

## *Volvox* (Chlorophyta, Volvocales) КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ

© 2009 г. А. Г. Десницкий

Биологический научно-исследовательский институт  
Санкт-Петербургского государственного университета  
198504 Старый Петергоф, Санкт-Петербург, Ораниенбаумское шоссе, д. 2  
E-mail: adesnitskiy@mail.ru

Поступила в редакцию 03.07.08 г.  
Окончательный вариант получен 20.10.08 г.

Современная сравнительная эмбриология все чаще использует модельные системы, состоящие из двух или более родственных видов с разными типами развития. Зеленые водоросли рода *Volvox* предоставляют интересную возможность изучать половые феромоны, морфогенез, а также формирование линии соматических клеток, претерпевающих терминальную дифференцировку, старение и смерть, и линии репродуктивных клеток, которые сначала растут, а затем претерпевают серию последовательных делений, образуя новые организмы. Однако почти все исследования последних лет были проведены только на одном виде – *Volvox carteri* f. *nagariensis*. Цель статьи – привлечь внимание к возможности использования космополитной водоросли *V. aureus* в качестве модельного объекта биологии развития. Представлен краткий обзор литературных данных по *V. aureus*, сопоставляется его развитие с таковым *V. carteri*, а также указаны перспективы дальнейших исследований. В частности, подчеркивается целесообразность взятия из природы новых линий *V. aureus* для изучения их развития в условиях клональной культуры.

*Ключевые слова:* родственные виды, деления и дифференцировка клеток, модельные объекты, размножение, эволюция развития, *Volvox aureus*.

Современные эволюционные и сравнительные эмбриологи в большинстве случаев сопоставляют развитие “репрезентативных” видов из разных типов или классов Metazoa. Однако сравнительно недавно (Raff, Love, 2004) была отмечена актуальность использования модельных систем, состоящих из родственных видов (в оптимальном случае принадлежащих к одному и тому же роду) с разными типами раннего развития. Такие перестройки онтогенеза достаточно часто происходят в эволюции различных групп морских беспозвоночных. В качестве примера приведем морских ежей *Heliocidaris erythrogramma* и *H. tuberculata* (Raff, 1987) и асцидий *Molgula oculata* и *M. occulta* (Jeffery, 1997).

Представляется перспективным применить такой же сравнительный подход и в случае низших эукариот, прежде всего *Volvox*, который характеризуется процессом дробления, весьма напоминающим раннее дробление многоклеточных животных. Бесполой цикл развития *Volvox* включает рост гонидий (бесполой репродуктивных клеток), последующую серию синхронных гонидиальных делений, инверсию (выворачивание) сформировавшихся молодых колоний, их рост внутри родительского организма, освобождение из него и т.д.

Проведение работ на клональных культурах этой пресноводной водоросли, колония которой состоит из нескольких сотен или тысяч соматических и небольшого числа репродуктивных клеток, началось более 40 лет назад, когда был открыт гликопротеиновый феромон, контролирующий половую дифференцировку у *Volvox aureus* (Darden, 1966). Этот вид был объектом экспериментальных исследований в течение нескольких последующих лет. В частности, изучали свойства и механизм действия полового феромона (Darden, 1968, 1980; Ely, Darden, 1972), ультраструктурные особенности гаметогенной дифференцировки (Deason et al., 1969; Deason, Darden, 1971), клеточные механизмы подвижности колонии (Hand, Haupt, 1971) и ее выворачивания (Kelland, 1977), динамику синтеза нуклеиновых кислот по ходу бесполого развития (Tucker, Darden, 1972). Кроме того, были исследованы особенности клеточных циклов при дроблении гонидий (Десницкий, 1981, 1982, 1985) и создана модель роста колонии *V. aureus* (Смолянинов, Маресин, 1972).

В течение последних 25–30 лет почти все авторы, работающие с *Volvox*, предпочли изучать развитие *V. carteri* forma *nagariensis* (Huskey et al., 1979; Kirk, 1998; Kirk, Nishii, 2001; Schmitt, 2003; Kirk M., Kirk D., 2004). Эта форма *Volvox* была единственной,

у которой удалось получить большое количество спонтанных и индуцированных мутаций; другие представители этого рода оказались непригодными для анализа методами формальной генетики.

Между тем род *Volvox* включает 18 видов, многие из которых характеризуются своеобразием процессов развития и дифференцировки клеток (Starr, 1968, 1970; Desnitskiy, 1995; Десницкий, 2006, 2008). Хотелось бы вновь привлечь внимание исследователей к *V. aureus* (синонимы: *V. dioicus*, *V. lismorensis*, *V. minor*, *V. sphaerosira*, *Janetosphaera aurea*) как к модельному объекту биологии развития.

