

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.Ломоносова

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микологии и альгологии

**Формирование апекса клеток *Euastrum*
(Zygnematomphyceae, Desmidiiales) на примере
двух видов**

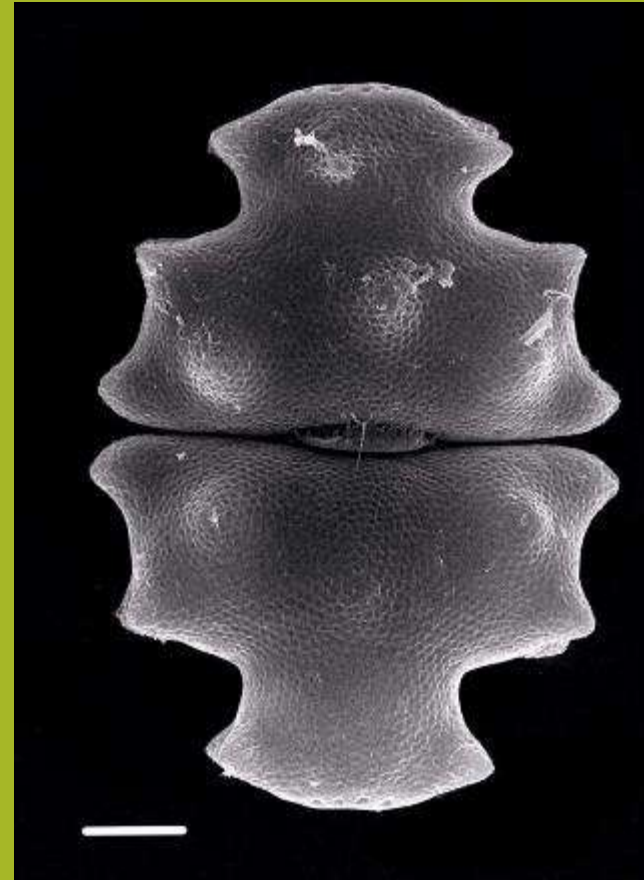
Работу выполнила:
студентка 3 курса Калинина А.О.

Научные руководители:
канд. биол. наук
Анисимова Ольга Викторовна
канд. биол. наук
Воронко Оксана Васильевна

Отдел Charophyta
Класс Zygnematophyceae
Порядок Desmiales
Семейство Desmidiaceae

***Euastrum
ansatum*
Ehrenberg ex
Ralfs**
Размерные
характеристики
клеток из культуры
(n=20):

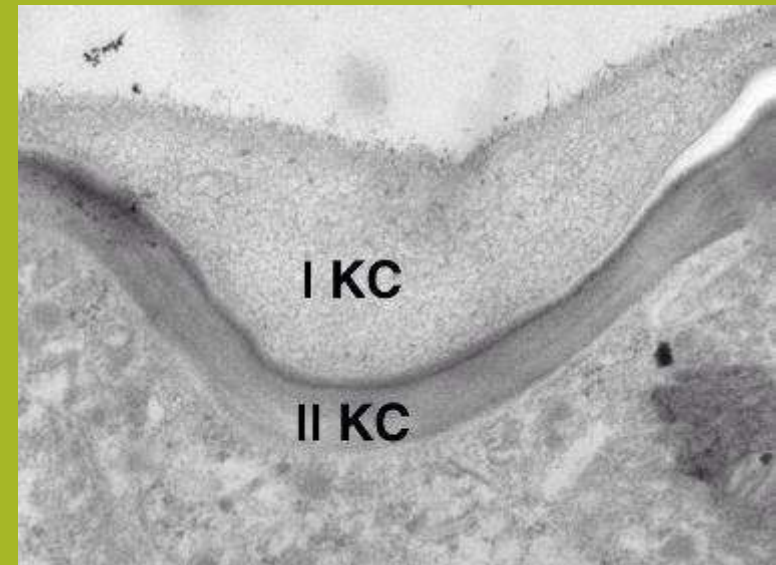
- длина 60-70
мкм
- ширина 32-38
мкм
- ширина
перешейка 8-12
мкм



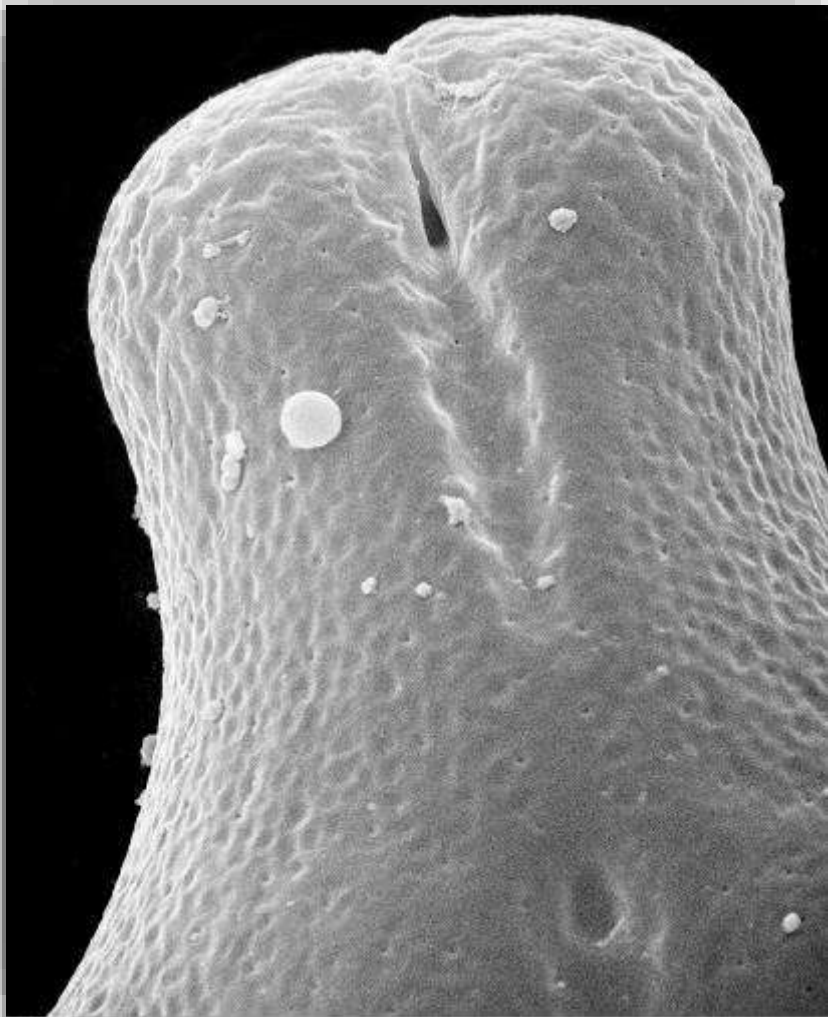
***Euastrum pectinatum*
Brébisson ex Ralfs**

Размерные
характеристики клеток
из культуры (n=20):

