Steele R.L. Induction of sexuality in two centric diatoms // Bioscience. – 1965. – 15, N 4. – P. 298.
- Stickle A.J. *Mastogloia smithii* has a method of sexual reproduction hitherto unknown in raphid diatoms // Diatom Res. – 1986. – 1, N 2. – P. 271-282.
- Stosch H.A. Die Oogamie von *Biddulphia mobilienis* und die bisher bekannten Auxosporenbildungen bei den Centrales // Rap. 8th Congr. Intern. de Bot. – 1954. – S. 58-68.
- Stosch H.A. Kann die oogame Araphidee *Rhabdonema adriaticum* als Bindeglied zwischen den beiden grossen Diatomeengruppen angesehen werden? // Ber. Dtsch. Bot. Ges. – 1958. – 71, N 6. – S. 241-249.
- Wiese L. Algae // Fertilisation. Comparative morphology, biochemistry, and immunology. Vol. 2 / Ed. by C.B. Metz and A. Monroy. – London; New York: Acad. Press, 1969. – P. 169-188.

Получена 02.12.04

Подписала в печать Н.П. Масюк