Прежде всего остановимся на основных морфологических и физиологических различиях между двумя упомянутыми видами (Десницкий, 2006). Так, у *V. carteri* гонидии в результате длительного роста достигают перед началом серии делений весьма крупных размеров в диаметре (>50–60 мкм), превышая по этому показателю соматические клетки, по крайней мере, в шесть–восемь раз. В период делений нет клеточного роста. С другой стороны, у *V. aureus* период роста гонидий непродолжителен, они вырастают до относительно небольшого размера (20–25 мкм) и превышают соматические клетки по диаметру не более чем в три–четыре раза. В интервалах между последовательными делениями клетки растут. Кроме того, все клетки взрослой колонии *V. aureus* соединены тонкими цитоплазматическими мостиками, тогда как у *V. carteri* они разрушаются на достаточно ранних этапах онтогенеза (вскоре после завершения серии делений и инверсии молодой колонии). Сохранение межклеточных мостиков в колонии *Volvox* коррелирует с малым размером зрелых гонидий (Hoops et al., 2006). Оба эти признака, по-видимому, являются эволюционно продвинутыми. Предполагают, что у *V. aureus* и нескольких других видов *Volvox* с небольшими размерами гонидий по межклеточным мостикам осуществляется передача питательных веществ от соматических клеток к гонидиям и дробящимся зародышам, однако до сих пор это окончательно не доказано.

В связи со сказанным нам представляется уместным вспомнить о работах (Mita, 1983; Rott, 1987), в которых предполагалась возможность критической роли ядерно-цитоплазматического соотношения для регуляции делений клеток и других событий раннего онтогенеза у многоклеточных животных. В самом деле, есть основания думать, что у *V. carteri* одним из необходимых условий для начала дробления является достижение критической массы цитоплазмы гонидия (иными словами, достижение минимального критического ядерно-цитоплазматического соотношения). С другой стороны, благодаря тому, что у *V. aureus* гонидии и соматические клетки соединены в единую систему многочисленными межклеточными мостиками, критическая масса цитоплазмы (общей для двух типов клеток у этого ви-

да *Volvox*) достигается “преждевременно”, т.е. после сильно сокращенного, редуцированного периода роста гонидий. Разумеется, данный ход рассуждений подразумевает, что терминально дифференцированные и неспособные к делению ядра соматических клеток *V. aureus* не учитываются при определении минимального критического соотношения массы ядер гонидий и массы общего количества цитоплазмы колонии-синцития. Таким образом, эта гипотеза достаточно хорошо согласуется с возможностью транспорта питательных веществ от соматических клеток к гонидиям и зародышам *V. aureus*. Сохранение межклеточных мостиков могло бы способствовать уменьшению размера зрелых гонидий и быть одним из факторов эволюционной перестройки типа развития и организации колонии *Volvox*.

Еще одним очень существенным различием бесполой циклов развития этих двух видов являются особенности сегрегации клеточных линий. У *V. carteri* зачатки гонидий образуются в результате неравного (асимметричного) деления 16 клеток передней половины зародыша при переходе от 32-клеточной стадии дробления к 64-клеточной (Starr, 1970). Напротив, у *V. aureus* гонидии становятся морфологически отличимы гораздо позднее – лишь после завершения серии делений и выворачивания молодой колонии (Darden, 1966). Молекулярно-генетические механизмы дифференцировки в соматические клетки и гонидии хорошо изучены у *V. carteri* f. *nagariensis* (Kirk, 1998; Schmitt, 2003; Kirk M., Kirk D., 2004), однако для *V. aureus* никакой информации по данному вопросу пока нет.

Уместно отметить, что в упомянутых выше примерах успешных исследований эволюции развития родственных видов морских ежей рода *Heliocidaris* (Raff, 1987) и родственных видов асцидий рода *Molgula* (Jeffery, 1997) не удалось применить методы формальной генетики. Таким образом, углубленное изучение организации и развития бесполой колоний *V. aureus* в плане сопоставления их с *V. carteri* и другими близкими видами рода *Volvox* тоже представляет несомненный интерес. Это может быть важно и для анализа проблемы становления ранней эволюции примитивного многоклеточного состояния. До настоящего времени проведено только подробное сравнительное исследование скорости, суточных ритмов и особенностей свето-темнового контроля клеточных делений по ходу цикла бесполого развития у *V. aureus*, *V. carteri* f. *nagariensis* и нескольких других видов вольвокса (Desnitskiy, 1995; Десницкий, 2006, 2008).

Перейдем к особенностям полового размножения *Volvox*. У американской линии *V. aureus* M-5 оно (так же как и у *V. carteri* f. *nagariensis*) контролируется видоспецифичным гликопротеиновым феромоном, который вырабатывается мужскими особями и освобождается в культуральную среду (Darden, 1966; Ely, Darden, 1972). Однако на культурах *V. car-*

*teri f. nagariensis* было показано, что тепловой шок, механическое повреждение и другие стрессовые воздействия тоже могут стимулировать переход к половому размножению, индуцируя синтез полового феромона в соматических клетках бесполой особи (Amon et al., 1998; Kirk, 1998; Nedelcu, 2005). Было бы очень интересно провести соответствующие эксперименты на *V. aureus* (как, впрочем, и на других видах *Volvox*).

