УДК 581.522

**И.Ю. КОСТИКОВ, О.В. ТИЩЕНКО**

Киевский национальный ун-т им. Тараса Шевченко, кафедра ботаники,
01033 Киев, ул. Владимирская, 64, Украина

# ОРТОТРОПНЫЙ РОСТ ТАЛЛОМОВ *CHARA* CF. *GLOBULARIS* THUILL. (*CHAROPHYCEAE*) В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ В УСЛОВИЯХ ПОЧВЕННОЙ КУЛЬТУРЫ

При проращивании в почвенной культуре протонемы и гаметофитов мхов при влажности почвы 100 % в двух пробах обнаружены два клона *Chara* cf. *globularis* Thuill. с развивающимися в воздушной среде ортотропными талломами. Ранее для представителей *Charales* способность к образованию в воздушной среде ортотропных опорних нитей (т.н. стеблей) не отмечалась. Данное явление может представлять определенный интерес в связи с вопросом об эволюции водорослей-стрептофитов и их связи с высшими наземными растениями.

*Ключевые слова*: наземные водоросли, почвенные культуры, *Chara*, ортотропный рост.

## Введение

Водоросли порядка *Charales* (*Chlorophyta*) достаточно широко представлены в бентосе континентальных водоемов (в первую очередь пресноводных озер) и приморских солоноватоводных и соленых лиманов (Голлербах, 1977). Они зарегистрированы на всех континентах, кроме Антарктиды (Krause, 1997). Порядок *Charales* вместе с *Mesostigmatales*, *Chaetosphaeridiales*, *Chlorokybales*, *Klebsormidiales*, *Coleochaetales*, *Zygnematales* и *Desmidiales* образует монофилетическую группу т.н. водорослей-стрептофитов.

По комплексу фенотипических признаков или хотя бы некоторым признакам – асимметричному цитоскелету монадных стадий, цитокинезу при участии фрагмопласта, открытому типу митоза, наличию пероксисом, ассоциированных с ядром, хлоропластом или митохондрией, ультраструктуре плазмодесм, водоросли-стрептофиты сходны с высшими наземными растениями (Pickett-Heaps, 1972; Stewart, Mattox, 1975; Bold, Wynne, 1985, Cook et al., 1997; Массальський, 2002; и др.). Родственные связи этих двух групп подтверждаются также сходством нуклеотидных последовательностей ряда РНК-кодирующих и белок-кодирующих маркерных генов, в первую очередь 18S и 28S rDNA и rbcL (Ragan, 1994; Kranz et al., 1995; Bhattacharya, Medlin, 1998; и др.).

Учитывая молекулярно-филогенетические данные, можно предположить, что предковая группа водорослей-стрептофитов, либо предковая группа одного из

порядков стрептофитов, либо даже один из рецентн ых порядков данной группы является также предком высших наземных растений (Kranz et al., 1995; Kenrick, Crane, 1997; Soltis et al., 1999; Turmel et al., 2002; Petersen et al., 2006; и др.).

Согласно молекулярно-генетическим данным, которые в целом согласуются с геологической летописью, древнейшим среди рецентных порядков стрептофитов считается *Charales*. В современной литературе даже высказывалась идея о том, что именно *Charales* может быть предковой группой высших растений (Karol et al., 2001; Soltis D., Soltis P., 2003). Эта гипотеза частично подтверждается результатами анализа полных митохондриальных геномов водорослей - стрептофитов и наземных высших растений ( Turmel et al., 2003).

Против данной гипотезы имеется три аргумента. Во-первых, недостаточная либо неоднозначная бутстреп-поддержка харальных как "базальной" группы высших растений по результатам анализа ряда ядерных и пластидных генов (Kenrick, Crane, 1997; Soltis, Soltis, 2000; Turmel et al., 2002; и др.). Во вторых, высокая морфологическая специал изация вегетативного тела харальных и их органов полового размножения (Голлербах, 1977; Graham et al., 1991). В третьих, отсутствие у видов данного порядка физиологически детерминированной способности к росту во вневодной среде (Kenrick, Crane, 1997). Во вневодных условиях (например, при пересыхании водоемов) харальны е, как и прочие растения-гидратофиты, не сохраняют ортотропную ориентацию восходящих частей тела, в первую очередь систем опорных нитей (т.н. стеблей), присущую им в водной среде. При попадании в воздушную среду талломы харальных прекращают рост и гибнут.

