

# ИЗУЧЕНИЕ ЖИЗНЕННЫХ ЦИКЛОВ И РЕПРОДУКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ДИАТОМОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ В КАРАДАГСКОМ ПРИРОДНОМ ЗАПОВЕДНИКЕ: ИСТОРИЯ ВОПРОСА, РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В. А. Чепурнов

*Карадагский природный заповедник НАН Украины*

Д. Д. Манн, профессор

*Королевский Ботанический Сад, Эдинбург, Великобритания*

## Предисловие

Трудно преувеличить экологическое и практическое значение, которое имеют микроскопические растения, объединяемые общим названием *диатомовые водоросли*. Большой интерес проявляется к ним и со стороны учёных. Эта группа одноклеточных фотосинтезирующих организмов доминируют в планктоне наиболее продуктивных частей Мирового океана и, как предполагается, усваивает приблизительно 20 миллиардов тонн углерода в год. По показателю ежегодной утилизации углерода они превосходят все вместе взятые тропические леса нашей планеты и, более чем в пять раз, хвойные леса умеренного и полярного регионов (Nelson *et al.*, 1995; Field *et al.*, 1998). Диатомовые играют ключевую роль в поддержании мирового рыбного промысла и являются наиболее важным биологическим звеном в биогеохимическом цикле кремния, благодаря своей способности к активному усвоению ортокремневой кислоты, накоплению обширного внутреннего фонда растворенного силиката с последующим отложением гидрата аморфного кремния в форме изящной и тонкоструктурированной оболочки-раковины, называемой *панцирем*. После отмирания клеток диатомовых, панцири многих из них растворяются в воде, однако огромное их количество все же сохраняется, оседая на дно озер, морей и океанов. Такие отложения хранят, как в архиве, свидетельства о водных и климатических условиях предыдущих эпох. На протяжении последних 30 лет данные, полученные при исследовании диатомовых осадков, очень успешно используются как источник детальной информации о загрязнении, эвтрофикации и подкислении, вызываемых деятельностью человека в «эпоху» Индустриальной революции (Flower & Battarbee, 1983; Jones *et al.*, 1986; Bennion, 1994; Stoermer & Smol, 1999). Сравнительно недавно особое внимание стало уделяться проблемам глобальных климатических изменений, связанных с возрастанием содержания углекислого газа в атмосфере. И, здесь, вновь диатомовые оказались важным источником информации о связях между составом атмосферы и глобальным климатом в прошлом Земли. Необходимая информация может быть получена через исследование либо океанических донных отложений, либо отложений соленых озер, где даже незначительные колебания в выпадении атмосферных осадков могут изменять баланс между «открытой» гидрологией (постоянным протоком пресной воды) и «закрытой» гидрологией (отсутствии какого-либо оттока). Уровень солености воды в таких водоемах может возрасть до морского и даже превосходить его.

Диатомовые водоросли также являются очень удобными стратиграфическими маркерами, особенно для океанических донных осадков (Глезер и др., 1974; Akiba, 1985; Akiba & Yanagisawa, 1985; Стрельникова, 1992), которые формировались на протяжении Третичного периода. Сведения о находках диатомовых в

ископаемом состоянии простираются назад во времени вплоть до Юрского периода Мезозойской эры, однако в массовом количестве остатки этих водорослей не встречаются вплоть до отложений Верхнего Мела.

Диатомовые были впервые описаны где-то на рубеже XVII и XVIII столетий. Краткое изложение истории их открытия представлено у Раунда с соавторами (Round *et al.*, 1990). Однако, только, приблизительно с 40-х годов XIX века наметились заметные сдвиги в притоке информации о диатомовых, что прежде всего было связано с улучшением качества и разрешающей способности световой микроскопической техники. Практически с самого начала тонко- и сложноструктурированный кремниевый панцирь клеток диатомовых отвлёк внимание исследователей от других, в равной степени важных и интересных аспектов, так что знание о цитологии, развитии, экологии, физиологии и биохимии диатомовых изначально отставало и до сих пор существенно отстаёт от уровня наших представлений об их морфологическом разнообразии, точнее о форме и структуре панциря.

Диатомовые водоросли рассматриваются многими альгологами-систематиками как класс (Bacillariophyceae) или, иногда, как отдел (Bacillariophyta) в пределах намного более обширной и крайне разнообразной группы, включающей в себя водоросли, простейших и грибы, известной в целом как Heterokontophyta или «stramenopiles». Данные о структуре молекул рибосомальной ДНК (18S rDNA) подтверждают, что Heterokontophyta представляют собой естественную группу (Cavalier-Smith & Chao, 1996), однако трудно вычленить морфологические признаки, которые могли бы характеризовать её в целом. При наличии жгутиков у её представителей, один жгутик обычно содержит два ряда жестких ворсинок (Leadbeater, 1989), функция которых заключается в увеличении силы толчка и маневренности организма в воде. Эти ворсинки имеют очень характерную и довольно сложную структуру. Маловероятно, что подобное «оперение» жгутиков могло возникнуть в процессе эволюции неоднократно и независимо в разных группах. У вегетативных клеток диатомовых жгутиков нет. Их имеют только мужские гаметы (сперматозоиды) у эволюционно более примитивных представителей этого класса водорослей. Другие группы организмов в пределах Heterokontophyta варьируют от простых жгутиконосцев до сложноорганизованных многоклеточных организмов (van den Hoek *et al.*, 1995). Сюда относятся Oomycetes, экономически важная группа грибов, паразитирующих на культурных растениях, несколько групп гетеротрофных амёб и жгутиконосцев, бурые водоросли (Phaeophyceae), а также другие группы водорослей, такие как золотистые (Chrysophyceae), ксантофициевые (Xanthophyceae), зустигматофициевые (Eustigmatophyceae), рафидофициевые (Raphidophyceae) и силикофлагелляты (Dictyochophyceae). Расчёты по данным анализа нуклеотидных последовательностей ДНК рибосом (18S rDNA), с использованием методов оценки скорости эволюции, позволяют предполагать, что фотосинтезирующие представители Heterokontophyta не могли появиться ранее, чем на временной границе между Пермием и Триасом (Medlin *et al.*, 1997). В истории Земли указанный период характеризуется крупным и все еще необъяснимым биотическим кризисом, сопровождавшимся вымиранием приблизительно 96% всех морских видов, населявших нашу планету в ту далекую эпоху. На протяжении Мезозойской эры Heterokontophyta становится доминирующей группой организмов во многих водных местообитаниях, резко возрастает ее разнообразие. Феномену «взрывной» эволюции Heterokontophyta уделено, однако, значительно меньшее внимание исследователей, чем, скажем, развитию покрытосеменных растений и млекопитающих на суше, стремительно происходившему в ту же самую историческую эпоху.

