



## МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ВИДІВ РОДУ *CHLAMYDOMONAS* S.L. (CHLOROPHYTA), ЩО НАЛЕЖАТЬ ДО РІЗНИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ КЛАД

МАРІЯ М. ПАВЛОВСЬКА \* та ІГОР Ю. КОСТИКОВ \*\*

**Анотація.** Обговорюються основні морфологічні ознаки 78 культур видів роду *Chlamydomonas*, що належать до 5 молекулярних клад, які можуть бути використані при ідентифікації видів даного роду. Серед головних ознак, у першу чергу, тип та походження колоніального слизу, характер його колапсу при забарвленні метиленовим синім, здатність до забарвлення цим барвником центрального триплету оболонки на апексі клітини, збереження в нерухомому стані носика, формування екстрацелюлярного матриксу за рахунок внутрішнього шару оболонки, спосіб звільнення спор із спорангію, поведінка піреноїда (при його наявності) та стигми перед поділом протопласту, і лише частково – форма клітин та морфологія хлоропласту.

**Ключові слова:** *Chlamydomonas*, Chlorophyta, морфологічна ознака, молекулярна клада

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», кафедра ботаніки, пр. Глушкова, 2, м. Київ, 03022, Україна; \* [annopol@rambler.ru](mailto:annopol@rambler.ru), \*\* [kost@univ.kiev.ua](mailto:kost@univ.kiev.ua)

### Вступ

Рід *Chlamydomonas* Ehrenberg об'єднує біля 500 видів монадних дводжгутикових водоростей, клітини яких вкриті оболонкою, мають парієнтальний хлоропласт з піреноїдом та одне ядро (Коршиков 1938; ЕТТЛ 1983). За сучасними молекулярно-генетичними реконструкціями рід вважається поліфілітичним і включає вісім неспоріднених між собою молекулярних клад (Pröschold *et al.* 2001; Nakada *et al.* 2008). Проте, наразі, комплекс фенотипових ознак, що характеризують кожну з клад, залишається не з'ясованим, що практично унеможливує ідентифікацію представників даного роду за фенотиповими ознаками не лише на рівні видів, але й на рівні цих клад.

### Матеріали і методи досліджень

Матеріалом наших досліджень слугували 78 культур видів роду *Chlamydomonas* із колекції культур АСКУ Київського національного університету імені Тараса Шевченка, що відносяться до п'яти молекулярних клад. Ці штами представляють собою субкультури аутентичних штамів даних видів із колекцій культур Геттингенського університету (SAG) і університету штату Техас в Остині (UTEX), на основі яких реконструювались молекулярно-філогенетичні відношення вольвокальних водоростей. Відомості про походження штамів представлені в каталогах відповідних колекцій

(Костиков *и др.* 2009; EPSAG 2011; UTEX 2011). Дані про нуклеотидні послідовності ядерного гену, що кодує малу субодиночку рибосомальної РНК (SSU або 18S rDNA) та місце даних таксонів на молекулярній дендрограмі, опубліковані в роботі Т. Накада (Nakada *et al.* 2008).

Культури вирощували на 1% агаризованому середовищі К (EPSAG 2011) на освітлювальній установці при інтенсивності освітлення 2.100-3.000 люкс і температурі 18-23°C до 1-го місяця і на холодильній установці з люмінесцентними лампами ЛБ-40 при температурі 12-14°C після 1-го місяця, з 12-и годинним чергуванням світлової і темної фаз. Спостереження проводили у віці культур 2 тижні, 2 та 6 місяців. Мікроскопічні дослідження виконували на оптичних мікроскопах серій BMXS та Primo Star, оснащених цифровими фотокамерами, з'єднаними з персональними комп'ютерами при обов'язковому використанні імерсійних об'єктивів. Морфологію розростань вивчали за допомогою біокулярного стереоскопічного мікроскопа МБС-10. Слизові структури виявляли з допомогою фарбування препаратів тушшю та 0.05% розчином метиленового синього.

### Результати та їх обговорення

На основі порівняльного аналізу представників Volvocales із різних клад нами було встановлено комплекс морфологічних ознак, за якими водорості різних клад відокремлюються

Табл. 1. Основні морфологічні ознаки клад.

Table 1. The main morphology features of clades.

Ознака	Клада				
	<i>Moewusinia</i>	<i>Polytominia</i>	<i>Chloromonadinia</i>	<i>Reinhardtinia</i>	<i>Oogamochlamydia</i>
К-ть досліджених культур	22	2	15	27	12
Форма клітин	овально-еліпсоїдні, яйцевидні	овально-еліпсоїдні	сферичні та субсферичні, еліпсоїдні	овально-еліпсоїдні, яйцеп	овально-еліпсоїдні, яйцевидні
Морфологічна група*	<i>Chlamydella</i> , <i>Chlorogoniella</i>	<i>Chlamydella</i>	<i>Chlamydella</i> , <i>Euchlamydomonas</i>	<i>Euchlamydomonas</i> , <i>Chlamydella</i> , <i>Chlorogoniella</i>	<i>Euchlamydomonas</i> , <i>Pleiochloris</i> , <i>Chlorogoniella</i>
К-ть піреноїдів	1, 4	1	0, 1, 2	1, 4	1, 4
Наявність носика	+, розтягується	+, розтягується	+, розтягується	+, розтягується	+, не розтягується
Наявність стигми	+	-	+	+	-
Форма контуру протопласту	«голий протопласт»	протопласт зберігає контур	«голий протопласт»	«голий протопласт»	«голий протопласт», протопласт зберігає контур
Мультиплікація ЦТР**	-	-	-	+	+
Поведінка оболонки спорангії	розширюється, розривається	розчиняється	розривається, розчиняється	розширюється, розривається	розширюється, розривається
Тип слизу	спорангіальний	спорангіальний	спорангіальний та індивідуальний	спорангіальний та індивідуальний	спорангіальний, індивідуальний
Стискання слизу***	-	-	±	+	+
Відрощування джгутиків****	+	-	-	±	±

