

На правах рукописи

Тимофеева

Тимофеева Марина Геннадьевна

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КОЛОНИЙ
PANDORINA MORUM (MÜLL.) BORY (*VOLVOCACEAE*)

03.00.05 – ботаника

Автореферат диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Апатиты -2006

Работа выполнена в Геологическом институте Кольского научного центра РАН

Научный руководитель

доктор геолого-минералогических наук
Войтеховский Юрий Леонидович

Официальные оппоненты

доктор биологических наук
Антипина Галина Станиславовна

кандидат биологических наук
Хазов Андрей Руфович

Ведущая организация Полярно-альпийский ботанический сад-институт Кольского научного центра РАН

Защита состоится 25 мая 2006 г. в 14⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 212.190.01 при Петрозаводском государственном университете по адресу: 185910, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33, эколого-биологический факультет, аудитория 326 (теоретический корпус)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ПетрГУ

Автореферат разослан *20 апреля* 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета:



Крупень И. М.

Актуальность

Морфология растения формируется как компромисс между генетически обусловленным набором признаков и влиянием окружающей среды. Если известен морфологический стандарт, то отклонения от него можно использовать как биоиндикатор типа и интенсивности внешнего воздействия. Эта идея лежит в основе биоиндикации как направления научных и прикладных исследований на стыке биологии и экологии. Зеленая водоросль *Pandorina morum* (Müll.) Vory является эврибионтным представителем семейства *Volvocaceae*. Ее типовые характеристики могут быть использованы в целях биоиндикации в различных природных условиях. Этим и определяется актуальность исследования.

Цели и задачи

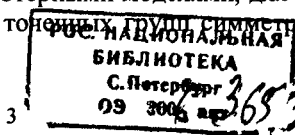
Цель исследования – установление типовых и варьибельных черт в морфологическом разнообразии колоний *P. morum* в лабораторных условиях. Для ее достижения решались следующие задачи:

1. Систематическое фотографирование колоний под микроскопом, распознавание их морфологических типов и симметрии на изображениях.
2. Систематический подсчет числа и размеров колоний.
3. Компьютерное моделирование растущих колоний для повышения достоверности распознавания их морфологических типов.
4. Статистическая обработка результатов эксперимента.
5. Интерпретация частотного спектра колоний в соответствии с принципом диссимметрии Кюри.

Фактический материал и методы исследования

В эксперименте использована культура *P. morum*, полученная в лаборатории альгологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Материал выращивали в питательной среде Прата, для приготовления которой использовали дистиллированную воду и реактивы марки “чда” (Садчиков, 2003), в комнатных условиях с режимом освещения: ночь – 8 ч., день – 16 ч. Продолжительность эксперимента от 1 до 1.5 мес. с наблюдениями через каждые 2-3 сут. Для характеристики динамики популяции подсчитывали число колоний с различным числом клеток, их линейные размеры и морфологические типы.

Морфологические типы колоний *P. morum* определяли тремя способами. Во-первых, микроскопическое фотографирование колонии, свободно вращающейся в капле воды, в нескольких ракурсах позволяло получить представление о характере сцепления образующих ее клеток. Во-вторых, наложение покровного стекла позволяло зафиксировать колонию и, изменяя фокусировку, проявить ее обратную сторону. Наконец, в обоих случаях для идентификации комбинаторного типа колонии полезным было сравнение ее фотоизображений (полученных под микроскопом в проходящем свете, $\times 250-300$) с компьютерными моделями, для чего была написана специальная программа. Определение тонких групп симметрии полиэдрических



колоний выполняли с помощью каталогов (Войтеховский, 1999, 2000; Войтеховский и др., 2000). Несмотря на все ухищрения, следует признать возможность ошибок реконструкции трехмерной колонии по ее двумерным изображениям. Результаты наблюдений обрабатывали с применением методов математической статистики, что позволяет считать их достоверными на приемлемом (0.05) уровне значимости.

Защищаемые положения

1. Для популяции *P. morum* характерен устойчивый частотный спектр колоний с резким преобладанием 4-, 6- и 8-клеточных.
2. При любом числе клеток колонии *P. morum* приобретают самую симметричную форму, что согласуется с принципом диссимметрии Кюри и является реакцией на отсутствие двигательной специализации клеток и деформирующего влияния среды.
3. Из трех предсказанных морфотипов 16-клеточных ценобиов *P. morum* реализуются -43m и 222 в пропорции 3:1, что согласуется с компьютерным экспериментом и указывает на случайный характер их организации из отдельных клеток.

Научная новизна

Впервые экспериментально доказано, что колонии *P. morum* на каждой стадии роста стремятся приобрести наиболее симметричную конфигурацию. Это особенно наглядно выражается в морфологии зрелых полиэдрических 16-клеточных ценобиов – из трех теоретически допустимых в 3D пространстве типов природа реализует два наиболее симметричных. Результат находит свое объяснение в соответствии с принципом Кюри как отклик колоний *P. morum* на сочетание двух морфообразующих факторов – отсутствие двигательной специализации клеток и диссимметризирующего влияния водной среды.

Практическое значение

Найденные частотные спектры морфологических типов *P. morum* могут служить комплексными биологическими индикаторами экологической чистоты водной среды. Но их чувствительность к различным загрязнителям требует дальнейшего изучения. Исползованные в работе приемы комбинаторной геометрии и компьютерного моделирования могут быть распространены на более широкий круг биологических объектов, что придает ей методический характер. Результаты исследования могут быть использованы также в преподавании университетского курса общей биологии как пример комплексного изучения онтогенеза *Volvocaceae*.

Апробация работы

Материалы диссертации опубликованы в 20 печатных работах (одна в центральной печати) и доложены на научных конференциях: XII, XIII и XV Всероссийских научных конференциях памяти К.О. Кратца (С.-Петербург, 2001; Апатиты, 2002; С.-Петербург, 2004); Всероссийской конференции “Актуальные проблемы геоботаники: современные направления исследований в России” (Петрозаводск, 2001); Международной конференции “Полярные области Земли: геология, тектоника, ресурсное значение, природная среда” (С.-Петербург, 2001); региональной конференции “Естественнонаучные проблемы Арктического региона” (Мурманск, 2002); Всероссий-

ской конференции “Наука и образование” (Мурманск, 2003); Международной конференции “Актуальные проблемы современной альгологии” (Харьков, 2005).