Базовая структура кремниевой оболочки (панциря) клетки диатомовой водоросли сходна фактически у всех известных видов диатомовых. Панцирь состоит из двух половинок, называемых *теками*. Одна из тек несколько больше, чем другая. Большая тека частично перекрывает меньшую. Каждая тека, в свою очередь, состоит из опорной пластинки, называемой *створка*, и некоторого количества узких образований, называемых *поясковые ободки*. Главным предназначением поясковых ободков является допущение роста клетки в течение клеточного цикла при одновременном поддержании целостности панциря. Данные о морфологии створок являются самой основной информацией, традиционно используемой систематиками при создании таксономических классификаций диатомовых водорослей. Существует два основных типа створок. Створки первого типа радиально симметричные, с ребрами и рядами пор, расходящимися от более или менее выраженной её центральной гиалиновой части. Диатомеи с такой мультиполярной организацией створок называются «*центрическими*». Во втором случае створки по форме и структуре напоминают перо, с ребрами и рядами пор, расходящимися либо от основного продольного ребра или узкой полоски, называемыми *стернум*. Диатомовые с подобным типом створки относятся к так называемым «*пеннатным*» формам. Створки пеннатных диатомовых, как правило, вытянуты и симметричны по продольной и поперечной осям. Многие пеннатные диатомовые имеют также особую органеллу, называемую *шов*. Благодаря наличию и функционированию системы шва, клетки способны к движению по субстрату. Такое движение напоминает ползание и осуществляется посредством секреции особых полисахаридов, выделяемых через щели в клеточной стенке. Эти и другие пеннатные диатомовые являются большей частью бентосными организмами, тогда как центрические формы преимущественно планктонными.

Данные молекулярной генетики и ископаемые находки показывают, что центрические диатомовые являются эволюционно более древней группой, чем пеннатные (Medlin *et al.*, 1993). Однако, в настоящее время пеннатные диатомовые, в сравнении с центрическими, шире распространены и содержат большее число родов и видов. В целом существует, вероятно, около 200 000 видов диатомовых (Mann & Droop, 1996), что делает их самой разнообразной из всех ныне известных групп водорослей. Современная таксономия диатомовых водорослей сильно запутана. Предположительно, обнаружено и описано лишь 10% от всех реально существующих видов.

Одним из принципиальных препятствий на пути прогресса в области изучения диатомовых водорослей, будь то фундаментальные исследования по систематике и эволюции, исследования их экологии, физиологии и биохимии, или прикладные работы с использованием диатомовых в экологическом мониторинге и палеоэкологических построениях — является наше недостаточное понимание их репродуктивной биологии. Базовая «схема» жизненных циклов диатомовых водорослей известна уже на протяжении более чем ста лет (MacDonald, 1869; Pfitzer, 1871). В течение вегетативной фазы циклов клетки от деления к делению постепенно уменьшаются в размерах (Round *et al.*, 1990; Роцин 1994а). Размер клеток, как правило, восстанавливается в результате полового процесса, через увеличение в объеме особых клеток, называемых *ауксоспорами*. Вегетативная фаза, которая может длиться несколько лет (Mann, 1988; Jewson, 1992), является диплоидной, и только гаметы гаплоидны, как у высших животных. Такая структура жизненного цикла крайне редка у водорослей в целом (Mann, 1993; van den Hoek *et al.*, 1995), однако сходна с циклами высших животных. На современном этапе мы все еще почти ничего не знаем о совместимости между различными популяциями, которые предположи-

тельно относятся к одному и тому же виду, или о том, существует ли репродуктивная изоляция популяций, которые морфологически отличаются друг от друга. Таким образом, на видовом уровне таксономия диатомовых водорослей находится на очень ненадежных основаниях. Это, в свою очередь, ставит под сомнение достоверность многих работ, выполненных на диатомовых водорослях, так как всегда важно определить, измерить и зафиксировать отдельные исследуемые особи (индивидуумы) как представителей конкретного вида. Для большинства видов нет даже самых общих сведений о способах их полового размножения, что тормозит становление и развитие такой области исследований, как генетика диатомовых водорослей (одно из немногих исключений — работа Wood *et al.*, 1987). Отсутствие информации о динамике и контроле жизненного цикла препятствует появлению гипотез и объяснений причин колебаний численности популяций и спектра размеров клеток в природе. Из-за отсутствия данных о жизненных циклах и системах скрещивания долговременное поддержание многих видов в культуре становится крайне затруднительным или просто невозможным.

### **Становление и развитие исследований жизненных циклов и репродуктивного поведения диатомовых водорослей на Карадаге (конец 60-х — середина 90-х годов)**

Одним из наиболее устойчивых и последовательных направлений научно-исследовательских работ на Карадаге в последние 30 лет является изучение разнообразных аспектов жизненных циклов диатомовых водорослей. Инициатором и основным исполнителем этих исследований на протяжении многих лет был старейший сотрудник нашей биостанции, кандидат биологических наук Алексей Михайлович Рошин. Перед поступлением на работу в Карадагское отделение Института Биологии южных морей АН УССР (прежнее название Карадагского природного заповедника НАН Украины) в 1968 году, А. М. Рошин закончил биологический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, со специализацией на кафедре физиологии растений. На этой же кафедре он окончил аспирантуру и защитил кандидатскую диссертацию. Поэтому не удивительно, что ранние работы с диатомовыми водорослями, которые он выполнял и возглавлял, во многом были связаны с изучением результатов физиологических реакций этих организмов на факторы окружающей среды (Рошин, 1972, 1973, 1976а; Рошин, Луценко, 1972).

Необходимым условием осуществления работ по изучению жизненных циклов одноклеточных микроорганизмов, включая диатомовые водоросли, является получение их клоновых культур, т. е. культур, которые представляют собой вегетативное потомство одной клетки, развивающееся в результате ее последовательных делений. Шаг за шагом, А. М. Рошин успешно осваивает и совершенствует методы получения и поддержания клоновых культур морских диатомовых, разрабатывает стратегию экспериментальных исследований.

Особое внимание при изучении биологии диатомовых водорослей, выполняемых на Карадаге, уделялось половому воспроизведению. Половой процесс является обязательным этапом жизненного цикла, если не у всех видов диатомовых водорослей, то, по крайней мере, у их подавляющего большинства (Geitler, 1932; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Mann, 1993). Помимо генетической рекомбинации и создания новых сочетаний генов (генотипов), к чему приводит половое воспроизведение у живых организмов в целом, его результатом у диатомовых является восстановление размеров клеток, постепенно утраченных в процессе их вегетативно-

го размножения путем митотических делений клеток надвое (см. Предисловие, а также Geitler, 1932; Drebes, 1977; Вассер, Бухтиярова, 1989; Round *et al.*, 1990; Роцин, 1994а и др.).

Характерным типом полового процесса у центрических диатомей является оогамия (von Stosch, 1954; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Роцин, 1994а). Одни клетки способны трансформироваться в оогонии, которые, в зависимости от вида, формируют одну или две яйцеклетки. Другие клетки преобразуются в сперматогонии. Каждый сперматогоний производит четыре одножгутиковых сперматозоида. Среди пеннатных диатомовых виды, производящие жгутиковые гаметы, не известны; их половой процесс гетерогамный (анизогамный) или изогамный (Geitler, 1932, 1973; Drebes, 1977; Round *et al.*, 1990; Роцин, 1994а). В гаметангиях формируются одна или две гаметы. Гаметы попарно сливаются и формируют клетку, содержащую два функциональных гаплоидных ядра, доставшихся ей от каждой из гамет. Эта клетка вскоре начинает расти за счет увеличения объема вакуоли. Слияние ядер, как правило, происходит либо на стадии «роста», либо по его завершении. Такая увеличивающаяся в объеме клетка и называется ауксоспорой (Round *et al.*, 1990). Процесс формирования ауксоспоры называется *ауксоспорообразованием*. Нередко под термином «ауксоспорообразование» подразумевается не только развитие самой ауксоспоры, но и половой процесс, предшествующий её появлению.