Однако при изучении в условиях почвенной культуры некоторых мхо в нами были зафиксированы два случая образования ортотропных талломов у харальной водоросли именно в воздушной среде.

**Материалы и методы**

Ортотропные талломы *Chara* cf. *globularis* Thuill. были случайно обнаружены в двух нестерильных почвенных культурах, в которых выращивались образцы бриевых мхов. В первую культуру (далее – культура № 1) 20.12.04 были высажены два вида мхов – *Sanionia georgicouncinata* (Müll. Hal.) Ochyra & Hedenäs и *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb., отобранные 25.02.04 на северном побережье о -ва Галиндез в окрестностях украинской антарктической станции "Академ ик В.И. Вернадский" (Антарктика). Во вторую культуру (далее – культура № 2) 12.07.05 был высажен бриевый мох *Brachythecium oedipodium* (Mitt.) A. Jaeger, отобранный 09.07.05 на территории национального природного парка "Гуцульщина" (Ивано-Франковская обл., Украина).

Мхи были высажены в прозрачные пластиковые пищевые стаканы емкостью 0,5 л, на 70 % заполненные нестерильной субстратной почвой. Субст -

ратная почва представляла собой коммерческую универсальную почвенную смесь производства Авиационного научно-технического комплекса им. О.К. Антонова (Киевская обл., Киево-Святошинский р-н, с. Круглик), предназначенную для выращивания сельскохозяйственных и декоративных культур, в частности, овощей и цветов. Смесь состояла из торфа, гумуса и имела следующие характеристики: pH водной вытяжки – 6,9; pH солевой вытяжки – 7,1; содержание $N\text{-}NH_4$ – 0,72 мг/100 г почвы; $P_2O_5$ – 96,2 мг/100 г; $K_2O$ – 62,5 мг/100 г, меди – 5,0 мкг/кг; цинка – 22,0; свинца – 2,5; кадмия – 0,1; ДДТ – 0,0091; ГХЦГ – 0,00058; Cs – 137 мкг/кг, зольность – 11,7 %, радиоактивность – 10 Бк/кг.

После высадки мхов в пластиковые стаканы субстрат увлажняли до 100 % отстоянной водопроводной водой. Далее для предотвращения развития патогенных грибов почву обрабатывали неспецифичным фунгицидом Фундазол 50 З.П. (Агро-Кеми КФТ, Венгрия, действующее вещество – 50 % беномил). Для обеспечения 100 %-й влажности воздуха стаканы упаковывали в полиетиленовые пакеты с пластмассовыми замками многоразового использования и экспонировали на окне северной экспозиции при естественном освещении и комнатной температуре до октября 2007 г.

Периодически (1-2 раза в неделю) полиэтиленовые пакеты открывали, субстрат и мхи опрыскивали из пульверизатора дистиллированной водой до полного увлажения почвы. Свободную гравитационную воду (во избежание переувлажения культур) из стаканов сливали, пакеты закрывали, и культуры продолжали экспонировать на том же окне.

В течение первого полугодия после высадки мхов культуры ежемесячно просматривали под бинокуляром, отбирая при этом единичные талломы для лабораторных исследований. Более старые культуры до момента обнаружения харовых водорослей просматривали один раз в полгода, после обнаружения – ежемесячно. Наблюдения за культурами проводили до октября 2007 г.

Результаты наблюдений документировали фотографиями, выполненными в режиме макросъемки фотоаппаратом Olympus, а также микрофотографиями, выполнеными на бинокулярном микроскопе МБС-10, оснащенном фотокамерой Olympus и микроскопах БИОЛАМ Р-14 и CE XY serias с фотокамерами Olympus и Canon Powershoot G6, подключенными к ПК.

**Результаты и обсуждение**

При просмотре почвенных культур 22.09.06 в культуре № 1, где выращивались собранные в Антарктике бриевые мхи *Sanionia georgicouncinata* и *Pohlia nutans* (возраст культуры 21 мес), среди мохообразных обнаружен один клон *Chara* sp., рост которого продолжался до момента прекращения наблюдений в октябре 2007 г. (рис. 1). В культуре № 2, где выращивали собранный в Украине бриевый мох *Brachythecium oedipodium* в этот период, кроме представителей

данного вида, других растений не обнаружено. Но в феврале 2007 г. в культуре № 2 (возраст культуры 19 мес) был обнаружен один клон *Chara* sp. Морфологически он был подобным клону *Chara* sp. из культуры № 1 в момент его обнаружения. Этот клон также продолжал рост до момента прекращения наблюдений в октябре 2007 г. (рис. 2), после чего был извлечен из культуры и гербаризирован. Образец сохраняется в Гербарии Киевского нац. ун-та им. Т. Шевченко (KWU).