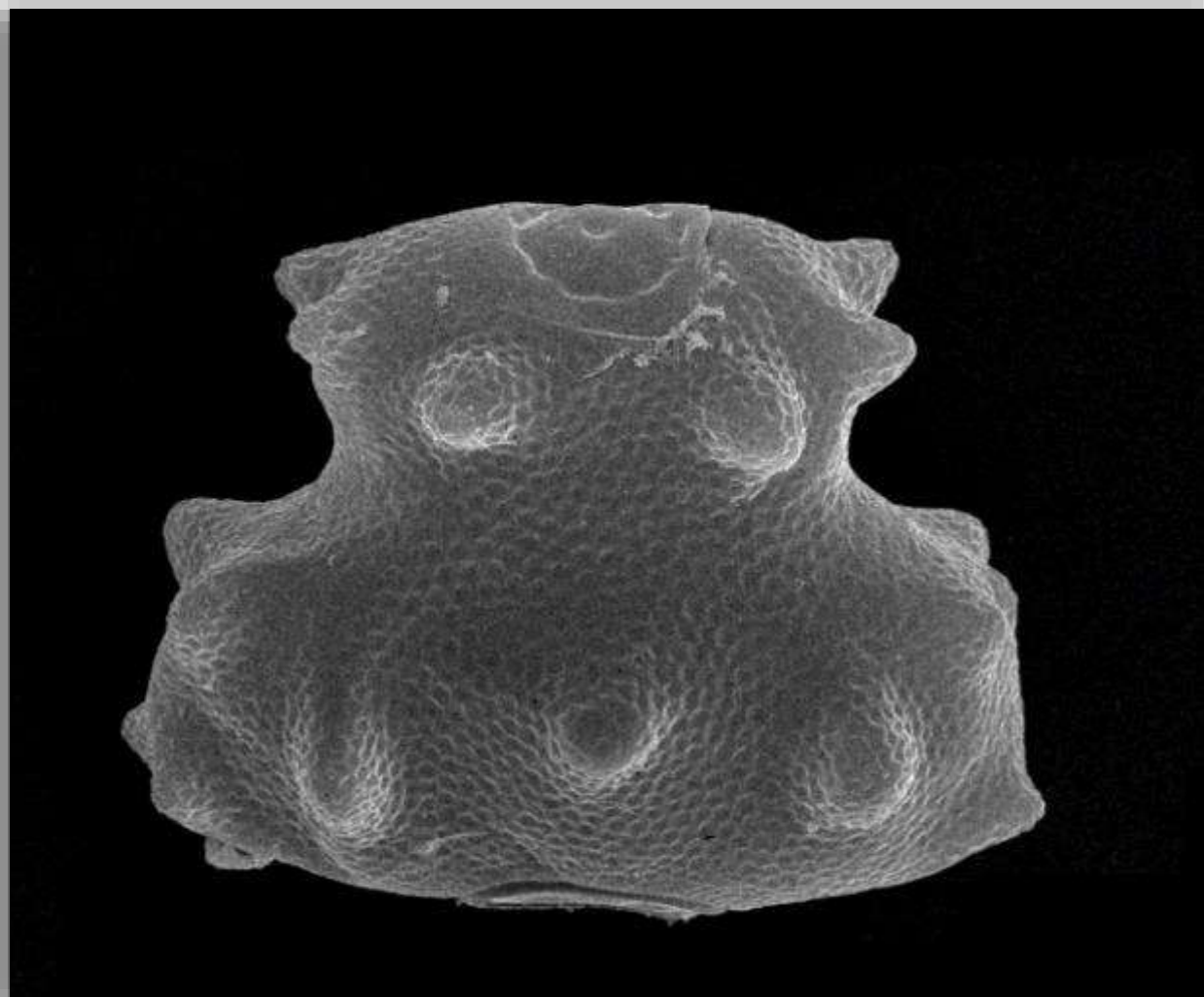
- длина 48-54 мкм,
ширина 30-34 мкм
- ширина перешейка
7-10 мкм
- ширина полярной
лопасти 18-22 мкм.