Сформировавшаяся ауксоспора трансформируется в новую вегетативную клетку, называемую *инициальной*, размер которой существенно, обычно в 2—3 раза и более, превосходит размер материнских клеток (см. Drebes, 1977; Роцин, 1994а). Линейный размер инициальных клеток (диаметр или апикальная длина клетки, в зависимости от формы створки) в пределах одного вида может варьировать в той или иной степени (Давидович, 1994; Nagai & Imai, 1997 и др.), однако в целом является довольно точной величиной (особенно значения, близкие к максимальным) и рассматривается как важный таксономический признак (Geitler, 1958, 1968, 1975; Mann, 19896; Mann *et al.*, 1999).

Инициальные клетки и клетки, появившиеся после немногих последовательных вегетативных делений инициальных клеток, не способны немедленно приступить к половому воспроизведению. Исключения из этого правила почти не известны и требуют особого рассмотрения (Кустенко, 1978; Roshchin & Cherpurnov, 1998; A.-M. Schmid, pers. comm.). Способность трансформироваться в гаметангии появляется у них лишь по достижению определенных, более мелких размеров. Это достигается путем постепенного измельчания клеток при их вегетативном размножении, что уже упоминалось выше, или благодаря резкому, скачкообразному уменьшению размеров, что, по-видимому, случается значительно реже (Geitler, 1932; Roessler, 1988; Kling, 1993; Роцин, 1994а). Диапазон размеров клеток, в пределах которого клетки способны переходить к половому процессу и, далее, к формированию ауксоспор и инициальных клеток, называется *размерным диапазоном ауксоспорообразования* (Роцин, 1994а).

Итак, основываясь на концептуальных положениях о жизненных циклах диатомовых водорослей и по мере накопления опыта культуральных работ, расширялся спектр видов, вовлекаемых в экспериментальную работу, и круг решаемых задач. В течение первых десяти лет объектами исследований служили клоновые культуры некоторых массовых видов центрических диатомей, выделенных из планктона в районе Карадага (Роцин, 1972, 1973, 1975, 1976а,б; Роцин, Луценко, 1972; Роцин и др., 1973). С конца 70-х годов объектами исследований становятся и пеннатные виды. Именно работа с клоновыми культурами пеннатных диатомовых стимулировала или, точнее сказать, вынудила обратиться к детальному изучению

еще одного аспекта репродуктивного поведения, к организации их систем скрещивания (breeding (mating) systems). Исследования в этом направлении и их результаты, по-видимому, явились наиболее существенным вкладом А. М. Рощина в развитие общих представлений о жизненных циклах и половом воспроизведении диатомовых водорослей.

Предыстория начала целенаправленных исследований систем скрещивания была следующей. Многочисленные наблюдения на природном материале и опыты в лабораторной культуре четко показывали, что диатомовые водоросли, будь то центрические или пеннатные, являются в подавляющем большинстве аллогамными организмами (Geitler, 1932, 1973; von Stosch, 1954; Drebes, 1977 и др.). Это значит, что при половом процессе происходит слияние гамет, сформировавшихся в разных гаметангиях. Случаи аутомиктического, партеногенетического и даже апомиктического формирования ауксоспор у диатомовых встречаются, но нечасто, и являются, по-видимому, модификациями базовых аллогамных типов полового процесса, оогами у центрических форм, анизогамии и изогамии у пеннатных (Drebes, 1977; Geitler, 1985; Round *et al.*, 1990).

Аллогамный половой процесс предполагает два возможных пути. Первый путь — это скрещивание двух клеток в пределах клоновой культуры. Традиционно такое поведение у диатомовых водорослей называется однодомным (см. обзоры Wiese, 1969; Drebes, 1977), по аналогии с высшими растениями, несущими мужские и женские генеративные органы на одном и том же растении и способными к самоопылению (Richards, 1997). Возможность внутриклонового спаривания клеток контрастирует с межклоновым скрещиванием (аутбридинг). Наиболее распространенная форма аутбридинга — это двудомность. Двудомность предполагает наличие организмов двух разных полов и допускает скрещивания лишь между разнополами особями.

Во второй половине 80-х годов, когда появились первые публикации А. М. Рощина, представляющие результаты исследования систем скрещивания (Рощина, 1986а, 1987), в мировой практике уже сложилось определенное представление об организации таких систем у диатомовых водорослей. Указывалось, что как центрические, так и пеннатные диатомеи в своем большинстве являются однодомными организмами (Wiese, 1969; Drebes, 1977). Встречались исключения из этого общего правила, и мы их рассмотрим немного позже. Общее представление об организации систем скрещивания у диатомовых водорослей базировалось, однако, на крайне немногочисленных работах, выполненных на очень немногих видах. Более того, это были не целенаправленные исследования этих систем, а лишь попутные наблюдения при изучении иных аспектов репродуктивного поведения.

Согласно концепции однодомности, получение полового процесса в клоновых культурах диатомовых не должно было бы вызывать особых проблем. Однако, если взглянуть на те немногочисленные работы, в которых исследовались клоны, особенно когда параллельно культивировалось несколько видов, то далеко не всегда и далеко не во всех клонах удавалось наблюдать ауксоспорообразование (Geitler, 1932; Wiedling, 1948; Locker, 1950). Можно также предположить, что неудачные попытки добиться перехода диатомовых к половому воспроизведению в клоновых культурах многими исследователями просто «не афишировались» в публикациях. Общая проблематика культивирования диатомовых может, по-видимому, быть характеризована фразой из Round *et al.* (1990), хотя и опубликована она была уже после выхода в свет первых работ А. М. Рощина, посвященных изучению систем скрещивания у пеннатных диатомовых, имеющих прямое отношение к этой проблематике: «Многие виды (р. s. диатомовых водорослей) легко растут, и они

часто «заражают» накопительные культуры других водорослей. С другой стороны, некоторые виды, по-видимому, имеют очень специфические потребности и их трудно культивировать, в то время как другие уменьшаются в размерах, но не переходят к формированию аукоспор; таким образом, не продуцируются новые крупные клетки и такие культуры отмирают. В этом, возможно, заключается причина редкости видов диатомовых в коллекциях культур водорослей. Существует еще очень много неизвестного в отношении циклов роста диатомовых в культурах...»

Первый из морских пеннатных видов, *Achnanthes longipes* Ag., выделенный А. М. Роциным из Черного моря и выращиваемый в клоновой культуре, оказался способным к внутриклоновому (однодомному) аукоспорообразованию (Роцин, 1984). В дальнейшем, однако, попытки получить однодомное воспроизведение у ряда других видов морских пеннат не принесли желаемого результата. Виды успешно размножались вегетативно, в том числе предположительно находясь в диапазоне размеров клеток пригодном для аукоспорообразования, но перехода к половому процессу не происходило. Попытки найти какие-либо внешние причины, препятствующие переходу клонов к формированию аукоспор, а именно манипуляции с условиями освещения, температуры и составом питательной среды также не приносили положительного результата. Такое «капризное» поведение культур серьезно нарушало ход запланированных экспериментальных работ и получение конкретных результатов, необходимых для подготовки полновесных научных публикаций. В 1984 году А. М. Роцин за свои научные «неудачи» был подвергнут даже административному взысканию (временное понижение в должности), однако к тому времени уже наметился выход из сложившейся кризисной ситуации...