\* – морфологічні групи наведено відповідно до класифікації Ettl (1983);

\*\* – ЦТР – «центральний триплет оболонки» відповідно до Goodenough & Heuser (1985);

\*\*\* – при забарвленні 0.05% розчином метиленового синього;

\*\*\*\* – здатність вегетативних клітин до відрощування джгутиків при переносі з агаризованого середовища в рідке;

\* – morphological groups definite by Ettl (1983);

\*\* – ЦТР is an abbreviation of «central triplet of coat» accordingly to Goodenough & Heuser (1985);

\*\*\* – under the staining by 0,05% methylene blue;

\*\*\*\* – ability of vegetative cells for flagella production after the transferring from agar medium into liquid medium.

одна від одної та від інших монадних водоростей. Ці ознаки спостерігаються переважно при вирощуванні культур на агаризованих поживних середовищах та пов'язані, в першу чергу, з морфологією водоростей у нерухомому стані. А саме: з типом і походженням колоніального слизу та характером його колапсу при забарвленні метиленовим синім; здатністю до забарвлення цим барвником центрального триплету оболонки на апексі клітини; збереженням в нерухомому стані папіли та стигми; формуванням екстрацелюлярного матриксу

за рахунок внутрішнього шару оболонки; способом звільнення спор із спорангії; поведінкою піреноїда (при його наявності) та стигми перед поділом протопласту, і лише частково – з формою клітин та морфологією хлоропласту. Основні морфологічні ознаки, що дають можливість визначити приналежність до певної молекулярної класифікації наведено у Таблиці 1. За результатами досліджень, не всі морфологічні ознаки, які використовуються при класичній ідентифікації видів виявилися діакритичними. Спільними для всіх клад є наступні ознаки:

схожа форма клітин, однакова кількість спор в спорангіях, поведінка протопласту при поділі, відставання оболонки від протопласту.

Ступінь узгодження морфологічних ознак з результатами ультратонких досліджень та молекулярно-генетичними реконструкціями, а також можливість ідентифікації видів клад на основі морфологічних ознак в нерухомому стані обговорюються і будуть представлені у наступних працях.

### Використані джерела

Костиков І.Ю., Демченко Э.Н., Новохацька М.А. 2009. Коллекция культур водорослей Киевского национального университета имени Тараса Шевченко. Каталог штаммов (2008 г.). *Черноморский ботанический журнал* 5 (1): 37–79.

Коршиков О.А. 1938. *Volvocinae*. В: Ролла Я.В. і Коршков О.А. (ред.). Визначник прісноводних водоростей УРСР. Т. 4. Вид-во АН УРСР, Київ.

EPSAG. 2011. Experimental Phycology and SAG. <http://epsag.uni-goettingen.de/>

ETTL H. 1976. Die gattung *Chlamydomonas* Ehrenberg. (*Chlamydomonas* und die nächstverwandten Gattungen II.). *Beih. Nova. Hedw.* 49: 1–1122.

GOODENOUGH U. & HEUSER J. 1985. The *Chlamydomonas* cell wall and its constituent glycoproteins analyzed by the quick-freeze, deep-etch technique. *JCB* 101 (4): 1550–1568.

NAKADA T., MISAWA K., NOZAKI H. 2008. Molecular systematics of Volvocales (Chlorophyceae, Chlorophyta) based on exhaustive 18S rRNA phylogenetic analyses. *Mol. Phylogenet. Evol.* 48: 281–291.

PRÖSCHOLD, T., MARI, B., SCHLÖSSERB U.G., MELKONIAN M. 2001. Molecular phylogeny and taxonomic revision of *Chlamydomonas* (Chlorophyta). I. Emendation of *Chlamydomonas* Ehrenberg and *Chloromonas* Gobi, and description of *Oogamochlamys* gen. nov. and *Lobochlamys* gen. nov. *Protist* 152: 265–300.

UTEX. 2011. The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin. <http://www.utex.org/>

### MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE SPECIES OF THE GENUS *CHLAMYDOMONAS S.L.* (CHLOROPHYTA) FROM VARIOUS MOLECULAR CLADES

MARIA N. PAVLOVSKA \* & IGOR YU. KOSTIKOV \*\*

**Abstract.** The morphology of 78 authentic strains from 5 clades into culture condition was investigated. The complex of phenotype features was established. Such features as: type of mucilage and their origin, mucilage collapse under methylene blue, saving papilla and stigma in not motile stage, extracellular matrix formation inside cell wall, the way of sporangium break, pyrenoid and stigma habit before cell division, cell shape, chloroplast morphology. Diagnostic features for determination of taxa on clades level are discussed.

**Key words:** *Chlamydomonas*, Chlorophyta, morphology feature, molecular clade

National Taras Shevchenko University of Kyiv, Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», Academician Glushkov Avenue, 2, Kyiv, 03022, Ukraine; \* [annopol@rambler.ru](mailto:annopol@rambler.ru), \*\* [kost@univ.kiev.ua](mailto:kost@univ.kiev.ua)