Строение оболочки
клетки рода *Euastrum*



Верхушечный вырез *Euastrum ansatum*



Апекс *Euastrum pectinatum* с системой пор

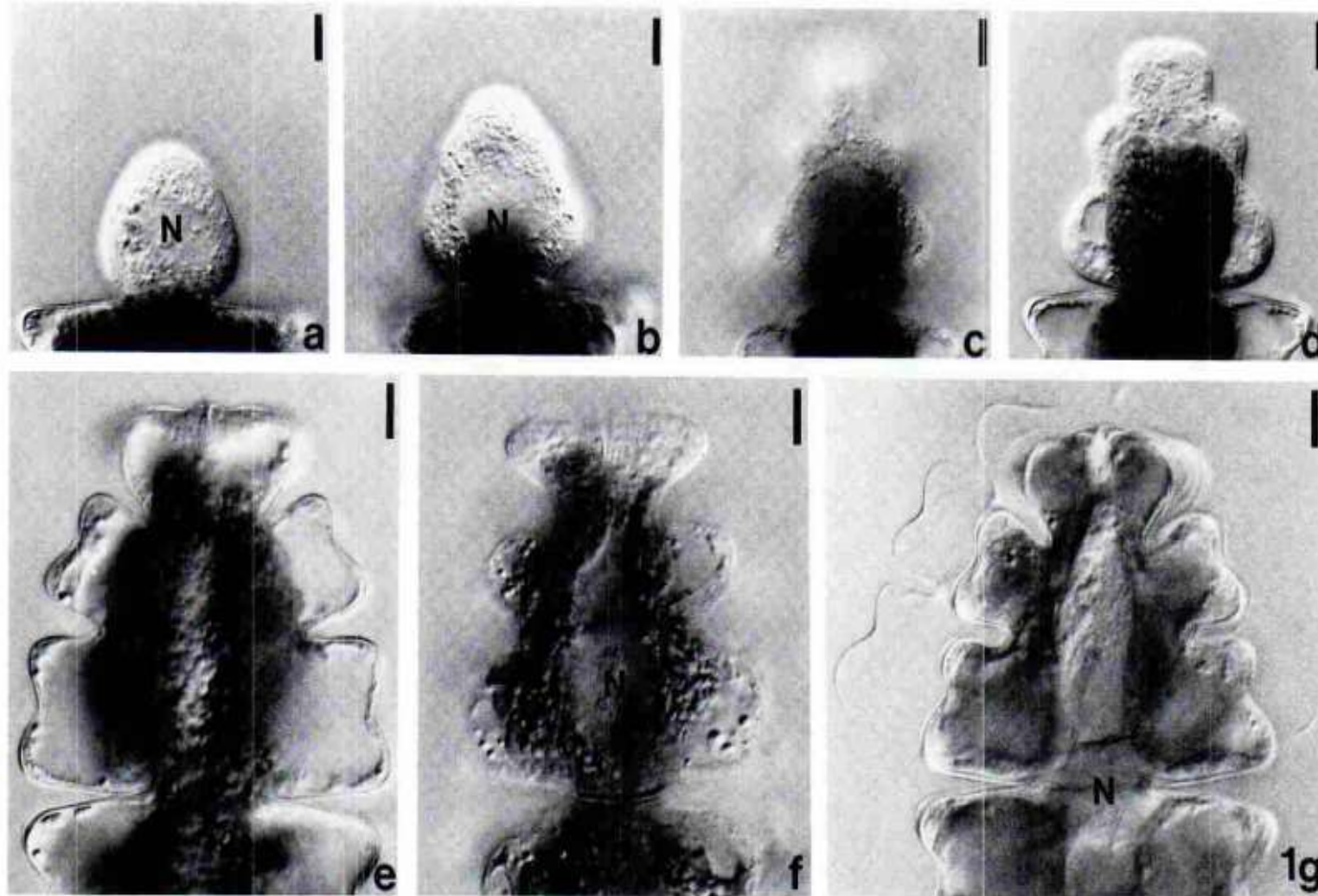
Цель и задачи

Цель — изучить процесс формирования апекса у клеток *Euastrum* на примере двух видов (*Euastrum ansatum* и *E. pectinatum*)

Задачи:

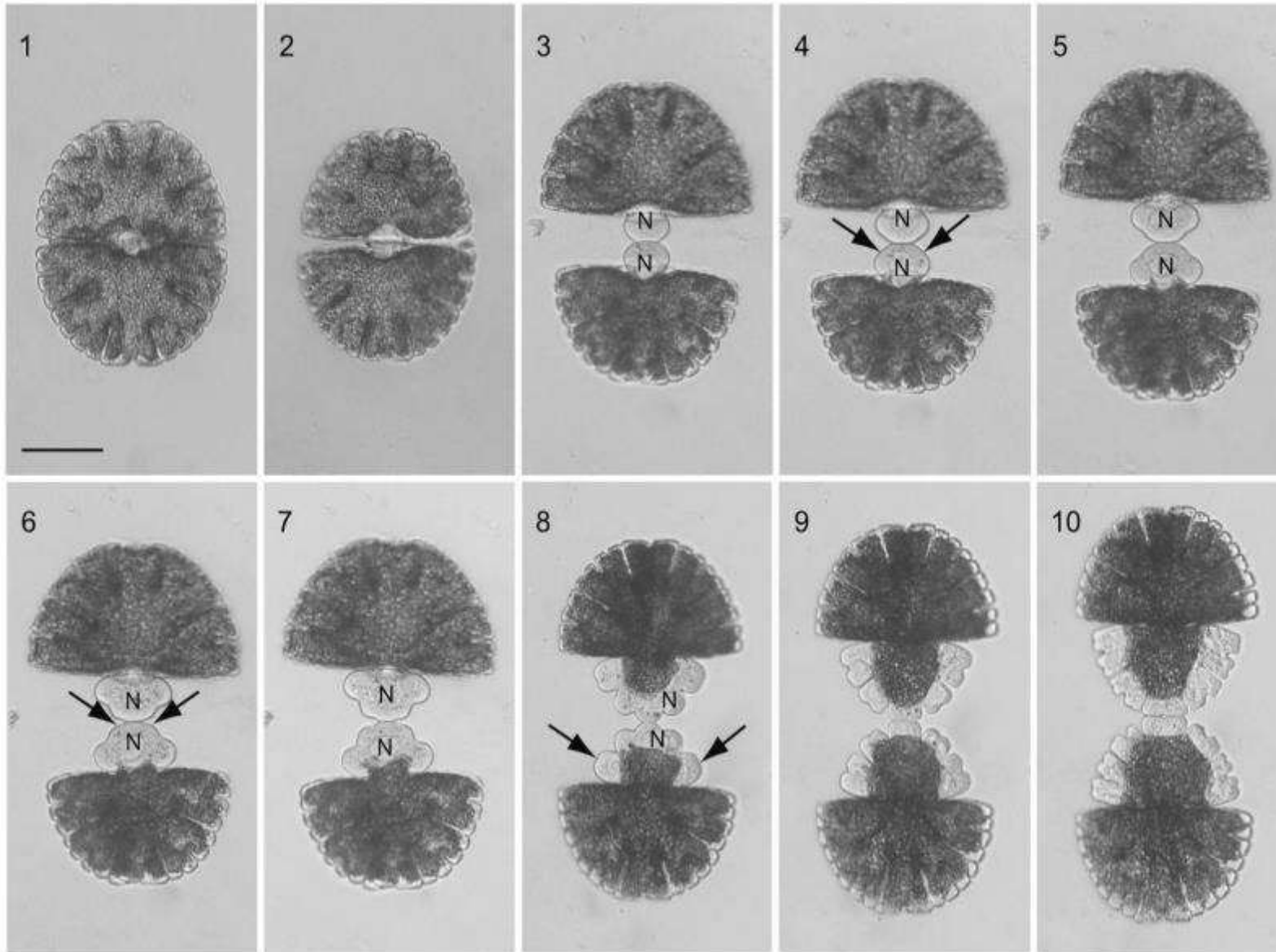
1. Проследить и описать процесс деления клеток *Euastrum ansatum* и *E. pectinatum* с использованием методов световой микроскопии.
2. Изучить ультраструктуру клеток *Euastrum ansatum* на разных этапах деления с использованием методов электронной микроскопии.
3. Выявить особенности и описать процесс формирования полярных лопастей и апексов клеток *E. ansatum* и *E. pectinatum*.

Деление клеток в роде *Euastrum*



Стадии формирования новой полуклетки *E. oblongum* (по Uri et al., 1992). N - положение ядра. Масштабные линейки 10 мкм.

Деление клеток в роде *Micrasterias*



Стадии формирования новой полуклетки *M. denticulata* (по Vannerum, 2010). N - положение ядра, стрелками указаны места начала формирования лопасти. Масштабная линейка 50 мкм.

Работы по изучению деления в роде *Micrasterias*:

Kallio, 1953

Kallio, Lehtonen, 1981;

Kiermayer, 1966, 1981;

Lacalli, 1973, 1975, 1976;

Meindl, 1993

Tippit, Pickett-Heaps, 1974;

Vannerum, 2010

Vannerum et al., 2011

Материалы и методы

Условия культивирования:

- Световой режим 12/12
- Среда Whplus

Трансмиссионная электронная микроскопия:

- фиксации:
 - гutarовый альдегид с тетраоксидом осмия (удачный)
 - формальдегид с перманганатом калия (неудачный)
- Ультратом Ultratom-3 (LKB)
- Микроскопы JEOL JEM-1400Flash и JEOL JEM-1011

Световая микроскопия:

- Leica DM1000, Axiocor 40 FL
- Камеры Touptek-9.0 и ToupCam
- Покадровая съемка в TopView