Структура и объем

Диссертация содержит введение, 3 главы, выводы, 78 рис. и 26 табл. в тексте, 6 приложений и список литературы из 177 наименований общим объемом 166 страниц. Во введении сформулированы цели и задачи исследования. В гл. 1 дан обзор имеющихся сведений об онтогенезе колониальных *Volvocaceae*, включая результаты математического моделирования полиэдрических колоний. В гл. 2 изложена экспериментальная часть работы: условия выращивания и наблюдения *P. morum* в лабораторных условиях, а также принципы их компьютерного моделирования. В гл. 3 всесторонне обсуждены результаты измерения колоний *P. morum* в сравнении с данными комбинаторно-геометрического и компьютерного моделирования. В заключении обобщены результаты работы, показаны области их применения и сформулированы дальнейшие направления исследований. В приложениях даны систематизированные результаты наблюдений и измерений.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю д.г.-м.н. Ю.Л. Войтеховскому (ГИ КНЦ РАН) за постановку темы и помощь в работе, а также чл.-корр. РАН д.б.н. В.К. Жирову и д.б.н. П.А. Кашулину (ПАБСИ КНЦ РАН) за полезные консультации. Автор признателен д.б.н. А.Г. Десницкому (СПбГУ), д.б.н. Н.А. Кашулину, Т.А. Агеевой (ИЭПС КНЦ РАН), к.г.-м.н. Д.Г. Степенщикову, к.г.-м.н. Л.М. Лялиной, к.т.н. О.В. Головатой, к.т.н. В.Л. Ильченко, Л.И. Константиновой, Н.П. Калугиной, О.Г. Лехановой, М.П. Базанову, В.Е. Рявкину (ГИ КНЦ РАН), А.Н. Кулакову (ГоИ КНЦ РАН), к.х.н. С.В. Дрогобужской (ИХТРЭМС КНЦ РАН), Е.Н. Ворониной, И.П. Решетниковой (МГУ) за техническую помощь на различных этапах выполнения работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Литературный обзор

1.1. Водоросли как индикаторы состояния среды

В мировой и отечественной практике микроскопические водоросли традиционно используются для биоиндикации антропогенных воздействий. Этот подход позволяет получить интегральную оценку токсичности сточных и природных вод. На основе стандартизации методов биотестирования предложено использовать в качестве тест-объектов преимущественно представителей зеленых протококковых водорослей из родов *Scenedesmus* и *Chlorella*. Но есть основания полагать, что круг тест-организмов можно расширить за счет зеленых водорослей рода *Volvox*.

1.2. Онтогенез и морфологическое разнообразие представителей семейства *Volvocaceae*

Род *Volvox* принадлежит к семейству *Volvocaceae* и известен науке с 1700 г., но в течение XVIII и XIX вв. были описаны только 4 вида: *V. aureus* Ehr., *V. globator* (L.)

Ehr., *V. tertius* Meyer и *V. carteri* Stein. Первые три обнаружены в Европе, последний – в Индии. В начале XX в. в США, Африке и на Филиппинах обнаружены ещё 13 видов (Десницкий, 1996), во второй половине XX в. – *V. pocockiae* (Starr, 1970). Сегодня проблемы биогеографии, адаптационных изменений и морфологии колониальных *Volvocales* активно разрабатываются на примере *V. aureus* Ehr., *V. polychlamys* Korh. и *P. morum* (Coleman, 1977, 1994). На рис. 1 показан общий вид названных представителей рода *Volvox*. Их объединяет принцип построения полиэдрических колоний в виде одного слоя клеток примерно равного размера, сходящихся по три в каждой вершине.

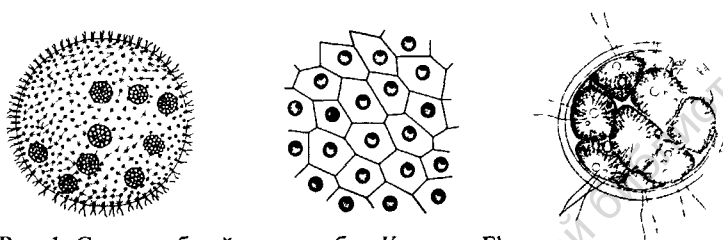


Рис. 1. Слева – общий вид ценобия *V. aureus* Ehr., в центре – полигональное разбиение поверхности ценобия *V. polychlamys* Korh., справа – общий вид ценобия *P. morum* (Дедусенко-Щёголева и др., 1959)

Онтогенез представителей рода *Volvox* в главных чертах сходен. Образование ценобиев *P. morum* происходит двумя способами. При бесполом размножении цитоплазма всех клеток ценобия последовательно делится на 16 дочерних с образованием однослойной пластинки (Горовец, 1976). Затем ее края заворачиваются, образуя полую сферу с маленьким отверстием, обращенным к наружной поверхности родительского ценобия. Клетки ориентированы так, что их передние концы, на которых должны возникнуть жгутики, направлены к центру сферы. Нормальная ориентация клеток достигается путем ее инверсии, после чего отверстие молодого ценобия закрывается (Горбунова, 1991). К концу вегетации у *P. morum* осуществляется половой процесс – гетерогамия. Образующиеся зиготы (гипнозиготы) шаровидные, гладкие, приобретают желто-красную окраску вследствие образования гематохрома и переходят в покоящееся состояние. Из четырех клеток, образующихся при прорастании зиготы, три дегенерируют и лишь одна превращается в крупную зооспору, из которой развиваются молодые ценобии (Дедусенко-Щёголева и др., 1959).