Итак, одним из видов, упорно не желавших переходить к аукоспорообразованию в клоновых культурах был *Licmophora ehrenbergii* (Kütz.) Grun., относящийся к группе так называемых *бесшовных* пеннатных диатомей. Эта группа характеризуется отсутствием шва на створках их панцирей. Остальные виды пеннатных диатомовых имеют шов и объединяются под названием *шовные*. В различных таксономических системах бесшовным и шовным диатомовым водорослям обычно дается статус порядков (Глезер и др., 1988) и даже классов (Round *et al.*, 1990). Первые работы по исследованию популяции *L. ehrenbergii*, населяющей прибрежные участки моря у Карадага выполнялись в 1983 и 1984 годах. Результаты изучения размерной структуры этой популяции на протяжении нескольких месяцев позволяли предположительно определить сроки активного перехода к половому воспроизведению: весной в пробах в массе появлялись клетки, которые по размеру соответствовали или были близки к самым крупным клеткам, известных для вида из различных определителей диатомовых водорослей (Роцин, 1986а). Клетки *L. ehrenbergii* хорошо размножались в накопительных культурах путем деления и периодически можно было даже наблюдать формирование аукоспор и инициальных клеток. Хорошо росли и клоны этого вида, начатые с клеток, изолированных из тех же накопительных культур, только вот перехода к половому процессу в них не наблюдалось, хотя чашки Петри с клонами и накопительными культурами размещались «бок о бок» на полках инкубаторной комнаты. Более того, измерение клеток-гаметангиев *L. ehrenbergii* из накопительных культур показали, что клетки полученных клонов определенно находятся в размерном диапазоне аукоспорообразования. Однако все же удалось найти решение, которое позволило выйти из сложившейся «тупиковой» ситуации и предопределило ход дальнейших работ. Как уже было упомянуто выше, однодомность рассматривали как основное поведение при скрещиваниях у диатомовых водорослей. Были найдены и исключения из этого правила. Среди пеннатных диатомовых к таким исключениям относились

два вида, *Rhabdonema adriaticum* Kütz. *Grammatophora marina* (Lyngb.) Kütz., у которых была обнаружена двудомность (von Stosch, 1958a; von Stosch & Drebes, 1964; см. также Rozumek, 1968; Drebes, 1977; Рошин, 1994a). Оба упомянутых вида, как и *L. ehrenbergii* являются представителями группы бесшовных пеннатных диатомовых. А. М. Рошин обратил внимание на тот факт, что *R. adriaticum* и *G. marina* оказались едва ли не единственными представителями этой группы, у которых половое воспроизведение исследовалось при работе с клоновыми культурами. Попытка провести межклоновые скрещивания была предпринята у *L. ehrenbergii*. Такой методический подход принес столь ожидаемый результат: в смешанных посевах клонов появились ауксоспоры, которые формировались после аллогамного полового процесса обязательно при участии двух клеток разных клонов. Скрещивания между клетками различных клонов происходили, однако, не во всех возможных их сочетаниях. Анализ результатов скрещиваний показал, что у *L. ehrenbergii*, как и в случаях с *R. adriaticum* и *G. marina* мы опять-таки столкнулись с двудомностью, т. е. существованием двух полов. Каждый из исследованных клонов облигатно относился к одному или другому полу. Переход к половому процессу происходил только в смешанных посевах разнополых клонов.

Таким образом, *L. ehrenbergii* оказался третьим видом пеннатных диатомовых водорослей у которых была обнаружена двудомность, но, пожалуй, первым среди видов у которых двудомность была исследована столь детально и целенаправленно (Рошин, 1986a, 1989a; Рошин, Чепурнов, 1994). Очередное обнаружение двудомности уже не выглядело исключительным. Дальнейшие исследования репродуктивного поведения пеннатных диатомовых, выполненные на Карадаге, были уже связаны с запланированным поиском двудомности. Такая стратегия полностью себя оправдала. У всех впоследствии изученных морских пеннатных видов, обладающих аллогамным типом полового процесса была найдена двудомность, и причем не только у бесшовных, но и шовных форм. Помимо *L. ehrenbergii* облигатно двудомными оказались бесшовные виды *Licmophora abbreviata* Ag., *Striatella unipunctata* (Lyngb.) Ag. (Чепурнов, см. Рошин, 1994a), а также шовные виды *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar. et Kar. (Рошин, 1991, 1994a; Чепурнов, 1993) и *Nitzschia longissima* (Bréb.) Ralfs (Чепурнов, см. Рошин, 1994a). Однако не все из исследованных пеннатных форм оказались строго двудомными. Было установлено, что некоторые виды способны сочетать аутбридинг в форме двудомности и инбридинг в его крайнем проявлении — однодомности. «Однодомно-двудомными» оказались бесшовные формы *Tabularia tabulata* (Ag.) Snoeijls (= *Synedra tabulata*) (Рошин, 1987, 1989b) и *Fragilaria delicatissima* Pr.-Lavr. (Рошин, 1994a), а также шовные *Navicula pennata* var. *pontica* Mer. (Рошин, 1994a) и *Nitzschia lanceolata* W. Sm. (Рошин, 1990a, 1994a). Следует отметить, что при межклоновых скрещиваниях у однодомно-двудомных видов переход клеток к половому воспроизведению носил, как правило, массовый характер, тогда как во внутриклоновое ауксоспорообразование обычно вовлекались лишь очень немногие индивидуумы.

Среди морских пеннатных видов с аллогамным типом полового процесса, исследованных в нашей лаборатории к началу 90-х годов, лишь один *Achnanthes longipes* оказался в полном одиночестве в том смысле, что у него была известна только однодомность. Повторное исследование этой водоросли с изучением результатов межклоновых скрещиваний показало, что и она способна не только к однодомному, но и к двудомному воспроизведению (Рошин, 1994b). Более того, встречались клоны, которые были способны скрещиваться с клонами обоих полов, т. е. вели себя как обоеполые. Некоторые из обоеполых клонов могли одновременно воспроизводиться однодомно. Пример *A. longipes* показал, что разнообра-

зие в организации систем скрещиваний у пеннатных диатомей не ограничивается лишь однодомностью, чистой двудомностью или их сочетанием в пределах одного вида (Роцин, 1994б; Shepurnov & Roshchin, 1995; Shepurnov & Mann, 1997, 1999).

В свете результатов исследования репродуктивного поведения пеннатных диатомовых при работе с их клоновыми культурами, естественным образом возник вопрос: неужели столь уж однотипны системы скрещивания центрических диатомовых и, как отмечалось, в подавляющем числе случаев они являются строго однодомными организмами? В начале 90-х годов А. М. Роцин вводит в культуру серию клонов центрических форм. Объектами исследований служили планктонная диатомея *Coscinodiscus granii* Gough. и две разновидности бентопланктонного вида *Melosira moniliformis* (O. Müll) Ag., *M. moniliformis* var. *moniliformis* и *M. moniliformis* var. *subglobosa* Grun. Выбор этих объектов не был случайным. Во-первых, в нашей лаборатории уже наблюдали аукоспоробразование в их клоновых культурах (Роцин, 1972, 1973, 1986б, 1990б; Роцин, Луценко, 1972). Во-вторых, половое воспроизведение этих видов также исследовалось другими авторами (von Stosch, 1958б; Drebes, 1968, 1974, 1977; Schmid, 1995). У *C. granii* из Северного моря Г. Дребес нашел поведение, отличное от чисто однодомного. Он охарактеризовал его как «субдвудомное». Некоторые из выделенных им клонов вели себя как «почти» однополюе, продуцируя преимущественно гаметы одного пола и изредка противоположного (Drebes, 1968).