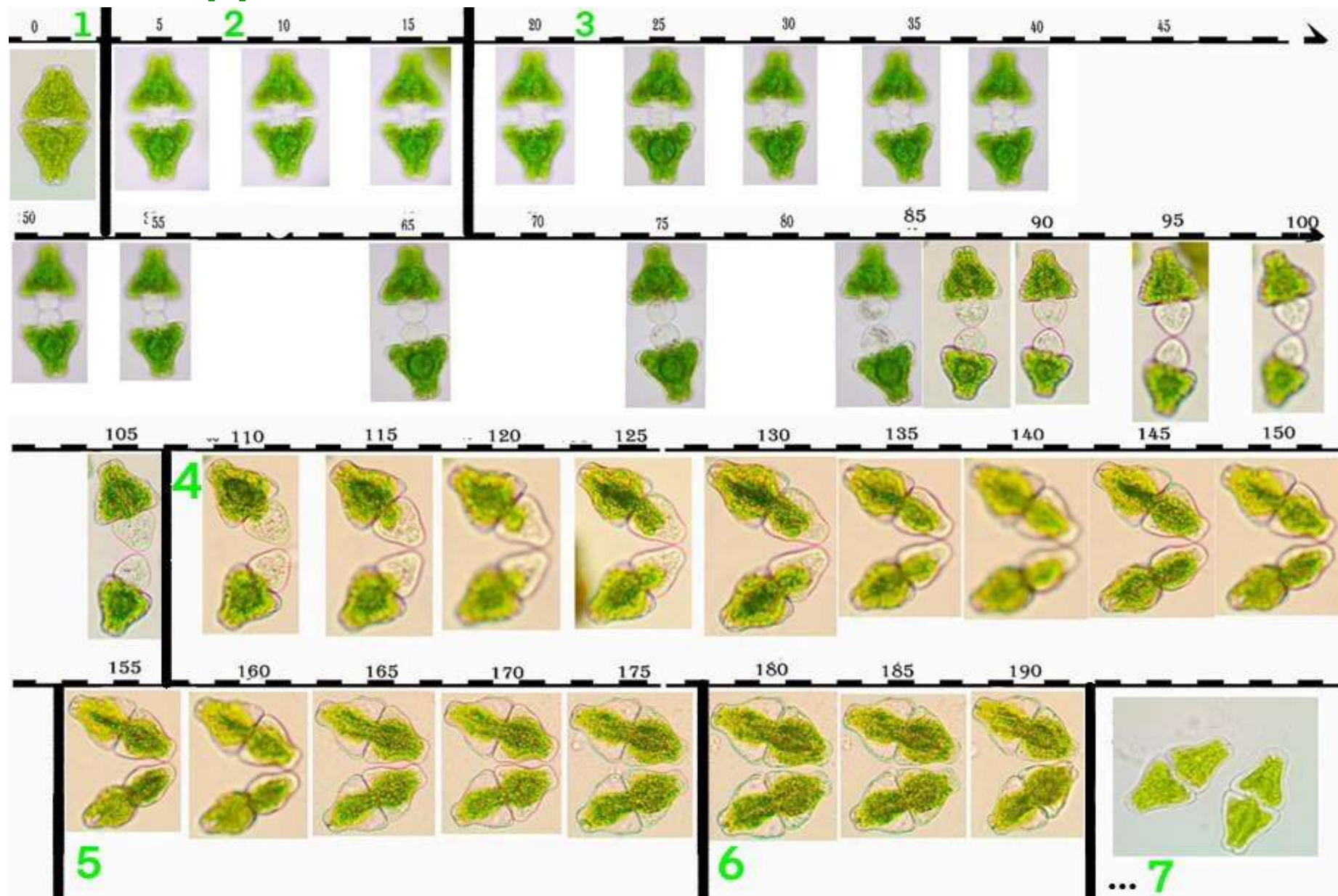
Сканирующая электронная микроскопия:

- Ионно-распылительная установка IB-3Ion Coater
- Микроскоп JEOL, JSM-6380LA

Окрашивания:

- Судан черный
- Нейтральный красный
- DAPI

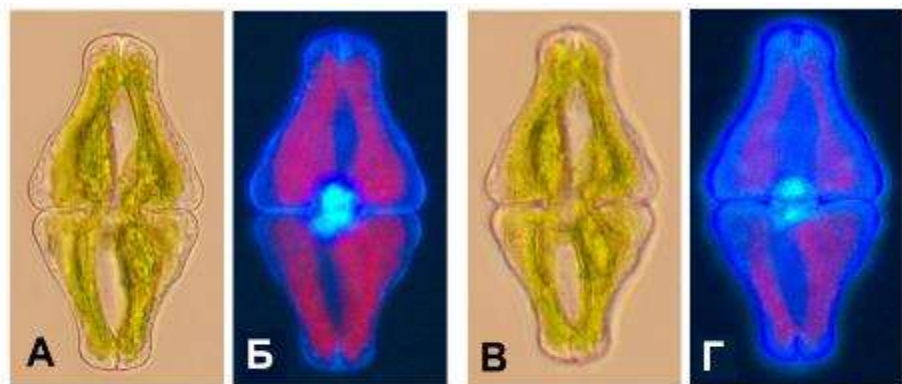
Деление клетки *Euastrum ansatum*



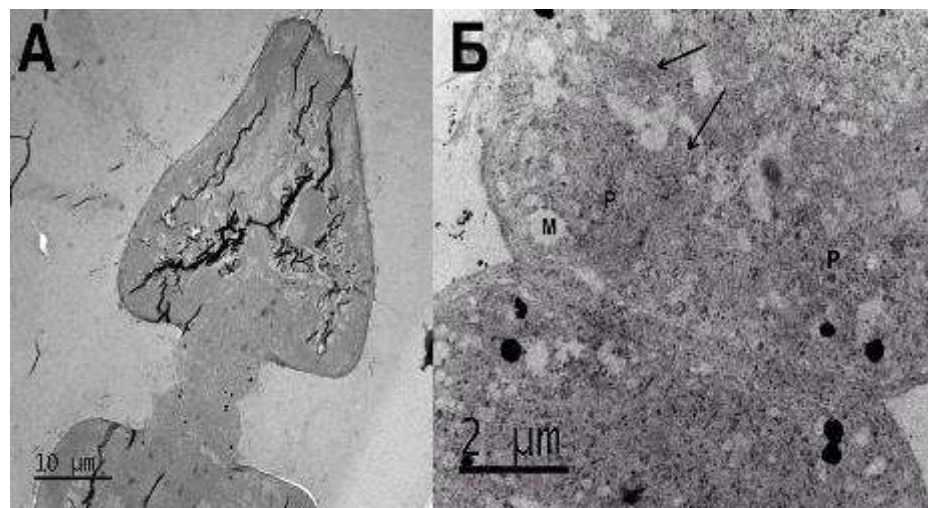
Покадровая съемка
Euastrum ansatum
Интервал — 1
минута

1. деление ядра
2. формирование септы
3. стадия “пузырька”
4. стадия формирования лопастей
5. стадия формирования верхушечного выреза
6. стадия формирования вторичной оболочки
7. стадия отслаивания первичной клеточной стенки (“линьки”)