1.3. Моделирование колоний *Volvox aureus*

Систематические исследования комбинаторно-топологических и метрических свойств биологических тканей, рассматриваемых как фрагменты 2- и 3-мерных мозаик, были начаты Льюисом (Lewis, 1923, 1933, 1943, 1946). Суть проблемы состоит в том, чтобы в клеточной организации ткани, имеющей на первый взгляд случайный характер, различить инварианты, заданные пространством вложения, и переменные черты, определяемые условиями и механизмами онтогенеза. Интерес представляют и те, и другие. Первые могут служить целям типизации тканей и организмов,

вторые – реконструкции условий и механизмов роста. В отечественной биологии подходы Льюиса использованы и развиты в работах В.В. Смолянинова и В.М. Маресина (1971, 1972, 1980). Авторы смоделировали и экспериментально исследовали рост полиэдрических колоний *V. aureus* Ehr., представляющих собой клеточное разбиение сферы. Последнее накладывает специфические ограничения на характер организации колоний, но огромное число (1024) клеток, образующих зрелые колонии, не позволяет рассчитать потенциальное разнообразие их морфологических типов.

1.4. Моделирование колоний *Pandorina morum* (Müll.) Bory

Ранее показано (Войтеховский, 2001), что эта задача теоретически решается для *P. morum*. А именно, в соответствии с эмпирическими наблюдениями (Дедусенко-Щеголева и др., 1959; Голлербах, 1977) и математическими закономерностями разбиения сферической поверхности возможны лишь три комбинаторных типа зрелых 16-клеточных полиэдрических ценобиев этого вида (рис. 2).

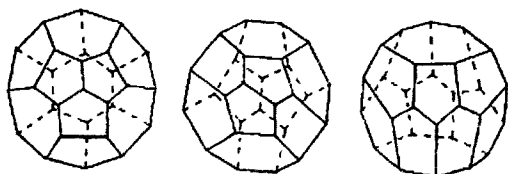


Рис. 2. Комбинаторно различные допустимые виды полноразвитых ценобиев *P. morum* в полиэдрической интерпретации с симметрией (слева направо): -43*m*, 222 и -7*m*.

Два из них (-43*m* и 222) принадлежат к типу фуллеренов, то есть полиэдров, на которых разрешены лишь 5- и 6-угольные грани, сходящиеся по три в каждой вершине. Один из них (222), не обладающий плоскостью симметрии, допускает энантиоморфный (зеркально-симметричный) двойник. Возникает вопрос о распространенности морфологических типов колоний в природе и их связи с условиями и механизмами онтогенеза. Его исследование представляется важным в связи с тем, что космополитный вид *P. morum* считают морфологически однообразным (Десницкий, 1991, 1995, 1996, 2003), а рост колоний в деталях недостаточно изучен (Angeler, 1998; Desnitski, 2000).

Глава 2. Экспериментальная часть

2.1. Условия выращивания *P. morum*

В эксперименте использована культура *P. morum*, полученная в лаборатории альгологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Материал выращивали в питательной среде Прата, для приготовления которой использовали дистиллированную воду и реактивы марки “чда” (в г/л воды): KNO_3 – 0.1, K_2HPO_4 – 0.01, $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.01, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.001, 5 мл/л почвенной вытяжки (Садчиков, 2003). Последнюю готовили следующим образом: 1 весовую часть почвы взбалтывали с 4 частями воды в течение 5 мин., фильтровали и стерилизовали в автоклаве. Для длительного хранения в питательную среду добавляли агар-агар (1.2 %). Водородный показатель среды близок к нейтральному (pH = 6-7). Питательную среду стерилизовали в автоклаве в течение 30 мин. при давлении 1 атм. Посуду и

инструменты перед экспериментом тщательно мыли, высушивали и выдерживали в сушильном шкафу при 165-180 °С в течение 2 ч. Выращенную синхронную культуру помещали в колбу в количестве 1/5 от ее объема, тщательно перемешивали и выдерживали при температуре 20-23 °С и освещении лампами дневного света в течение суток (Мосиенко, 1974). В дальнейшем культуру выращивали в комнатных условиях с режимом освещения: ночь – 8 ч., день – 16 ч. Продолжительность эксперимента от 1 до 1.5 мес. с наблюдениями через каждые 2-3 сут.

2.2. Методы наблюдения и измерения колоний *P. torum*

Для характеристики роста популяции всякий раз подсчитывали число колоний с различным числом клеток, их линейные размеры и морфологические типы, которые определяли тремя способами.

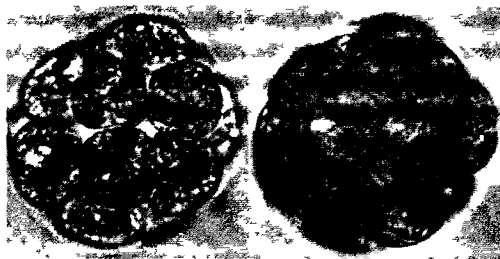


Рис. 3. Проявление обратной стороны колонии путем изменения фокусировки.

Во-первых, микроскопическое фотографирование колонии, свободно вращающейся в капле воды, в нескольких ракурсах позволяло получить представление о характере сцепления образующих ее клеток. Во-вторых, наложение покровного стекла позволяло зафиксировать колонию и, изменяя фокусировку, проявить ее обратную сторону (рис. 3). Наконец, в обоих случаях для идентификации комбинаторного типа колонии полезным было сравнение ее фотографических изображений (полученных под микроскопом в проходящем свете, $\times 250-300$) с компьютерными моделями, для чего была написана специальная программа. Определение симметрии полиэдрических колоний выполняли с помощью каталогов (Войтеховский, 1999, 2000; Войтеховский и др., 2000). Несмотря на все ухищрения, следует признать возможность ошибок реконструкции трехмерной колонии по ее двумерным изображениям. Результаты наблюдений обрабатывали и сравнивали с применением методов математической статистики, что позволяет считать их достоверными на приемлемом (0.05) уровне значимости.

2.3. Компьютерное моделирование колоний *P. torum*

Для теоретического определения морфологического разнообразия колоний программно реализована следующая модель. Каждая клетка представлялась в виде шара радиуса r , расположенного на сфере радиуса R (рис. 4). Перемещения клеток происходят так, что их центры все время остаются на сфере. Модель реализует этап формирования колонии, при котором клетки уже образовали сферическую поверхность

и стремятся занять на ней наиболее выгодное расположение, тесня друг друга, что моделируется силой отталкивания F .

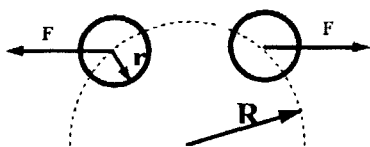


Рис. 4. Взаимодействие клеток в модели.