Детальное изложение результатов экспериментов с каждым из вышеупомянутых центрических видов, выполненных на Карадаге и ряд основанных на них заключений еще предстоит опубликовать. В настоящей статье, которая носит обзорный характер, мы ограничимся лишь констатацией факта обобщающего эти работы: хотя двудомность в чистом виде не была найдена ни у одного из трех исследованных таксонов, а именно *C. granii*, *M. moniliformis* var. *moniliformis* и *M. moniliformis* var. *subglobosa*, их репродуктивное поведение оказалось не однотипно организованным, а сочетающим различные способы внутриклонового аукоспоробразования и возможности межклоновых скрещиваний.

Таким образом, на основании данных, полученных в ходе целенаправленных исследований систем скрещивания у диатомовых водорослей удалось принципиально изменить представление об их организации. Стало очевидным, что диатомовые неоднобразно однодомны, как предполагалось ранее. Наоборот, организация их систем полового воспроизведения способствует осуществлению строго или преимущественно межклоновых скрещиваний. Результаты, полученные для представителей различных родов и семейств пеннатных диатомовых, позволяют предположить, что основной и, по всей видимости, эволюционно примитивной формой аубридинга в пределах этой группы является двудомность. Для детальных дискуссий по поводу базовой «схемы» организации систем скрещивания у центрических диатомовых все еще не накоплен необходимый экспериментальный материал, однако, основываясь на уже имеющихся сведениях, А. М. Роцин все же высказал предположение о том, что древнейшие центрические формы были, по-видимому, однодомными организмами (Роцин, 1994а; Roshchin & Shepurnov, 1998).

Результаты своей более чем 25-летней научной работы на Карадаге А. М. Роцин собрал воедино, изложил и обобщил в монографии «Жизненные циклы диатомовых водорослей», опубликованной издательством «Наукова Думка» в 1994 году. Помимо изложения собственных обширных экспериментальных данных, книга представляет собой пример прекрасного и, кстати, первого русскоязычного обзора истории накопления данных об основах организации и разнообразии жизненных циклов диатомовых водорослей, отражение современного состояния этой

области знаний. Еще одним итогом многолетней работы по изучению репродуктивного поведения, выполненной на Карадаге, явился доклад на XIV Международном симпозиуме диатомологов, проходившем в столице Японии Токио в сентябре 1996 года и большая обзорная статья на английском языке, подготовленная для публикации в материалах симпозиума (Roshchin & Chepurnov, 1998). В обзоре кратко представлены оригинальные результаты, вошедшие в монографию (Роцин, 1994а), их эволюционная и экологическая интерпретации, а также данные последних экспериментов с клоновыми культурами центрических диатомовых, которые не вошли в монографию.

Середина 90-х годов оказалась временем подведения некоторых итогов научной работы, продолжительностью более чем четверть века и связанной непосредственно с именем А. М. Роцина. Помимо опубликования монографии и представления результатов многолетней работы на Международном симпозиуме, это время было отмечено двумя событиями принципиального характера. В 1995 году А. М. Роцину исполнилось 60 лет; год спустя он принимает решение о выходе на пенсию и отъезде с Карадага. Перед своим уходом, однако, он создал все необходимые предпосылки для того, чтобы исследования биологии диатомовых водорослей получили своё дальнейшее развитие. Вторым важным событием оказалось установление тесных научных контактов с отделом систематики и эволюции растений (заведующий — профессор доктор Давид Манн) Королевского ботанического сада в городе Эдинбурге (Шотландия, Великобритания), ставших впоследствии плодотворными, прочными и долговременными.

### **Итоги и перспективы сотрудничества с Королевским ботаническим садом Эдинбурга**

Научное сотрудничество между Карадагским природным заповедником и Королевским ботаническим садом (The Royal Botanic Garden) города Эдинбурга (Шотландия, Великобритания) началось в 1995 году, через два года после первого письменного контакта двух групп диатомологов, работающих в упомянутых организациях. После первого визита Д. Манна на Карадаг в ноябре 1995 года последовала серия рабочих визитов В.А.Чепурнова, ученика и коллеги А. М. Роцина в Эдинбург в 1996—98 годах и повторное посещение Манном Карадагского заповедника в 1996 году. В промежутках между визитами рабочее сотрудничество непрерывно продолжалось через взаимное согласование экспериментальных работ, подготовку совместных печатных работ, постоянные дискуссии и обмен информацией по электронной почте.

Каждая из двух наших рабочих групп имела свои особенности и традиции планирования и выполнения научно-исследовательских работ. Карадаг обладал богатым опытом экспериментальных работ с клоновыми культурами диатомовых водорослей и детальным знанием их репродуктивной биологии. В Эдинбурге, с другой стороны, таксономические работы, выполненные на природных популяциях в 80-х — начале 90-х годов, существенно способствовали прогрессу в понимании морфологического и цитологического разнообразия, а также закономерностей полового воспроизведения у различных пресноводных и морских диатомовых (e.g. Mann, 1982, 1984b; Mann & Stickle, 1993). Кроме того, разностороннее изучение природных популяций наводило на мысль, что концепция вида, традиционно используемая большинством диатомологов является неадекватной, так как в пределах целого ряда исследуемых видов были найдены репродуктивные барьеры (Mann, 1984a, 1989b). Однако через методические подходы, которые использовались в Эдинбур-

ге до 1995 года не удавалось получить достаточно убедительные доказательства правильности высказанных гипотез. Сказывалось отсутствие соответствующих экспериментальных протоколов. Объединение подходов и усилий наших исследовательских групп привело к очевидному успеху в постановке и решении фундаментальных вопросов репродуктивной биологии и видообразования у диатомовых водорослей.

В результате наших совместных работ удалось подтвердить существование реальных репродуктивных барьеров между популяциями, которые традиционно рассматривались как относящиеся к одному и тому же виду. В одной модельной системе, которая исследовалась и продолжает исследоваться детально (пресноводная бентосная пенистая диатомовая *Sellaphora pupula*: см. Mann, 1984a, 1989a,б), популяция, едва уловимо различающиеся морфологически, являются репродуктивно изолированными друг от друга, даже в случаях, когда они живут в одном водоёме. К ряду важных заключений нам удалось подойти через целенаправленное исследование систем скрещивания этой водоросли, что в дальнейшем позволило осуществлять скрещивания клонов в контролируемых условиях. Некоторые из исследованных популяций *S. pupula* оказались либо строго, либо преимущественно двудомными. Репродуктивная изоляция предполагает существование дозиготических изоляционных механизмов, которые препятствуют взаимодействию клеток из разных популяций и спариванию между мужскими особями одной популяции и женскими особями другой (Mann *et al.*, 1999). Наличие репродуктивных барьеров коррелирует с межпопуляционными различиями в морфологии, экологии, организации систем скрещивания и др., такими как, например, восприимчивость к грибковым паразитам. Далее, нам удалось использовать наши культуры для получения молекулярно-генетических данных о различных популяциях, показав высокую дивергенцию в ITS (Internal Transcribed Spacer) и даже в структуре нуклеотидных последовательностей молекул рибосомальной ДНК (18S rDNA sequences). Репродуктивная изоляция позволяет популяциям сохранять свою «индивидуальность», даже когда они являются симпатрическими. В некоторых случаях нам также удалось установить, что морфологически сходные популяции *Sellaphora pupula*, обитающие за тысячи километров друг от друга, в Украине и Шотландии, или Шотландии и США, способны к скрещиванию друг с другом, что обеспечивает возможность для ограниченного потока генов через большие расстояния, посредством переноса клеток диатомовых насекомыми, птицами, или (для полуназемных видов) ветром. В целом, наша работа показывает, что границы видов у диатомовых водорослей традиционно определялись слишком широко и многие виды должны быть подвержены систематическому «дроблению» перед установлением новых биологически значимых таксономических уровней.