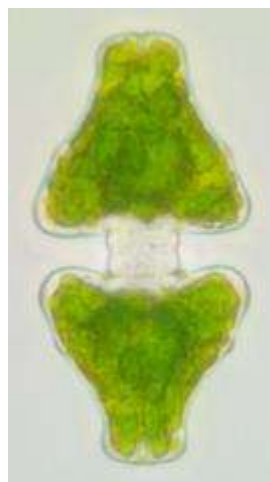
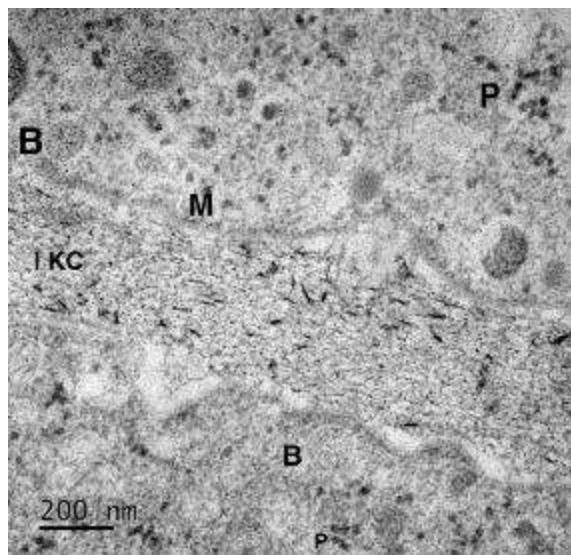
Деление клетки *Euastrum ansatum*



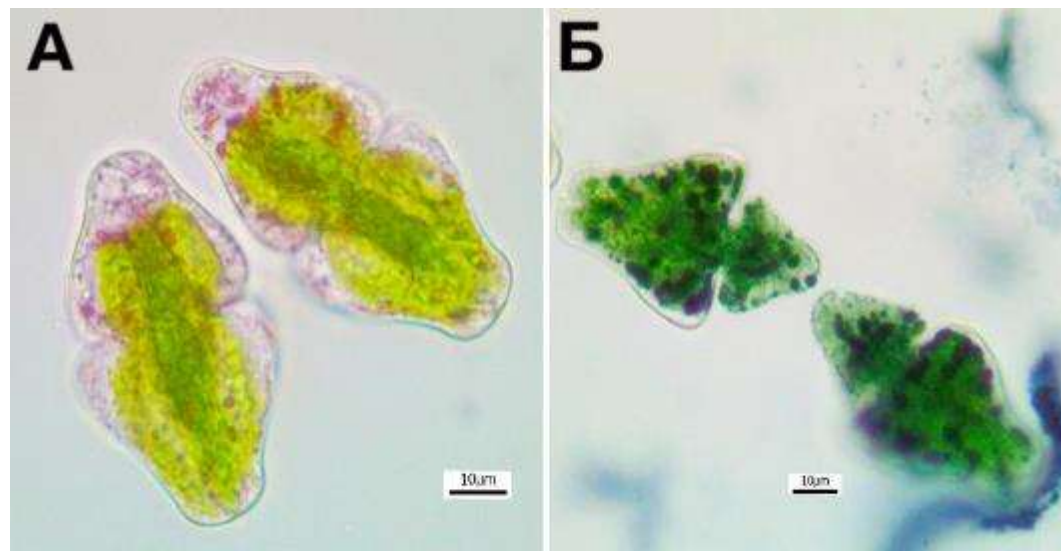
Стадия деления ядра (CM, DAPI) 10 мкм



Стадия
“пузырька” (ТЭМ, СМ)

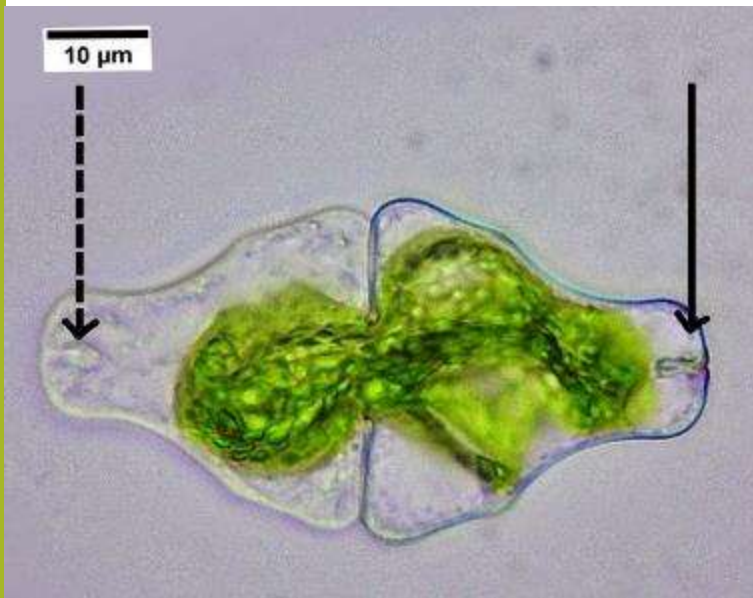


Стадия формирования септы (ТЭМ, СМ)

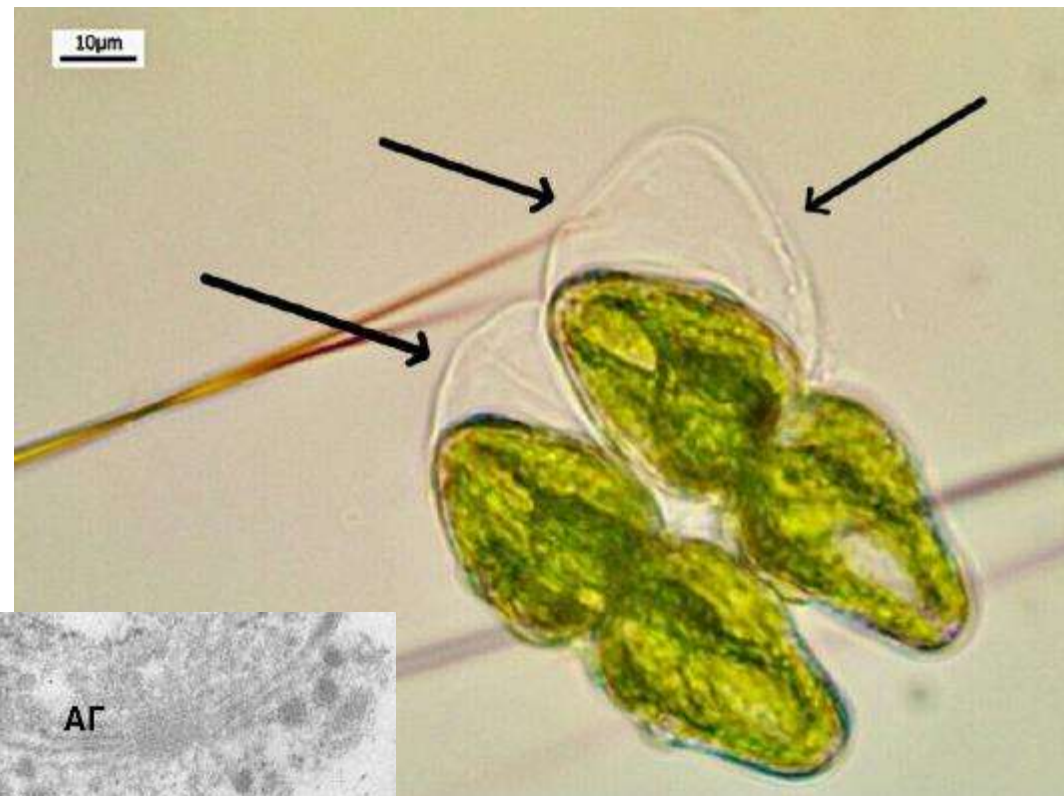


Стадия
формирования
лопастей
(СМ, окрашивания
нейтральным красным и
Суданом черным)