Рис. 1. Ортотропные стебли *Chara* cf. *globularis* в почвенной культуре антарктических мхов (возраст культуры 30 мес.)

Оба клона хары в момент обнаружения состояли из нескольких (16 в культуре № 1 и 4 в культуре № 2) небольших членисто-мутовчатых восходящих стеблей с листьями, отрастающими от одной общей системы стелющихся ризоидальных подземных нитей.

Восходящие части таллома имели вид небольших умеренно кустистых зеленых не инкрустированных известью прямых или слегка изогнутых на верхушке растений. Диаметр стеблей составлял 370-450 мкм, длина междоузлий – от 4,6 мм у вершины до 7 мм у основания.

Стеблевые междоузлия были покрыты трехполосной корой с равновеликими по диаметру первичными и вторичными коровыми трубками с сильно редуцированными шипами в виде округлых клеток. Каждый стеблевой узел имел

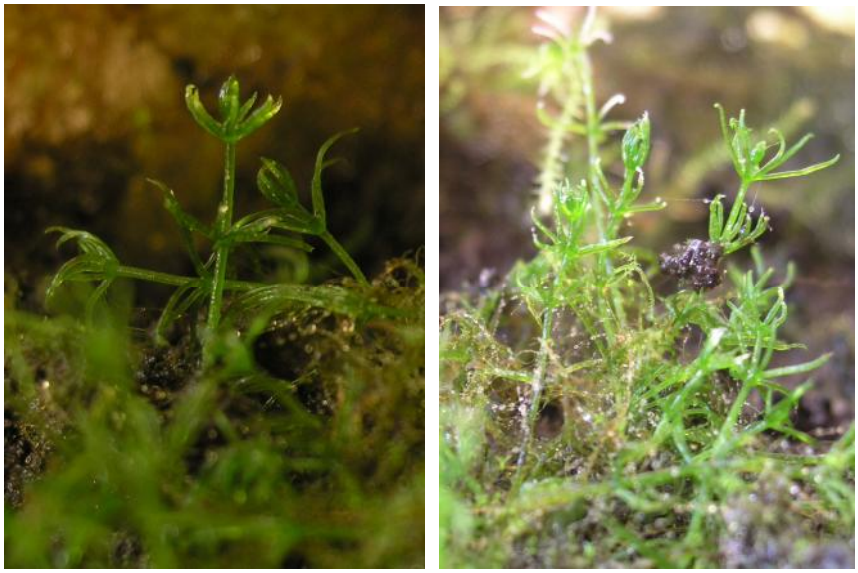

Рис. 2. Ортотропные стебли *Chara* cf. *globularis* в почвенной культуре мхов, отобранных в национальном природном парке "Гуцульщина" (возраст культуры 22 мес.)

(6) 7 (8) распростертых листьев. Листья состояли из 6-7 члеников, покрытых корой, и 1-2 голых верхушечных члеников с короткой конусовидной заостренной апикальной клеткой. На ризоидной части талломов присутствовали крупные слабо окрашенные простые клубеньки. Половые органы от момента обнаружения водоросли в сентябре 2006 г. до окончания наблюдений за ней в октябре 2007 г. отсутствовали.

По большинству морфологических признаков (толщина стеблей, длина листьев и междоузлий, тип и морфология коры, прилистников, листьев, апикальной клетки листа, количество листовых члеников, покрытых корой и голых, морфология листочков на стерильных узлах) талломы обоих обнаруженных в культурах экземпляров соответствовали описанию однодомного вида *Chara globularis* Thuill. 1799 (синоним – *Ch. fragilis* Desvaux in Loiseleur-Deslongchamps 1810) (Krause, 1997; Голлербах, Красавина, 1983). Данные экземпляры также напоминали двудомный вид *Ch. fragifera* Durieu de Maisonneuve 1859, отличаясь от него соотношением длины междоузлий и листьев, меньшим числом листовых члеников и наличием простых, а не сложных клубеньков. Более точное определение вида, без наличия половых органов и ооспор, провести не удалось.