Еще одним результатом наших совместных работ явилось получение первого четко документированного, экспериментально подтвержденного случая гибридизации между двумя морфологически различными популяциями диатомовых водорослей, соответствующих по определителям двум различным разновидностям вида *Achnanthes brevipes* Ag., *A. brevipes* var. *brevipes* и *A. brevipes* var. *intermedia* (Kütz.) Cl.. Клоновые культуры обеих разновидностей были выделены из географически удаленных и экологически разных участков морского побережья Шотландии. Гибридное потомство первого поколения (F1) оказалось жизнеспособным и хорошо разноможало вегетативно в условиях культуры. Тем не менее, эти разновидности, по-видимому, являясь уже достаточно дивергировавшими, физиологически и/или генетически, так как попытки получить потомство следующей гибридной генерации (F2) не удалось из-за неспособности клонов генерации F1 про-

изводить жизнеспособные ауксоспоры как при скрещиваниях внутри самой генерации, так и при обратных скрещиваниях с родительскими клонами обеих разновидностей.

Обнаружение факта двудомности в некоторых популяциях *Sellaphora pupula* оказалось первой подобной находкой для диатомовых водорослей, обитающих в пресных водах. Несколько позже было установлено, что популяции пресноводных пennisных видов *Neidium ampliatum* (Ehr.) Krammer, *Caloneis silicula* (Ehr.) Cl. и *Eunotia* sp. также являются двудомными, предположительно с генетическим определением пола. В некоторых популяциях *S. pupula* проявилась более сложная организация систем скрещивания. В одних случаях их репродуктивное поведение оказалось во многом сходным с поведением однодомно-двудомных морских видов пennisных диатомей, изученных ранее на Карадаге (Рошин, 1987, 1989а, 1990а, 1994а). В ряде других случаев обнаружен феномен, который предварительно мог бы быть рассмотрен как «относительная раздельнополость»: поведение некоторых клонов при половом процессе находилось в зависимости от того, с клоном какого пола их скрещивали.

Научное сотрудничество между Карадагом и Королевским ботаническим садом Эдинбурга оказалось плодотворным и уже дало ощутимые научные результаты, которые послужили фундаментом для его дальнейшего развития. Планируется продолжить более детальные исследования уже «отработанных» модельных объектов, таких как пресноводная диатомовая водоросль *Sellaphora pupula* и представители морского рода *Achnanthes*. Много надежд мы возлагаем на работу с диатомовыми озера Байкал. Этот старейший и крупнейший пресный водоем нашей планеты населяет большое количество разнообразных видов-эндемиков. Уникальна и его диатомовая флора для которой также характерна высочайшая степень эндемизма (Skvortzow & Meyer, 1928; Skvortzow, 1937; Скабичевский, 1952; Flower, 1993). Озеро Байкал крайне привлекательно для исследователей, занимающихся вопросами эволюции диатомовых водорослей, так как оно может рассматриваться в качестве некоего водного эквивалента островных территорий подобно Галапагоссам, Гавайям или Новой Гвинее, которые были богатейшим источником информации и вдохновения многих поколений биологов и натуралистов, включая, конечно, Чарльза Дарвина и Альфреда Рассела Уоллеса. Сотрудничество с Лимнологическим институтом в Иркутске (к. б. н. Е. В. Лихошвай) и другими диатомологами из России и Великобритании принесло нам не только превосходную коллекцию фиксированных проб и препаратов панцирей, но и обширный банк клоновых культур байкальских диатомей. В ближайшее время мы предполагаем использовать доступный нам байкальский материал для исследований того, как, где и в каком временном масштабе эволюционировали различные виды диатомовых водорослей. Байкал содержит ряд групп близкородственных видов, некоторые из которых, по-видимому, эндемичны. На этих группах мы планируем сконцентрировать особое внимание с привлечением морфологических (как для современных, так и ископаемых форм) и молекулярных методов исследования, попытаемся получить информацию об особенностях их репродуктивной биологии для того, чтобы понять причины возникновения и поддержания богатейшего таксономического разнообразия, наблюдаемого среди ныне живущих диатомей.

Научное сотрудничество Карадагского природного заповедника и Королевского ботанического сада Эдинбурга имеет долгосрочную поддержку Европейского Союза в форме грантов INTAS 93-3605 и 93-3605ext.

Scientific collaboration between the Karadag Natural Reserve and the Royal Botanic Garden Edinburgh has been being supported by INTAS grants 93-3605 and 93-3605ext.

## Литература

- Вассер С. П., Бухтиярова Л. Н. Диатомовые водоросли — Bacillariophyta // Водоросли. Справочник. — К.: Наукова думка, 1989. — С. 303—339.
- Глезер З. И., Жузе А. П., Макарова И. В., Прошкина-Лавренко А. И., Шешукова-Порецкая В. С. Диатомовые водоросли СССР, ископаемые и современные. Т. I. — Л.: Наука, 1974. — 403 с.
- Глезер З. И., Макарова И. В., Моисеева А. И., Николаев В. А. Диатомовые водоросли СССР, ископаемые и современные. Том II (1). — Л.: Наука, 1988. — 116 с.
- Давидович Н. А. Факторы, определяющие размер инициальных клеток у диатомовых водорослей // Физиология растений. — 1994. — Т. 41. — №2. — С. 250—255.
- Кустенко Н. Г. Образование крупных клеток в колониях диатомеи *Melosira moniliformis* // Биология моря. — Владивосток, 1978. — №5. — С. 72—74.
- Рошин А. М. Влияние условий освещения на образование ауксоспор и скорость деления клеток *Coscinodiscus granii* Gough. // Физиология растений. — 1972. — Т. 19. — Вып. 1. — С. 180—185.
- Рошин А. М. О характере укрупнения клеток *Coscinodiscus granii* Gough // Биол. науки. — 1973. — №5. — С. 78—81.
- Рошин А. М. Особенности онтогенеза морских центрических диатомовых водорослей в клоновых культурах // Биол. науки. — 1975. — №3. — С. 47—51.
- Рошин А. М. Влияние условий освещения на вегетативное размножение клеток и половое воспроизведение двух видов центрических диатомовых водорослей // Физиология растений. — 1976а. — Т. 23. — Вып. 4. — С. 715—719.
- Рошин А. М. Сезонные изменения структуры популяции диатомовой водоросли *Coscinodiscus janischii* A.S. в Карадагской бухте Черного моря // Биология моря. — 1976б. — Вып. 39. — С. 51—54.
- Рошин А. М. Жизненные циклы бентосной диатомовой водоросли *Achnanthes longipes* Ag. // Биол. науки. — 1984. — №11. — С. 71—78.
- Рошин А. М. Условия образования ауксоспор в культуре и природной популяции диатомовой водоросли *Licmophora ehrenbergii*. — М., 1986а. — 13 с. — Деп. в ВИНТИ 13.02.86, №1090-B86.
- Рошин А. М. Рост и воспроизведение диатомовой водоросли *Melosira moniliformis* // Биология моря. — 1986б. — №6. — С. 22—26
- Рошин А. М. Диатомовая водоросль с однодомным и двудомным воспроизведением // Журн. общ. биологии. — 1987. — т. 48. — №6. — С. 771—783.
- Рошин А. М. Двудомность морской бентосной диатомовой водоросли *Licmophora ehrenbergii* (Kütz.) Grun. — К., 1989а. — 14 с. — Деп. в ВИНТИ 03.01.89, № 87-B89.
- Рошин А. М. Проявление инцухта у диатомовой водоросли *Synedra tabulata* // Журн. общ. биологии. — 1989б. — Т. 50. — №3. — С. 412—416.
- Рошин А. М. Сочетание однодомности и двудомности у диатомовой водоросли *Nitzschia lanceolata* W. Sm. // Журн. общ. биологии. — 1990а. — Т. 51. — №5. — С. 699—708.
- Рошин А. М. Жизненные циклы диатомовой водоросли *Melosira moniliformis* var. *moniliformis* в сравнении с другими центрическими видами. — К., 1990б. — 17 с. — Деп. в ВИНТИ, №2635-B90.
- Рошин А. М. Двудомная диатомовая водоросль из семейства навикуловых. — М., 1991. — 7 с. — Деп. в ВИНТИ 13.03.91, №1094-B91.
- Рошин А. М. Жизненные циклы диатомовых водорослей. — К.: Наукова думка, 1994а. — 170 с.