Деление клетки *Euastrum ansatum*

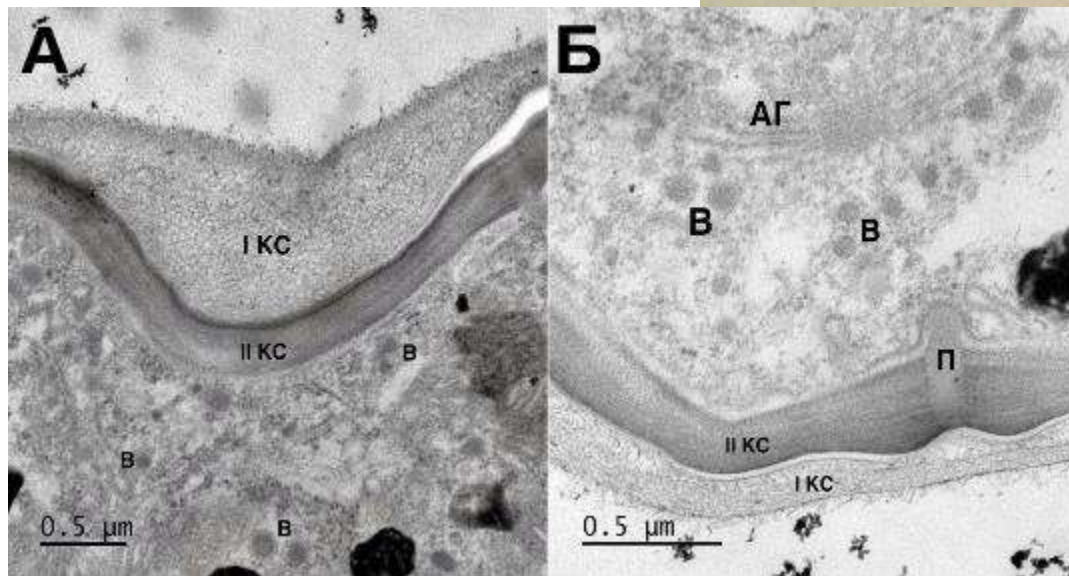


Стадия формирования вершечного выреза (СМ)

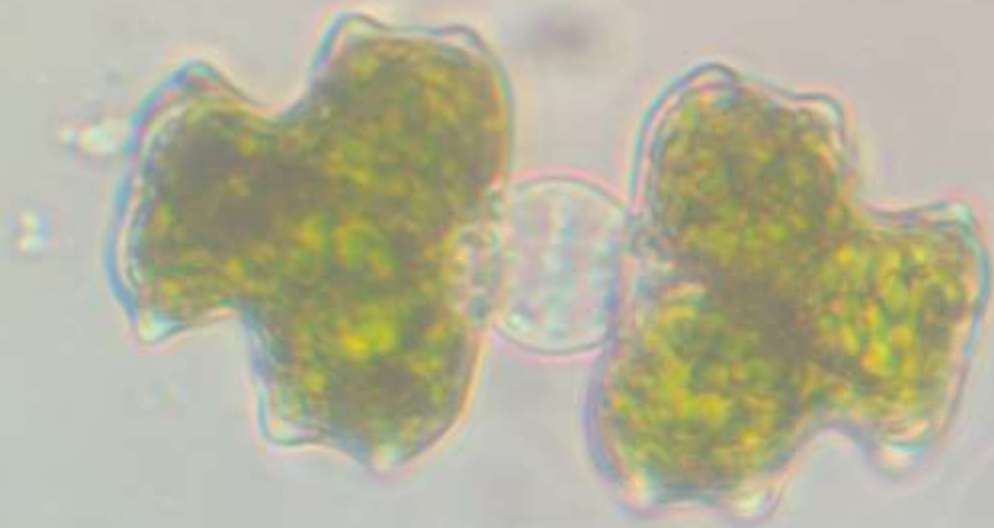


Стадия отслаивания первичной клеточной стенки (СМ)

Стадия формирования вторичной клеточной стенки (ТЭМ)

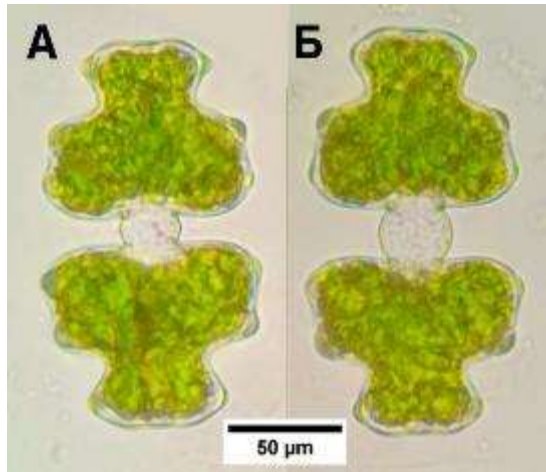


Покадровая съемка
Euastrum pectinatum
Интервал — 1
минута

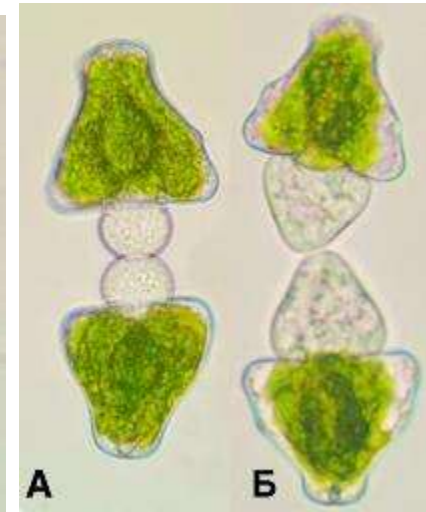
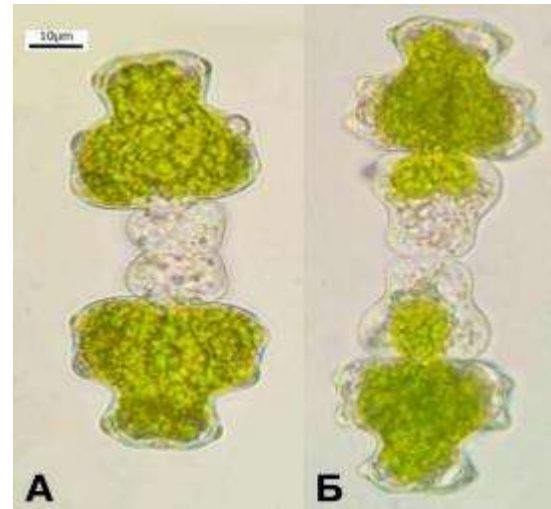