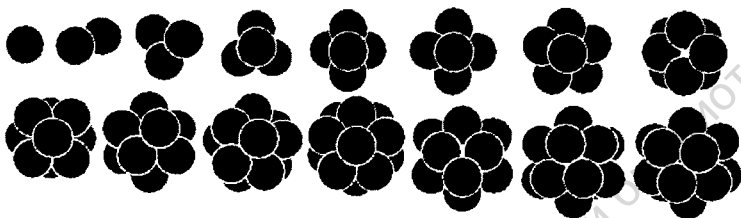


Рис. 5. Компьютерная модель роста колонии до стадии 15-клеток.

Генерирование колонии из N клеток в рамках модели имеет два варианта: добавление новых клеток и случайное расположение на сфере сразу всех клеток. Они приводят к одному результату: до $N = 15$ колонии формируются уникальным образом (рис. 5), для $N = 16$ возможны два типа колоний с симметриями $-43m$ и $-8m2$ (рис. 6). Методом Монте-Карло для 30000 моделей между ними установлена устойчивая пропорция 2.9 : 1 в пользу типа $-43m$ (рис. 7).

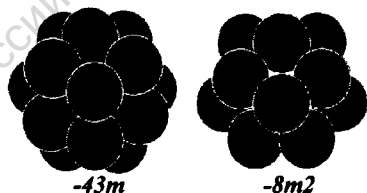
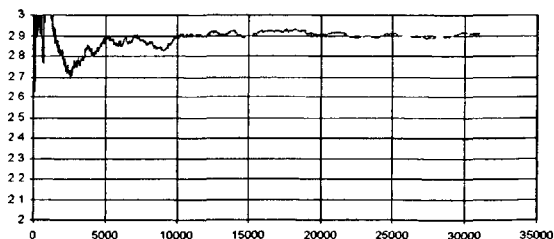


Рис. 6. Два типа 16-клеточной колонии *P. morum*.

Рис. 7. Динамика изменения пропорции между типами $-43m$ и $-8m2$ в компьютерном эксперименте по методу Монте-Карло.



2.4. Определение комбинаторного типа колоний *P. torum*

Наблюдения 16-клеточных ценобиев показали, что до стягивания клеток она имеет одну и ту же структуру, представимую в виде полиэдра с симметрией $-8m2$. Данный тип ценобиев может существовать только в неуплотненном виде (рис. 8).

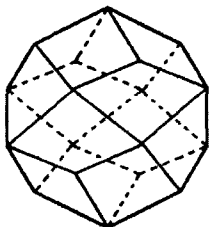
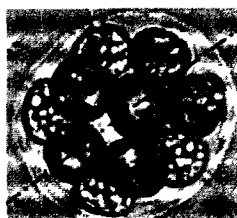


Рис. 8 Неуплотненная 16-клеточная колония типа $-8m2$ (фото автора) и ее полиэдрическая интерпретация.

На реальных полиэдрических ценобиях четыре клетки никогда не встречаются в одной точке. Соблюдение этого правила приводит к тому, что два допустимых способа уплотнения колонии $-8m2$ (рис. 9) дают две энантиоморфных разновидности полиэдра типа 222 (рис. 2). Полиэдрический ценобий типа $-7m$ (рис. 2) в компьютерном эксперименте не встречен. Ему противоречит строгое равенство размеров клеток, при котором ни одна из них не может находиться в окружении семи подобных. Такая конфигурация неустойчива при уплотнении колонии.

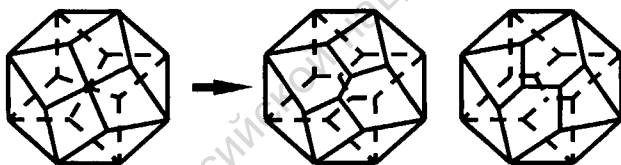


Рис. 9. Уплотнение колонии типа $-8m2$ приводит к одной из энантиоморфных разновидностей полиэдра с симметрией 222

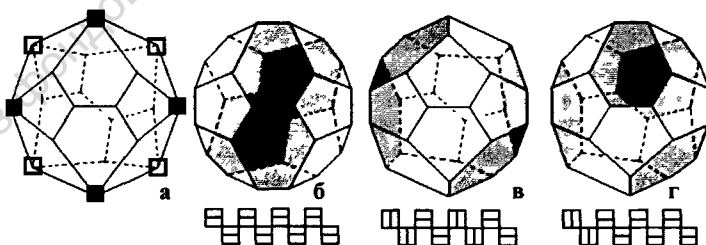


Рис. 10. а – форма колонии с частично растянутыми непростыми вершинами, б, в – варианты приведения формы а к виду с симметрией 222 , г – приведение формы а к виду с симметрией $-43m$. Для наглядности 6-угольные грани обозначены серым цветом.

Определение комбинаторного типа колоний представляет трудную задачу. Большая часть 16-клеточных колоний *P. morum* располагается так, что их ось вращения параллельна плоскости предметного стекла. Кроме нестянутости клеток, в колониях присутствуют следующие дефекты: наличие клеток разного размера и отсутствие некоторых клеток в колонии. Комбинаторные типы колоний определялись по взаимному расположению 5- и 6-угольных граней, а также ребер. Для фиксации наблюдений разработан следующий способ записи взаимного расположения ребер. Считая, что колония *P. morum* содержит только 5- и 6-угольные клетки, найдены все возможные переходы непростой формы в простую, а именно в тип -43*m* и 222. При этом непростые вершины, лежащие на оси вращения, растягиваются, приводя к единственной форме. Экваториальные вершины разбиваются на два пояса по четыре вершины в каждом (на рис. 10 обозначены черными и белыми квадратами). Растягивание вершин поясов с соблюдением вида граней приводит к трем случаям, два из которых дают тип колонии 222 и один – тип -43*m*.