Наиболее существенными отклонениями от описаний как *Ch. globularis*, так и *Ch. fragifera* были небольшая высота талломов и наличие более коротких листьев. Так, в момент первого обнаружения (сентябрь 2006 г.) максимальная высота стеблей составляла около 1,8 см в первой культуре и 1 см во второй. Через

год – в октябре 2007 г., отдельные талломы в культурах № 1 и № 2 имели высоту 4,7 и 5 см соответственно, достигнув нижнего лимита длины стебле й *Ch. fragifera* (5 см), но не *Ch. globularis* (10 см)[1].

Максимальная длина листьев в обеих культурах в момент обнаружения составляла около 5 мм и была вдвое меньше нижнего лимита – 10 мм (длины листьев *Ch. globularis* и *Ch. fragifera*). В октябре 2007 г. отдельные листья достигли длины 1 см и стали соответствовать нижнему лимиту длины листьев *Ch. globularis* и *Ch. fragifera*. Количество стеблей в обоих клонах увеличилось более чем в три раза, причем в культуре № 1 клон частично фрагментировался и дал начало трем новым индивидам (клонам). Каждый новый к лон имел 2-4 стебля высотой 1-1,5 см. Таким образом, в воздушной среде хара не только сохраняла в течение 9-12 мес ортотропную ориентацию стеблей, но также росла и вегетативно размножалась.

Как само появление, так и дальнейший рост хары происходил параллельно с появлением в культуре новых видов мхо в и их последующим развит ием, при этом мхи оказывали влияние на способность хары к ортотропному росту.

Так, в культуре № 1 в сентябре 2006 г. помимо *Chara* cf. *globularis* были обнаружены виды бриевых мхов, отсутствующие в исходном посадочном материале: *Leptobryum pyriforme* (Hedw.) Wilson и *Phycomitrium eurystomum* Sendth. При этом ортотропные стебли *Chara* cf. *globularis* росли среди ортотропных гаметофоров ювенильных особей *L. pyriforme* и превосходили их по высоте. Мхи *Sanionia georgicouncinata* и *Pohlia nutans*, которые были исходными объектами культивирования, выглядели угнетенными и были представлены всего несколькими слабо развитыми гаметофорами. К февралю 2007 г. гаметофоры *L. pyriforme* сильно разрослись и тесно переплелись со стеблями *Chara* cf. *globularis*; на гаметофорах *Ph. eurystomum* начали образовываться молодые спорогоны, а гаметофоры антарктических мхов *S. georgicouncinata* и *P. nutans* отмерли. В апреле 2007 г. гаметофоры *Leptobryum pyriforme* превзошли по высоте стебли *Chara* cf. *globularis*. Надземные органы обоих видов образовали плотную куртину, верхняя часть которой была представлена подушковидным ярусом из гаметофоров лептобриума, нижняя часть – сплетением разросшихся талломов хары. В культуре также наблюдались дозревшие спорогоны *Ph. eurystomum*. Такая структура куртины сохранилась до момента прекращения наблюдений в октябре 2007 г.

В культуре № 2 до сентября 2006 г. наб людался только исходный мох *Brachythecium oedipodium*. В феврале 2007 г. в культуре был обнаружен маленький клон *Chara* cf. *globularis*, представленный четырьмя ортотропными побегами; поверхность почвы была покрыта нитями протонемы *L. pyriforme*. Основной

[1] Нижние лимиты размеров *Chara globularis* и *Ch. fragifera* приведены по В. Краузе (Krause, 1997).

объект культивирования *B. oedipodium* выглядел угнетенным. Два месяца спустя протонема *L. pyriforme* сформировала плотный войлок на поверхности почвы, образовав около 20 ортотропных гаметофоров высотой до 5 см, и начала прорастать в нижние части стеблей водоросли. Для предотвращения артефактов при дальнейших наблюдениях роста ортотропных стеблей хары большую часть протонемы и часть гаметофоров мха вокруг таллома водоросли механически удалили. С апреля по октябрь 2007 г. в результате прямых наблюдений за ростом стеблей на участках, заросших гаметоформи мха и свободных от них, было установлено, что без опоры на ортотропные гаметофоры *L. pyriforme* большинство стеблей *Chara* cf. *globularis* не сохраняют ортотропной ориентации. Такие стебли наклоняются, ложатся на грунт и растут плагиотропно, достигая длины до 5 см. Однако отдельные стебли, высота которых не превышает 2 см, сохраняют вертикальную ориентацию, продолжая расти ортотропно.