1. деление ядра
2. стадия вздутого
перешейка
3. стадия формирования
перегородки
4. стадия “пузырька”
5. стадия формирования
лопастей
6. стадия формирования
вторичной оболочки
7. стадия отслаивания
первичной клеточной
стенки (“линьки”)

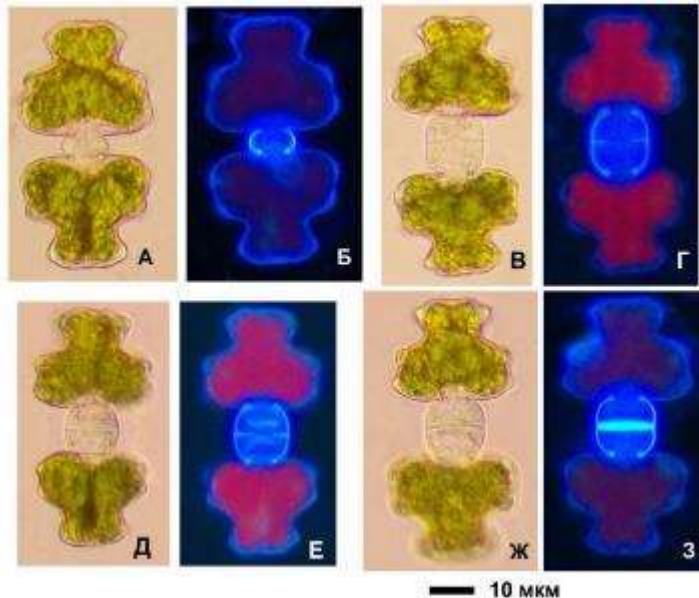
Деление клетки *Euastrum pectinatum* в сравнении с *E. ansatum*



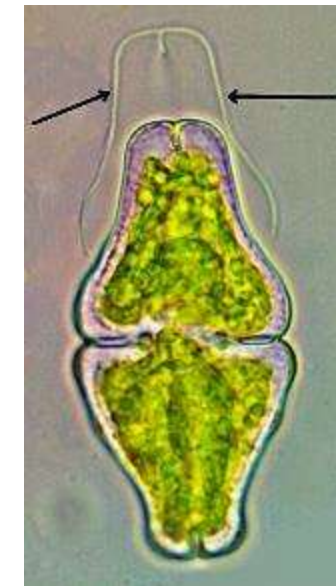
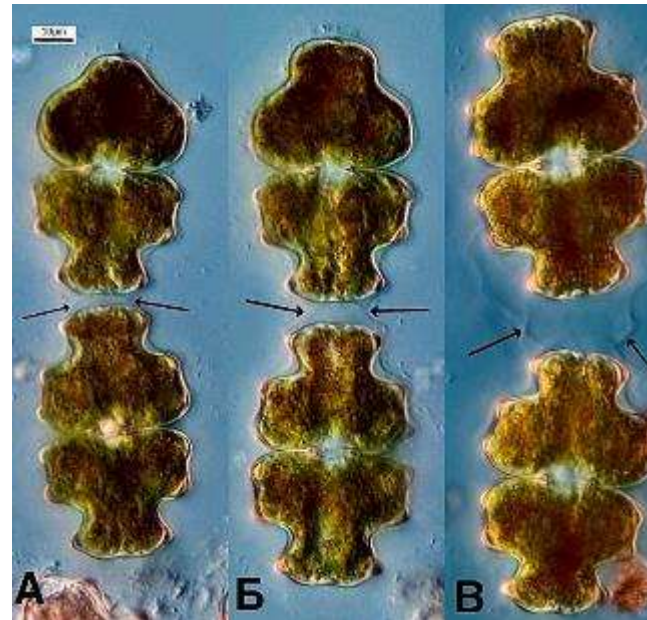
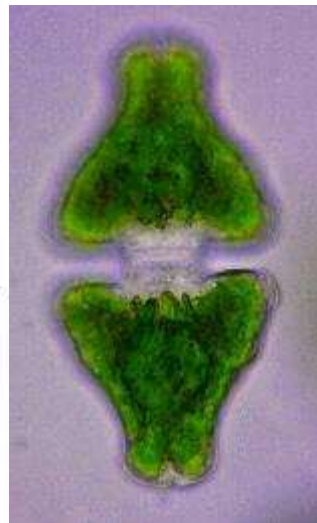
Стадия вздутого
перешейка (CM)



Стадии
“пузырька” и
формирования
лопастей (CM)