Рошин А. М. Двудомное воспроизведение *Achnanthes longipes* Ag. // Альгология. — 1994б. — Т. 4. — №1. — С. 22—29.

Рошин А. М., Луценко Н. О. Вплив умов освітлення на співвідношення ауксоспортоворення і вегетативного розмноження клітин *Coscinodiscus granii* Gough // Укр. ботан. журн. — 1972. — Т. 29. — №4. — С. 520—522.

Рошин А. М., Леканцева В. Н., Луценко Н. А. О жизненных циклах некоторых видов морских диатомовых водорослей в культурах // Биол. науки. — 1973. — №3. — С. 75—79.

Рошин А. М., Чепурнов В. А. Аллогамный половой процесс и гаплоидный партеногенез у двудомной водоросли *Licmophora ehrenbergii* (Kütz.) Grun. (Bacillariophyta) // Альгология. — 1994. — Т. 4. — №4. — С. 3—10.

Скабичевский А. П. К систематике байкальских диатомей // Ботан. матер. отд. споровых раст. Бот. института им. В. Л. Комарова АН СССР. — 1952. — Т. 8. — С. 36—42.

Стрельникова Н. И. Палеогеновые диатомовые водоросли. Изд-во С.-Петербургского государственного университета. — Санкт-Петербург, 1992. — 311 с.

Чепурнов В. А. Половой процесс у двудомной водоросли *Haslea subagnita* (Pr.-Lavr.) Makar. et Kar. (Bacillariophyta) // Альгология. — 1993. — Т. 3. — №4. — С. 37—40.

Akiba F. Middle Miocene to Quaternary diatom biostratigraphy in the Nankai Trough and Japan Trench, and modified Lower Miocene through Quaternary diatom zones for middle-to-high latitudes of the north Pacific // Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project. — 1985. — V. 87. — P. 393—481.

Akiba F. & Yanagisawa, Y. Taxonomy, morphology and phylogeny of the Neogene diatom zonal marker species in the middle-to-high latitudes of the north Pacific // Initial Reports of the Deep Sea Drilling Project. — 1985. — V. 87. — P. 483—554.

Bennion H. A diatom-phosphorus transfer function for shallow, eutrophic ponds in southeast England // Hydrobiologia. — 1994. — V. 275/276. — P. 391—410.

Cavalier-Smith T. & Chao E.E. 18S rRNA sequence of *Heterosigma carterae* (Raphidophyceae), and the phylogeny of heterokont algae (Ochrophyta) // Phycologia. — 1996. — V. 35. — P. 500—510.

Чепурнов В. А. & Mann D. G. Variation in the sexual behaviour of natural clones of *Achnanthes longipes* (Bacillariophyta) // Eur. J. Phycol. — 1997. — V. 32. — P. 147—154.

Чепурнов В. А. & Mann D. G. Variation in the sexual behaviour of *Achnanthes longipes* (Bacillariophyta). II. Inbred monoecious lineages // Eur. J. Phycol. — 1999. — V. 34. — (in press).

Чепурнов В. А. & Roshchin A. M. Inbreeding influence on sexual reproduction of *Achnanthes longipes* Ag. (Bacillariophyta) // Diatom Res. — 1995. — V. 10. — P. 21—29.

Drebes G. Subdiözise bei der zentrischen Diatomee *Coscinodiscus granii* // Naturwissenschaften. — 1968. — V. 55. — S. 236.

Drebes G. Marines Phytoplankton. Eine Auswahl der Helgoländer Planktonalgen (Diatomeen, Peridineen). Georg Thieme Verlag, Stuttgart. — 1974. — 186 S.

Drebes G. Sexuality // The Biology of Diatoms (Ed. by D. Werner) — Blackwell, Oxford, 1977. — P. 250—283.

Field C. B., Behrenfeld M. J., Randerson J. T. & Falkowski P. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components // Science. — 1998. — V. 281. — P. 237—240.

Flower R. J. A taxonomic re-evaluation of endemic *Cyclotella* taxa in Lake Baikal, Siberia // Nova Hedwigia. — 1993. — Beiheft 106. — P. 203—220.

Flower R.J. & Battarbee, R. W. Diatoms evidence for recent acidification of two Scottish lochs // *Nature*. — 1983. — V. 20. — P. 130—133.

Geitler L. Der Formwechsel der pennaten Diatomeen (Kieselalgen) // *Archiv für Protistenkunde*. — 1932. — V. 78. — S. 1—226.

Geitler L. Notizen über Rassenbildung, Fortpflanzung, Formwechsel und morphologische Eigentümlichkeiten bei pennaten Diatomeen // *Österr. bot. Z.* — 1958. — V. 105. — S. 408—442.

Geitler L. Kleinsippen bei Diatomeen // *Österr. bot. Z.* — 1968. — V. 115. — S. 354—62.

Geitler L. Auxosporenbildung und Systematik bei pennaten Diatomeen und die Cytologie von Cocconeis-Sippen // *Österr. bot. Z.* — 1973. — V. 122. — S. 299—321.

Geitler L. Formwechsel, sippenspezifischer Paarungsmodus und Systematik bei einigen pennaten Diatomeen // *Plant Syst. Evol.* — 1975. — V. 124. — S. 7—30.

Geitler L. Automixis bei pennaten Diatomeen // *Plant Syst. Evol.* — 1985. — V. 150. — S. 303—306.

Hoek C. van den, Mann D. G. & Jahns H.M. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge University Press. — Cambridge, 1995. — 623 p.