Источником диаспор *Chara* cf. *globularis* в почвенных культурах мхов Антарктики (культура № 1) и умеренных широт (культура № 2) с высокой вероятностью является нестерильная субстратная почва. Об этом свидетельствуют морфологическое подобие хары в культурах № 1 и № 2 и доминирующий вид мха-контаминанта *L. pyriforme*. На сегодняшний день не только *Chara* cf. *globularis*, но и какой-нибудь другой вид данного рода не зарегистрирован в Антарктике (Pankow et al., 1991). Аналогично, космополитный вид *L. pyriforme* в природных условиях в Антарктиде также достоверно не найден, за исключением геотермальной почвы о-ва Десепшн (Lewis Smith, 1984a, b, 2005). В то же время, он с высокой частотой регистрируется в умеренных широтах Северного и Южного полушарий как в природном материале, так и в почвенных культурах (Ochyra, Tyshchenko, 2006). Таким образом, обнаруженная в почвенных культурах *Chara* cf. *globularis*, по всей вероятности, является контаминантом с природным локалитетом в окресностях с. Круглик Киево-Святошинского р-на Киевской обл.

Однако наиболее удивительным является то, что этот контаминант, принадлежащий к порядку *Charales*, представители которого считаются исключительно облигатными гидатофитами[2], не только выживал во вневодных условиях, но при этом размножался и рос. Более того, молодые стебли в воздушной среде, хотя и насыщенной парами воды, росли ортотропно, подобно абсолютному большинству высших наземных растений.

Авторы данного сообщения не являются сторонниками гипотезы о *Charales* как предковой группе высших растений. Но тот факт, что среди харальных водорослей, по крайней мере, один из видов проявляет себя не только как гидатофит, но и как факультативный гигрофит, дает основания усомнится в обоснованности использования приуроченности представителей *Charales* к

[2] Термины "гигрофит" и "гидатофит" принимаются в трактовке, изложенной И.И. Дедю (1990).

водным биотопам в качестве одного из надежных аргументов против гипотезы о возможном происхождении высших наземных растений от данной группы водорослей-стрептофитов. Рассмотренный выше необычный случай ортотропного роста *Chara* cf. *globularis* в почвенных культурах свидетельствует о том, что при определенных условиях харальные водоросли в при нципе могли выходить на сушу и, по крайней мере, кратковременно произрастать в биотопах, где произрастают пойкилогидроидные гигрофиты, принадлежащие к высшим растениям.

**Благодарности**

Авторы искренне признательны к.б.н. В.М. Вирченко (Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины) за помощь в определении мхов.

*I.Yu. Kostikov, O.V. Tyshchenko*

Department of Botany, Taras Shevchenko Ki ev National University,
64, Volodymyrska str., 01033 Kiev, Ukraine

*CHARA* CF. *GLOBULARIS* (*CHAROPHYCEAE*) THUILL. ORTHOTROPIC GROWTH UNDER AIR ENVIRONMENT AT THE SOIL CULTURE CONDITIONS

Two clones of *Chara* cf. *globularis* Thuill. with orthotropic thalli were found in mosses protonemas and gametophytes cultures under air conditions and 100 % soil moisture capacity. The orthotropic ascending filaments formation of *Charales* representatives in terrestrial envinronment was not registered before. This fact may be interesting in consideration with land plants origin clarification and their relationships with streptophyte algae.

*K e y w o r d s* : terrestrial algae, soil cultures, *Chara*, orthotropic growth.

*Голлербах М.М.* Отдел харовые водоросли (*Charophyta*) // Жизнь растений. – М.: Просвещение, 1977. – Т. 3 – С. 338-351.

*Голлербах М.М., Красавина Л.К.* Определитель пресноводных водорослей СССР. Вып. 14. Харовые водоросли – *Charophyta*. – Л.: Наука, 1983. – 190 с.

*Дедю И.И.* Экологически энциклопедический словарь. – Кишинев: Гл. ред. МСЭ, 1990. – 408 с.

*Массальський А.-К.Е.* Ультраструктурні дослідження водоростей та продуктів їх секреції в розвитку сучасних таксономічних та гідробіологічних концепцій : Дис. д-ра біол. наук. – Кельце; Київ, 2002. – 229 с.

*Bhattacharya D., Medlin L.* Algal phylogeny and the origin of land plants // Plant Physiol. – 1998. – **116**. – P. 9-15.

*Bold H.C., Wynne M.J.* Introduction to the algae. Structure and reproduction. – New York: Prent. Hall, Engew. Cliffs, 1985. – 720 p.