Глава 3. Результаты эксперимента и обсуждение

3.1. Рост численности популяции *P. morum*

В эксперименте использована синхронно выращенная культура *P. morum*. Подсчет численности осуществлялся в камере Горяева, рекомендованной для анализа планктона, не содержащего крупных форм (Фёдоров, 1979). Для большей достоверности подсчет проводился по всей площади камеры. Расчет числа клеток выполнялся по формуле:

$$N = K n A / a v 1000 / V,$$

где: N – число организмов в 1 л воды; K – коэффициент, показывающий во сколько раз объём счетной камеры меньше 1 см³; n – число организмов на просмотренных дорожках (квадратах, полосах) счетной камеры; A – число дорожек (квадратов, полосок) в счетной камере; a – число дорожек (квадратов, полосок), на которых производился подсчет водорослей; V – первоначальный объём отобранной пробы (см³); v – объём сгущенной пробы.

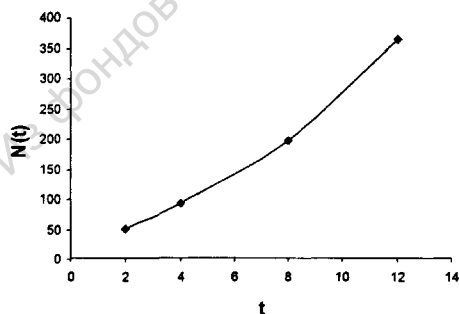


Рис. 11. Рост численности популяции *P. morum*. Замеры выполнялись на 2, 4, 8 и 12 сутки после посева культуры в новую питательную среду.

Рис. 11 показывает экспоненциальный рост численности популяции, типичный для среды “с неограниченными ресурсами”, в соответствии с уравнением:

$$dN(t) / dt = kN(t),$$

где $k > 0$ – коэффициент прироста, $N(t)$ – число клеток в момент времени t .

3.2. Распределение размеров колоний *P. morum* с различным числом клеток

Размеры преобладающих в популяции 4- и 8-, а также зрелых 16-клеточных колоний *P. morum* определялись по их фотоизображениям при известном увеличении микроскопа. Всего было измерено 117 4-клеточных, 98 8-клеточных и 105 16-клеточных колоний. Установлены следующие размерные диапазоны: для 4-клеточных колоний 11,8-29,8; для 8-клеточных 20,0-36,9; для 16-клеточных 30,9-

52,6 мкм. Литературные данные о размерах колоний *P. morum* противоречивы. В определителе Пашера (Pascher, 1927) указаны размеры полноразвитых ценобиев до 250 мкм. В определителе (Pascher, 1953) для них же приведен диапазон 20-60 мкм. Дедусенко-Щеголева и др. (1959) указывают максимальный размер ценобиев *P. morum* в 250 мкм, вероятно, вслед за Пашером (1927). Результаты автора согласуются с данными Х.А. Алимжанова и Р.Ш. Шоякубова (1996), отмечавшими в Ташкентской обл. 8- и 16-клеточные ценобии диаметром от 9.4 до 59.6 мкм.

На рис. 12 показаны частотные распределения размеров 4-, 8- и 16-клеточных колоний *P. morum*. Критерием “хи-квадрат” установлено, что они имеют гауссов характер на уровне значимости 0.05, что является типичным для однородных выборок биологических объектов. Слабая правая асимметрия распределения размеров 16-клеточных ценобиев, возможно, имеет субъективный характер. Исследование было в значительной мере ориентировано на изучение зрелых 16-клеточных колоний. В выборку могло быть непропорционально включено их завышенное число.

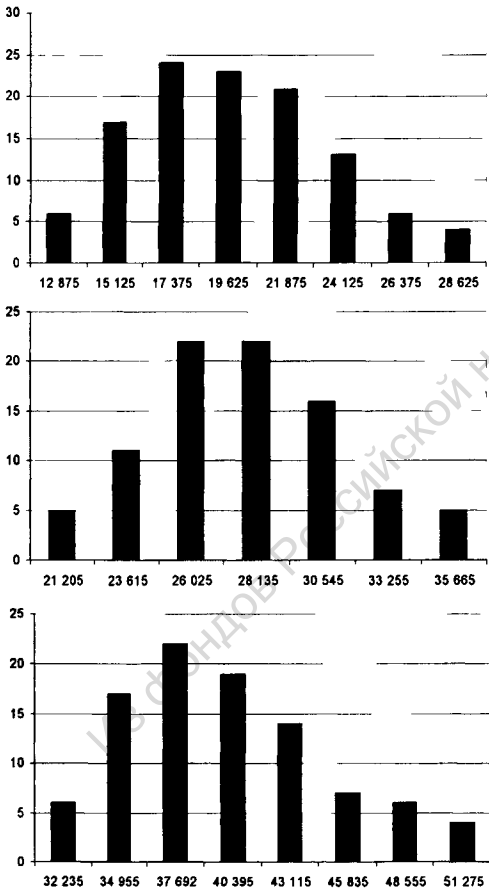


Рис. 12. Частотные гистограммы размеров 4- (вверху), 8- (в центре) и 16-клеточных (внизу) колоний *P. morum*.

Между радиусами r клетки и R колонии впервые установлена зависимость. Исходя из равенства (в первом приближении) суммы площадей поперечных сечений всех (N) клеток и площади поверхности сферической колонии $\pi r^2 N = 4 \pi R^2$, получаем $R = 0.5 r N^{1/2}$. Учитывая приближенный характер формулы, неидеальность сферических колоний, наличие пор между клетками, формулу лучше записать в виде $R = k r N^{1/2}$, где коэффициент k отражает указанные оговорки.

3.3. Частотные спектры колоний *P. morum*

Подсчет числа колоний с различным числом клеток показал устойчивый частотный спектр с хорошо выраженными модами для 4-, 6- и 8-клеточных колоний (табл. 1). Различная высота пиков обусловлена различным общим числом проанализированных колоний. В относительном выражении графики на рис. 13 практически сливаются друг с другом, что подтверждено критерием “хи-квадрат” на приемлемом (0.05) уровне значимости. Этот впервые установленный феномен находит свое объяснение при рассмотрении морфологических типов колоний *P. morum* на всех стадиях роста – от объединения первых клеток через формирование многоклеточных неуплотненных колоний до образования полноразвитых полиэдрических 16-клеточных колоний.