Jewson D. H. Size reduction, reproductive strategy and the life cycle of a centric diatom // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. — 1992. — B. 335. — P. 191—213.

Jones V. J., Stevenson A. C. & Battarbee R. W. Lake acidification and the land-use hypothesis: a mid-post-glacial analogue // *Nature*. — 1986. — B. 322. — P. 157—158.

Kling H.J. *Asterionella formosa* Ralfs: the process of rapid size reduction and its possible ecological significance // *Diatom. Res.* — 1993. — B. 8. — P. 475—479.

Leadbeater, B. S. C. The phylogenetic significance of flagellar hairs in the Chromophyta // *The Chromophyte Algae* (Ed. by J.C. Green, B.S.C. Leadbeater & W.L. Diver). — Clarendon Press, Oxford, 1989. — P. 145—165.

Locker F. Beiträge zur Kenntnis des Formwechsels der Diatomeen an Hand von Kulturversuchen // *Österr. bot. Z.* — 1950. — B. 97. — S. 322—332.

MacDonald J. D. On the structure of the diatomaceous frustule, and its genetic cycle // *Ann. a. Mag. Natur. History, ser. 4.* — 1869. — V. 3 (13). — P. 1—8.

Mann D.G. Structure, life history and systematics of *Rhoicosphenia* (Bacillariophyta) II. Auxospore formation and perizonium structure of *Rh. curvata* // *Journal of Phycology*. — 1982. — V. 18. — P. 264—274.

Mann D. G. Observations on copulation in *Navicula pupula* and *Amphora ovalis* in relation to the nature of diatom species // *Ann. Bot.* — 1984a. — V. 54. — P. 429—438.

Mann D. G. Auxospore formation and development in *Neidium* (Bacillariophyta) // *Br. Phycol. J.* — 1984b. — V. 19. — P. 319—331.

Mann D. G. Why didn't Lund see sex in *Asterionella*? A discussion of the diatom life cycle in nature // *Algae and the Aquatic Environment* (Ed. by F.E. Round). — Biopress, Bristol, 1988. — P. 383—412.

Mann D. G. The diatom genus *Sellaphora*: separation from *Navicula* // *Br. Phycol. J.* — 1989a. — V. 24. — P. 1—20.

Mann D. G. The species concept in diatoms: evidence for morphologically distinct, sympatric gamodemes in four epipelagic species // *Plant Syst. Evol.* — 1989b. — V. 164. — P. 215—37.

Mann D. G. Patterns of sexual reproduction in diatoms. // *Hydrobiologia*. — 1993. — V. 269/270. — P. 11—20.

- Mann, D. G. & Stickle, A. J. Life history and systematics of *Lyrella* // *Nova Hedwigia*. — 1993. — Beiheft 106. — P. 43—70.
- Mann, D. G. & Droop, S. J. M. Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms // *Hydrobiologia*. — 1996. — V. 336. — P. 19—32.
- 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* (Bacillariophyta) // *Journal of Phycology*. — 1999. — V. 35. — (in press).
- Medlin L. K., Kooistra W. H. C. F., Gersonde R., Sims P. A. & Wellbrock U. Is the origin of the diatoms related to the end-Permian mass extinction? // *Nova Hedwigia*. — 1997. — V. 65. — P. 1-11.
- Medlin L. K., Williams D. M. & Sims P. A. The evolution of the diatoms (Bacillariophyta). I. Origin of the group and assessment of the monophyly of its major divisions // *Eur. J. Phycol.* — 1993. — V. 28. — P. 261—275.
- Nagai S. & Imai I. The effect of irradiance and irradiation time on the size of initial cells in vegetative cell enlargement of *Coscinodiscus wailesii* (Centrales, Bacillariophyceae) in culture // *Phycological Research*. — 1997. — V. 45. — P. 117—121.
- Nelson D. M., Tréguer P., Brzezinski M. A., Leynaert A. & Quéguiner B. Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation // *Global Biochemical Cycle*. — 1995. — V. 9. — P. 359—372.
- Pfizer E. Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Bacillariaceen (Diatomaceen) // *Botanische Abhandlungen*. — 1871. — V. 1 (2). — P. 1—189.
- Richards A. J. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall. — London, 1997.
- Roessler P. G. Characteristics of abrupt size reduction in *Synedra ulna* (Bacillariophyta) // *Phycologia*. — 1988. — V. 27 (2). — P. 294—297.
- Round F. E., Crawford R. M. & Mann D. G. *The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*. Cambridge University Press. — Cambridge, 1990. — 747 p.
- Roshchin A. M. & Chepurnov V. A. Dioecy and monoecy in the pennate diatoms (with reference to the centric taxa) // *Proceedings of the 14<sup>th</sup> International Diatom Symposium (Tokyo, September, 1996)*. Koeltz Scientific Books. — Koenigstein, 1998 (in press).
- Rozumek K. E. Der Einfluß der Umweltfaktoren Licht und Temperatur auf die Ausbildung der Sexualstadien bei der pennaten Diatomee *Rhabdonema adriaticum* Kütz. // *Beitr. Biol. Pfl.* — 1968. — V. 44. — P. 365—388.
- Schmid A. M. Sexual reproduction in *Coscinodiscus granii* Gough in culture: a preliminary report // *Proceedings of the 13th International Diatom Symposium (D. Marino, L. Mazella & M. Montresor, eds)*. — Biopress Ltd. — Bristol, 1995. — P. 139—159.
- Skvortzow B. W. Bottom diatoms from Olhon Gate of Baikal Lake, Siberia // *Philippine Journal of Science*. — 1937. — V. 62. — P. 293—377.
- Skvortzow B. W. & Meyer C. I. A contribution to the diatoms of Baikal Lake // *Proceedings of the Sungaree River Biological Station*. — 1928. — V. 1 (5). — P. 1—55.
- Stoermer E. F. & Smol J. P. [Eds] *The Diatoms. Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University Press. — Cambridge, 1999. — 484 p.
- Stosch H. A. von. Die Oogamie von *Biddulphia mobiliensis* und die bisher bekannten Auxosporenbildungen bei den Centrales // *VIII Congr. Intern. Bot., Rapp. Comm. Sect., V*. 17. — 1954. — S. 58—68.
- Stosch H. A. von. Kann die oogame Araphidee *Rhabdonema adriaticum* als Bindeglied zwischen den beiden grossen Diatomeengruppen angesehen werden? // *Ber. dt. bot. Ges.* — 1958a. — V. 71. — S. 241—249.

Stosch H. A. von. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. III. Die Spermatogenese von *Melosira moniliformis* Agardh // Archiv für Microbiologie. — 19586. — V. 31. — S. 274—282.

Stosch H. A. von & Drebes G. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. IV. Die Planktondiatomee *Stephanopyxis turris* — ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte // Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen. — 1964. — V. 11. — S. 209—257.

Wiedling S. Beiträge zur Kenntnis der vegetativen Vermehrung der Diatomeen. Bot. Notiser. — 1948. — S. 322—54.

Wiese L. Algae // Fertilization, Comparative Morphology, Biochemistry and Immunology (Metz, C.B. & Monroy, A., editors). — Academic Press, London and New York, 1969. — V. 2. — P. 135—188.

Wood A. M., Lande R. & Fryxell G. A. Quantitative genetic analysis of morphological variation in an Antarctic diatom grown at two light intensities // Journal of Phycology. — 1987. — V. 23. — P. 42—54.