*Cook M.E., Graham L.E., Botha C.E.J., Lavin C.A.* Comparative ultrastructure of plasmodesmata of *Chara* and selected bryophytes: toward an elucidat ion of the evolutionary origin of plant plasmodesmata // Amer. J. Bot. – 1997. – **84**, N 9. – P. 1169-1178.

*Graham L.E., Delwiche C.F., Mishler B.D.* Phylogenetic connections between the 'green algae' and the 'bryophytes' // Adv. Bryol. – 1991. – **4**. – P. 213-244.

*Karol K.G., McCourt R.M., Cimino M. T., Delwiche C.F.* The closest living relatives of land plants // Science. – 2001. – **294**. – P. 2351-2353.

*Kenrick P., Crane P.R.* The origin and early evolution of land plants // Nature. – 1997. – **389**. – P. 33-39.

*Kranz H.D., Miks D., Siegler M.-L. et al.* The origin of land plants: phylogenetic relationships among charophytes, bryophytes and vascular plants i nfered from complete small-subunit ribosomal RNA gene sequences // Mol. Evol. – 1995. – **41**. – P. 74-84.

*Krause W. Charales* (*Charophyceae*). – Jena, etc.: Gustav Fischer, 1997. – 202 S. – (Süβwasserflora von Mitteleuropa, Bd. 18.)

*Lewis Smith R.I.* Colonization and recovery by cryptogams following recent volcanic activity on Deception Island, South Shetland Islands // B rit. Antarc. Surv. Bull. – 1984a. – **62**. – P. 25-51.

*Lewis Smith R.I.* Colonization by bryophytes following recent volcanic activity on an Antarctic island // J . Hatt. Bot. Labor. – 1984b. – **56**. – P. 53-63.

*Lewis Smith R.I.* The bryophyte flora of geothermal habitats on Deception Island, Antarctica // Ibid. – 2005. – **97**. – P. 233-248.

*Ochyra R., Tyshchenko O.* New national and regional bryophyte records. *Leptobryum pyriforme* (Hedw.) Wilson // J. Bryol. – 2006. – **28**. – P. 151.

*Pankow H., Haendel D., Richter W.* Die algenflora der Schirmacheroase (Ostantarktika) // Beih. Z. Nova Hedw. – **103**. – 1991. – S. 1-197.

*Petersen J., Teich R., Becker B. et al*. The GapA/B gene duplication marks the origin of *Streptophyta* (charophytes and land plants) // Mol. Biol. Evol. – 2006. – **23**, N 6. – P. 1109-1118.

*Pickett-Heaps J.D.* Variation in mitosis and cytokinesis in plant cells: its significance in the phylogeny and evolution of ultrastructural systems // Cytobios. – 1972. – **5**. – P. 59-77.

*Qiu Y.-L., Palmer J.D.* Phylogeny of erly land plants: insights from genes and genomes // Trends in Plant Sc i. – 1999. – **4**, N 1. – P. 26-30.

*Ragan M.A.* 18S ribosomal DNA sequences indicate a mono phyletic origin of *Charophyceae* // J. Phycol. – 1994. – **30**. – P. 490-500.

*Soltis D.E., Soltis P.S.* Contribution on plant molecular systematics to studies of molecular evolution // Plant Mol. Biol. – 2000. – **42**. – P. 45-75.

*Soltis D.E., Soltis P.S.* The role of phylogenetics in comparative genetics // Plant Physiol. – 2003. – **132**. – P. 1790-1800.

*Soltis P.S., Soltis D.E., Wolf P.G. et al*. The phylogeny of land plants inferred from 18S rDNA sequences: pushing the limits of rDNA signal? // Mol. Biol. Evol. – 1999. – **16**, N 12. – P. 1774-1784.

*Stewart K.D., Mattox K.R.* Comparative cytology, evolution and class ification of the green algae with some consderation of the origin of other orga nisms with chlorophylls *a* and *b* // Bot. Rev. – 1975. – **41**. – P. 104-135.

*Turmel M., Ehara M., Otis C., Lemieux C.* Phylogenetic relationships among streptophytes as inferred from chloroplast small and large subunit rDNA gene sequences // J. Phycol. – 2002. – **38**. – P. 364-375.

*Turmel M., Otis C., Lemieux C.* The mitochondrial genome of *Chara vulgaris*: insights into the mitochondrial DNA architecture of the last common ancestor of gr een algae and land plants // Plant Cell. – 2003. – **15**. – P. 1888-1903.

Получена 10.12.07

Подписал в печать П.М. Царенко