Таблица 1

Число колоний *P. morum* с различным числом клеток

| Число клеток | Даты подсчета числа колоний с различным числом клеток, 2003 г. | | | | | | | | | |
|--------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 24.08 | 27.08 | 30.08 | 03.09 | 06.09 | 08.09 | 12.09 | 15.09 | 17.09 | 19.09 |
| 1 | 188 | 8 | 103 | 1 | 6 | 1 | 100 | 15 | 5 | 132 |
| 2 | 37 | 3 | 8 | 1 | 1 | 1 | 18 | 3 | 2 | 22 |
| 3 | 13 | 2 | 1 | 0 | 1 | 2 | 8 | 2 | 2 | 11 |
| 4 | 30 | 32 | 13 | 16 | 10 | 16 | 24 | 25 | 11 | 29 |
| 5 | 3 | 9 | 6 | 0 | 3 | 3 | 4 | 3 | 6 | 1 |
| 6 | 8 | 11 | 13 | 4 | 2 | 9 | 8 | 13 | 16 | 2 |
| 7 | 1 | 4 | 4 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 0 |
| 8 | 215 | 259 | 227 | 151 | 130 | 183 | 150 | 190 | 131 | 132 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 16 | 7 | 12 | 1 | 4 | 2 | 2 | 5 | 3 | 4 | 0 |
| Всего: | 502 | 343 | 380 | 179 | 157 | 219 | 321 | 256 | 183 | 330 |

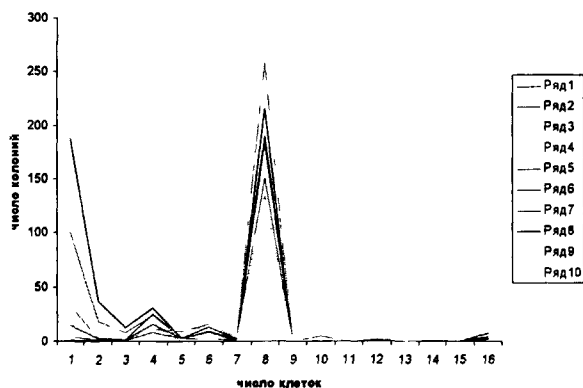


Рис. 13. Число колоний *P. morum* с различным числом клеток. Номера рядов соответствуют последовательным датам подсчета в табл. 1.

3.4. Симметрия колоний *P. morum* с различным числом клеток

Определение комбинаторного типа (числа и взаимного расположения клеток с различной координацией) и симметрии колоний *P. morum* представляет собой непростую задачу. Процедура определения типа колонии состоит в ее полиэдризации (центры контактирующих клеток мысленно соединяются отрезками) и определении комбинаторного типа и симметрии полученного полиэдра. Трудность состоит в том, что наблюдение быстро вращающихся колоний в капле воды под микроскопом не позволяет зафиксировать ее тип. С другой стороны, анализ фотографических изображений колонии не всегда позволяет составить ее 3D реконструкцию.

Значительная часть колоний имеет те или иные “дефекты”, затрудняющие определение комбинаторного типа. К ним относится “рыхлость” колонии, когда между клетками имеются большие пустоты. В этих случаях полиэдризация колонии часто приводит к ситуации, когда в одной вершине полиэдра сходятся четыре грани. Но на реальных полиэдрических 16-клеточных ценобиях четыре клетки никогда не контактируют друг с другом. Поэтому при изучении 16-клеточных неуплотненных колоний учитывались только те, которые приводили к однозначной интерпретации. Еще одним дефектом является различие в размерах клеток. В этих случаях полиэдрическая интерпретация 16-клеточных колоний часто приводит к морфотипам с симметрией, отличной от $-43m$ и 222 . Дорастание малых клеток до среднего размера приведет колонию к одному из этих типов. Но ради объективности подобные колонии из подсчета исключались независимо от числа клеток в колонии.

На Рис. 14 даны преобладающие морфотипы неуплотненных (вплоть до 15-клеточных) и полиэдрических 16-клеточных колоний *P. morum*, в совокупности моделирующие их рост. Определение симметрии выполнялось с помощью каталогов полиэдрических форм (Войтеховский, 1999, 2000; Войтеховский и др., 2000). Установлено, что при любом числе клеток колонии принимают наиболее симметричную форму: 4-клеточные колонии образуют тетраэдр ($-43m$); 6-клеточные – октаэдр ($m-3m$), но бывают сжаты вдоль оси L_3 до тригональной антипризмы ($-3m$); 8-клеточные имеют симметрию тетрагонального тетраэдра ($-42m$), но при уплотнении происхо-

дит разворот двух 4-клеточных комплексов друг относительно друга с понижением симметрии до 222.

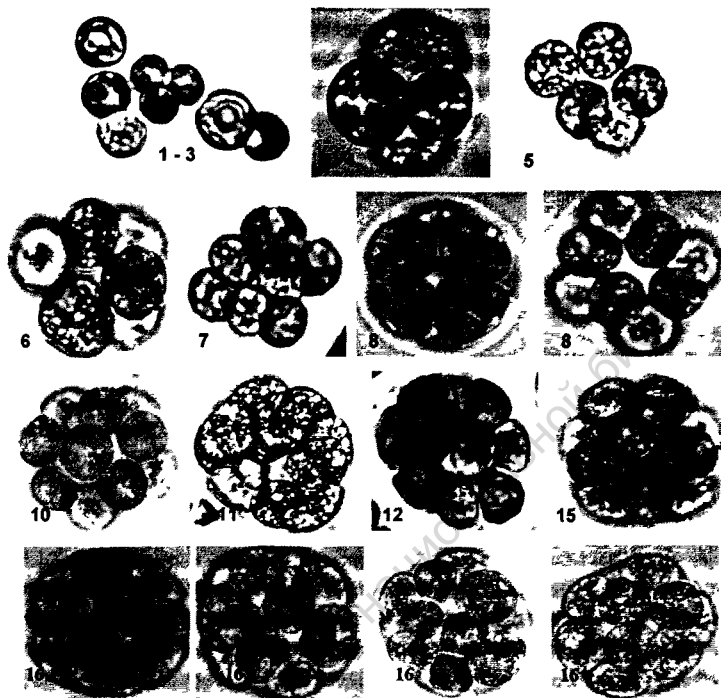


Рис. 14. Преобладающие типы неуплотненных (до 15-клеточных) и полиэдрических 16-клеточных колоний *P. morum*. Числа клеток в колониях даны рядом с изображением

Всего зафиксировано 114 полиэдрических 16-клеточных колоний. Из них 73 имели симметрию $-43m$, 24 – симметрию 222. В 17 случаях симметрия однозначно не определена, так как колонии не были вполне сформированы – между клетками сохранялись поры. Таким образом, из трех теоретически возможных комбинаторных типов полиэдрических колоний *P. morum* (рис. 2) установлены два ($-43m$ и 222) в пропорции 3:1, что согласуется с результатами компьютерного моделирования и, по-видимому, указывает на случайный характер сборки колоний из клеток.