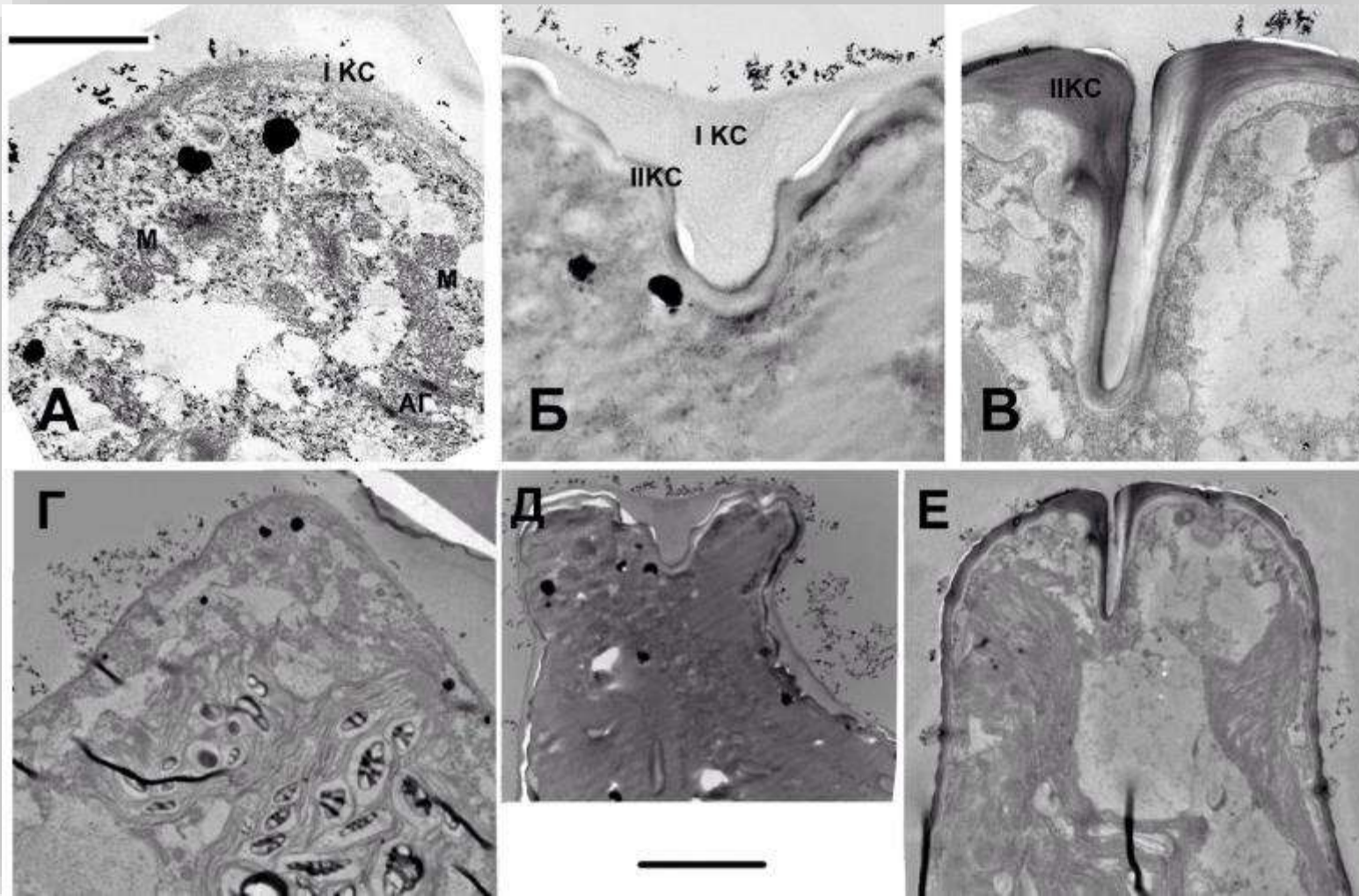


Стадия формирования септы (CM, DAPI)

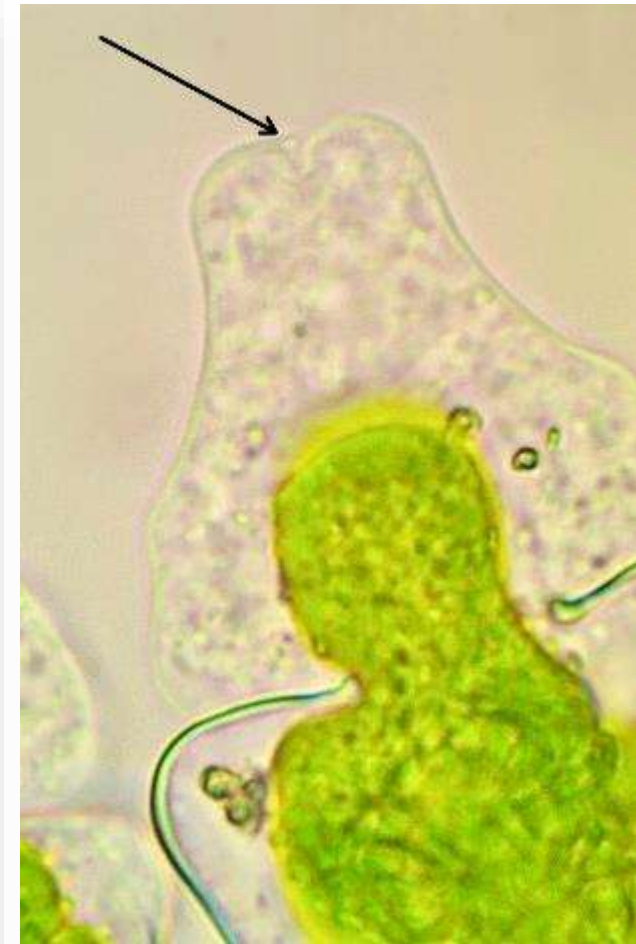


Стадия
отслаивания
первичной
оболочки (CM)

Формирование вершечного выреза у *Euastrum ansatum*



Вершина полярной лопасти клеток *E. ansatum* на разных стадиях (ТЭМ). А, Г — стадия формирования лопастей, Б, Д — стадия формирования вторичной клеточной стенки, В, Е — взрослая клетка.



Вершина полярной лопасти на стадии формирования вершечного выреза (СМ)

ВЫВОДЫ

1. Впервые с помощью методов световой микроскопии был изучен процесс деления клеток *Euastrum ansatum* и *E. pectinatum*, общая схема которого соответствует другим известным видам десмидиевых водорослей. Обозначены семь стадий, каждая из которых характеризуется определёнными событиями: формирование септы из первичной клеточной стенки, рост клетки и увеличение площади поверхности на стадии “пузырька”, формирование лопастей и вход хлоропласта в дочерние полуклетки, закладка верхушечного выреза, синтез вторичной клеточной стенки в финале “линька” — отслаивание первичной стенки. Полный цикл деления занимает не менее 4 часов.

2. Деление клеток *Euastrum ansatum* и *E. pectinatum* имеет ряд отличий. Деление *E. pectinatum* начинается с растяжения перешейка и образования “пузырька”, после чего следует формирование септы, в то время как у *E. ansatum* септа формируется перед вздутием “пузырька”. У *E. ansatum* расхождение молодых клеток происходит в конце развития первичной клеточной стенки, а клетки *E. pectinatum* остаются соединёнными вершинами апикальных лопастей до стадии “линьки”. Стадия “линьки” у *E. pectinatum* может наступать через значительно большее время, чем у *E. ansatum*.

ВЫВОДЫ

3. Впервые с применением трансмиссионного электронного микроскопа была описана ультраструктура клеток *E. ansatum* на разных стадиях деления. На всех этапах визуализируется большое количество диктиосом. Эти органеллы сосредотачиваются в участках более активного синтеза клеточных стенок, продуцируя светлые везикулы, участвующие в синтезе первичной клеточной стенки. При формировании вторичной клеточной стенки появляются везикулы с тёмным содержимым, что соответствует данным литературы.

4. Впервые описано формирование апексов клеток *Euastrum*, которое начинается на стадии развития лопастей. У *E. ansatum* развивающиеся клетки в это время уже полностью отделены друг от друга, тогда как у *E. pectinatum* они еще соединены. На ранней стадии апексы состоят из равномерного слоя первичной клеточной стенки. В процессе синтеза вторичной клеточной стенки формируется поровый аппарат и элементы скульптуры оболочки, что аналогично развитию оболочек *Micrasterias*, описанному в литературе.

5. Впервые показано, что формирование верхушечного выреза начинается на поздних стадиях синтеза первичной клеточной стенки. На вершине полярной лопасти происходит более активный ее синтез. В последствии под ней откладывается вторичная клеточная стенка. Верхушечный вырез *E. ansatum* формируется в конце синтеза первичной клеточной стенки, другим способом, нежели вырезы между лопастями *Micrasterias*.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!