Многие организмы встречаются в природе в зеркально-симметричных формах (Касинов, 1971). С геометрической точки зрения для этого достаточно, чтобы в симметрии объекта присутствовали только простые поворотные оси. К таковым относятся 8-клеточные уплотненные и 16-клеточные полиэдрические колонии с симметрией 222. Изучение пропорций между их правыми и левыми разновидностями – задача будущего исследования.

Установленные факты могут быть интерпретированы в рамках принципа диссимметрии Кюри, который гласит, что в растущем объекте сохраняются лишь те элементы симметрии, которые не противоречат симметрии среды. Не реализовавшиеся элементы характеризуют его диссимметрию. В рассмотренной ситуации покоящаяся водная среда, с одной стороны, и отсутствие двигательной специализации клеток, с другой стороны, не накладывают ограничений на симметрию колоний *P. morum*. Поэтому при любом числе клеток они стремятся приобрести наиболее симметричную форму. При этом подчеркнем важное обстоятельство. Среди полноразвитых 16-клеточных ценобиев наиболее распространен тип -43m, самый симметричный из возможных. Реже (как и для 8-клеточных колоний) встречается тип 222, особенностью организации которого являются три взаимно перпендикулярные оси симметрии L_2 . Именно они “разрешают” свободное вращение колоний в трехмерном пространстве. Видимо, их наличие является минимальным требованием к существованию колоний *P. morum* в природной среде.

Предложенная интерпретация подтверждается на примере 8-клеточных колоний. Среди них преобладают колонии с симметрией тетрагонального тетраэдра (-42m). Для 8-гранников возможны лишь три более симметричные формы (Войтеховский, 1999): гексагональная призма (6/mmm), усеченный кубический тетраэдр (-43m) и куб, усеченный по двум противоположным вершинам (-3m). Их реализация в виде колоний *P. morum* приводит к следующим координациям клеток: 4 и 6, 3 и 6, 3 и 5, что невозможно при их близких размерах. Легко представить, что клетки с координациями 3 и 4 (т.е. зажатые между тремя и четырьмя другими) должны быть существенно меньше окружающих. Таким образом, в своих морфологических чертах колонии *P. morum* показывают замечательный пример сочетания комбинаторно-геометрических закономерностей, обусловленных свойствами полигональных разбиений сферы и не зависящих от условий формирования, и преобладание наиболее симметричных типов именно в результате их взаимодействия с окружающей средой в соответствии с принципом Кюри.

Выводы

В работе представлены результаты изучения морфологического разнообразия полиэдрических колоний *P. morum*, выращенных в искусственной среде, близкой к природной. Основные результаты исследования состоят в следующем:

1. После перенесения культуры *P. morum* в питательную среду численность популяции растет по экспоненте, что характерно для сред с неограниченными ресурсами. Новые клетки, образующиеся при делении исходных, могут формировать свои колонии или встраиваться в старые с дорастанием до среднего размера. Последнее обстоятельство ранее в литературе не обсуждалось.
2. Размеры колоний *P. morum* при любом числе клеток распределены по гауссову закону, что типично для однородных выборок биологических объектов. При этом радиус колонии пропорционален корню квадратному из числа клеток $R = k \sqrt{N}$ с точностью до множителя k , зависящего главным образом от степени уплотнения колонии.

3. Несмотря на численный рост популяции *P. morum*, частотный спектр по числу образующих колонии клеток остается устойчивым с хорошо различимыми модами для 4-, 6- и 8-клеточных колоний. Этот факт установлен впервые.
4. Из трех теоретически возможных морфотипов 16-клеточных полиэдрических це-нобиев *P. morum* в природе реализуются два (-43m и 222) в пропорции 3:1, что согласуется с компьютерным экспериментом и указывает на случайный характер сборки колоний из клеток.
5. Теоретически возможный морфотип -7m требует координации 7 для двух полярно расположенных клеток, что возможно лишь при их относительно большом размере и в эксперименте не зафиксировано.
6. При любом числе клеток колонии *P. morum* стремятся принять максимально симметричную форму, что можно объяснить в рамках принципа Кюри как реакцию на отсутствие двигательной специализации клеток и диссимметризирующего влияния среды.

В.И. Вернадский придавал исключительное значение геометрическим свойствам пространства, лежащим в основе “природных правильностей”, определяющих закономерности освоения планеты “живым веществом”. Он указывал на перспективность симметричного метода описания природных объектов и одним из первых среди русских ученых обратил внимание на работы Л. Пастера и П. Кюри. Для изучения биологических объектов этот подход используется недостаточно широко (Алпатов, 1957; Урманцев, 1960, 1974; Беклемешев, 1964). Данная работа является еще одним примером такого рода. В теоретическом аспекте, ее значение состоит в том, что на примере *P. morum* выявлены новые взаимоотношения биологического вида с окружающей средой. В практическом аспекте, найденные характеристики отношения *P. morum* с экологически чистой средой могут быть взяты в качестве эталона. Дальнейшие исследования должны показать, как они меняются при тех или иных загрязнениях среды.

Публикации по теме диссертации

1. Тимофеева М.Г. Морфологическое разнообразие *Pandorina morum* (Müll) Vory как индикатор состояния среды // Тез. докл. IV науч. конф. КФ ПетрГУ. Апатиты, 12-13 апр. 2001 г. – Апатиты: КФ ПетрГУ, 2001. – С. 44-45.
2. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. Полиэдрические формы: нетрадиционное применение биоминеральной гомологии // Геология и геоэкология Фенноскандинавского щита, Восточно-Европейской платформы и их обрамления: Матер. XII научн. конф. памяти К.О. Кратца. С.-Петербург, 26-28 апр. 2001 г. – С.-Петербург: ИГД РАН, 2001. – С. 115-116.
3. Тимофеева М.Г. Биоминеральная гомология: вольвоксы и фуллерены // Структура, вещество, история литосферы Тимано-Североуральского сегмента: Матер. X научн. конф. ИГ Коми НЦ УрО РАН Сыктывкар, 5-6 дек 2001 г. – Сыктывкар: Геопринт, 2001. – С. 193-194.
4. Тимофеева М.Г. Морфологическое разнообразие колониальных *Volvocaceae* как индикатор экологического состояния среды // Актуальные вопросы экологической физиологии растений в XXI веке: Тез. докл. межд. конф. Сыктывкар, 1-6 окт. 2001 г. – Сыктывкар: Геопринт, 2001 – С. 344-345.
5. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. Морфологическое разнообразие *Pandorina morum* (Müll) Vory // Актуальные проблемы геоботаники. Современные направления исследований в России: методологии, методы и способы обработки материалов: Тез. докл. Всерос. школы-конф. Петрозаводск, 22-26 окт. 2001 г. – Петрозаводск: ПетрГУ, 2001. – С. 183-184.

6. Войтеховский Ю.Л., Тимофеева М.Г. Морфологическое разнообразие полиэдрических *Volvocaceae* как индикатор экологических изменений на Кольском Севере // Полярные области Земли: геология, тектоника, ресурсное значение, природная среда: Тез. докл. междунар. конф. С.-Петербург, 1-3 нояб. 2001 г. – С.-Петербург: ВНИИОкеангеология, 2001. – С. 222-224.
7. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. *Pandorina morum* (Müll.) Vory как индикатор состояния биоценоза // Наука и образование: Матер. Всерос. научн. конф. Мурманск, 16-29 апр. 2002 г. – Мурманск: МГТУ, 2002. – С. 613-615.
8. Тимофеева М.Г. Математический подход к оценке морфологического разнообразия колониальных *Volvocaceae* // Биология – наука XXI века: Тез. докл. VI конф. молодых учёных. Пушкино, 20-24 мая 2002 г. – Пушкино: Биол. центр, 2002. – С. 196-197.
9. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. *Pandorina morum* (Müll.) Vory как потенциальный индикатор загрязнения среды // Геология и геоэкология, исследование молодых: Матер. XIII конф. памяти К.О. Кратца. Апатиты, 19-21 нояб. 2002 г. – Апатиты: КНЦ РАН, 2002. – С. 179-182.
10. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. *Pandorina morum* (Müll.) Vory как индикатор экологического состояния биоценоза // Естественнонаучные проблемы Арктического региона: Тр. III регион. научн. конф. Мурманск, 23-25 апр. 2002 г. – Мурманск: КНЦ РАН, 2002. – С. 68-71.
11. Тимофеева М.Г. Изучение морфологического разнообразия колоний *Pandorina morum* (Müll.) Vory в лабораторных условиях // Естественнонаучные проблемы Арктического региона: Тр. IV регион. научн. конф. Мурманск, 22-24 апр. 2003 г. – Мурманск: КНЦ РАН, 2003. – С. 92-94.
12. Тимофеева М.Г. Фуллереноподобные формы в живой природе // Матер. научн. сессии КО РМО, посв. 150-летию со дня рожд. Е.С. Федорова, А. Шенфлиса и В. Гольшмидта Апатиты, 30 мая 2003 г. – Апатиты: К & М, 2003. – С. 42-46.
13. Тимофеева М.Г. Проблемы изучения биоразнообразия: полиэдрические *Volvocaceae* // Экология – 2003: Тез. докл. междунар. конф. Архангельск, 17-19 июня 2003 г. – Архангельск: АрхНЦ РАН, 2003. – С. 149-150.
14. Тимофеева М.Г. Использование микроскопических водорослей в качестве индикатора состояния среды // Биологические и географические науки. – Мурманск: МГПИ, 2002. – С. 79-82.
15. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. Распределение размеров и статистика колоний *Pandorina morum* (Müll.) Vory с различным числом клеток // Естественнонаучные проблемы Арктического региона: Тез. докл. V регион. научн. конф. Мурманск, 20-21 апр. 2004 г. – Мурманск: КНЦ РАН, 2004. – С. 36-37.
16. Voytekhovskiy Y.L., Timofeeva M.G. Fullerenes, Viruses, Radolaria and Volvocaceae as a fundamental biomineral homology // 32nd IGC. Italy, Florence, 2004. Sc. sessions. Abstr. Vol. I. P. 98.
17. Тимофеева М.Г., Войтеховский Ю.Л. Частотные спектры *Pandorina morum* (Müll.) Vory как потенциальный индикатор экологического состояния среды. // Геология и геоэкология Европейской России и сопредельных территорий: Матер. XV научн. конф. памяти К.О. Кратца. С.-Петербург, 13-16 окт. 2004 г. – С.-Петербург, 2004. – С. 172-174.
18. Тимофеева М.Г. Морфологическое разнообразие полиэдрических колоний *Pandorina morum* (Müll.) Vory // Актуальные проблемы современной альгологии: Матер. III междунар. конф. Харьков, 20-23 апр. 2005 г. – Харьков: ХГУ, 2005. – С. 158-161.
19. Тимофеева М.Г. Фуллерены в живой природе – полиэдрические колонии *Pandorina morum* (Müll.) Vory // Математические исследования в кристаллографии, минералогии и петрографии: Тр. Всерос. научн. школы. Апатиты, 3-7 октяб. 2005 г. – Апатиты: К & М, 2005. – С. 82-91
20. Войтеховский Ю.Л., Тимофеева М.Г., Степенников Д.Г. Принцип Кюри и морфологическое разнообразие колоний *Pandorina morum* (Müll.) Vory (*Volvocaceae*) // Журнал общей биологии. 2006. № 3. С. 207-212.

Из фондов Российской национальной библиотеки

Подписано в печать 19.04.06.
Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.
1 уч –изд л. Тираж 100 экз. Изд. № 108.
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Типография Издательства ПетрГУ
185910, Петрозаводск, пр Ленина, 33

2006A
9121

Р - 9 1 2 1

Из фондов Российской национальной библиотеки