Уже давно известны несколько американских линий *V. aureus*, у которых мужские особи никогда не формируются или формируются исключительно редко, но по мере того, как культуры “стареют”, определенный процент гонидий без оплодотворения трансформируется в оранжевые партеноспоры, сходные по внешнему виду с покоящимися зиготами (Darden, 1968; Starr, 1968; Darden, Sayers, 1969; Starr, Zeikus, 1993). В таких старых культурах был обнаружен феромон, который индуцировал формирование партеноспор в молодых культурах этих же линий *V. aureus* или формирование мужских колоний в культуре *V. aureus* M-5. В реципрокных экспериментах половой феромон из культуры *V. aureus* M-5 в свою очередь обладал способностью индуцировать развитие партеноспор в молодых культурах партеноспоровых линий. Следует подчеркнуть, что существование партеноспор у каких-либо других представителей рода *Volvox* неизвестно.

Летом 1996 г. мы начали клональное культивирование *V. aureus*, взятого из маленькой временной лужи в южной части Ленинградской области (Desnitskiy, 2000; Десницкий, 2002). В течение 10 лет подробных наблюдений мы ни разу не наблюдали мужских колоний в этой линии, зато в стареющих культурах до 50–80% колоний содержали резистентные покоящиеся клетки (предположительно, партеноспоры). Таким образом, полученные данные оказались сходными с результатами исследований американских партеноспоровых линий *V. aureus*.

Среди проблем, для анализа которых можно использовать партеноспоровые линии *V. aureus*, прежде всего назовем старение и запрограммированную гибель клеток. Предполагается (Pommerville, Kochert, 1982), что у *V. carteri* существует эндогенная генетическая программа старения, поскольку в женских колониях соматические клетки живут на несколько дней дольше, чем в бесполой. То же самое мы наблюдали в отношении соматических клеток колоний *V. aureus*, содержащих партеноспоры.

Подведем итоги. Возможности, которые *V. aureus* предоставляет как модельный объект биологии развития низших эукариот, реализованы далеко не полностью. Эта водоросль является наиболее широко распространенным и единственным космополитным представителем рода *Volvox* (Десницкий, 2003). Вероятно, это объясняется наличием значительного числа популяций с партеноспорами. Известно, что виды животных и растений, утратившие

способность к половому размножению, часто бывают расселены более широко (Мэйнард Смит, 1981).

Легче всего найти *V. aureus* в небольших прудах или маленьких временных лужах, поскольку именно там его популяции обычно достигают максимальной плотности. Методы культивирования (как в стерильных, так и в нестерильных условиях) достаточно просты и подробно описаны (Darden, 1966; Starr, Zeikus, 1993). Не исключено, что удастся взять из природы такие линии *V. aureus*, в которых окажется возможным получить мутации, затрагивающие процесс морфогенеза. Кроме того, способность продуцировать феромоны, регулирующие дифференцировку *Volvox*, в результате многолетнего культивирования часто утрачивается, что еще раз говорит о необходимости брать из природы материал для новых культур. Таким образом, интенсификация исследований *V. aureus* будет способствовать дальнейшему прогрессу в понимании эволюции многоклеточности и развития у всего рода *Volvox*.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Десницкий А.Г. Изучение развития *Volvox aureus* Ehrenberg (Петергофская линия П-1) // Вестн. Ленингр. ун-та. 1981. № 3. С. 29–32.
- Десницкий А.Г. Особенности включения <sup>3</sup>H-тимидина в зародыши *Volvox aureus* // Онтогенез. 1982. Т. 13. № 4. С. 424–426.
- Десницкий А.Г. Определение времени начала дробления гонидиев у *Volvox aureus* и *Volvox tertius* // Цитология. 1985. Т. 27. № 2. С. 227–229.
- Десницкий А.Г. Покоящиеся стадии зеленого жгутиконосца вольвокса в естественных условиях обитания // Онтогенез. 2002. Т. 33. № 2. С. 136–138.
- Десницкий А.Г. Особенности географического распространения ценобиальных вольвоксовых (*Volvocaceae*, Chlorophyta) // Ботан. журн. 2003. Т. 88. № 11. С. 52–61.
- Десницкий А.Г. Эволюционные перестройки онтогенеза у родственных видов ценобиальных вольвоксовых водорослей // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 4. С. 261–272.
- Десницкий А.Г. К вопросу об экологической эволюции вольвокса // Там же. 2008. Т. 39. № 2. С. 151–154.
- Мэйнард Смит Дж. Эволюция полового размножения. М.: Мир, 1981. 272 с.
- Ротт Н.Н. Клеточные циклы в раннем эмбриогенезе животных. М.: Наука, 1987. 207 с.
- Смолянинов В.В., Маресин В.М. Модель роста колонии вольвокса // Онтогенез. 1972. Т. 3. № 3. С. 299–307.
- Amon P., Haas E., Sumper M. The sex-inducing pheromone and wounding trigger the same set of genes in the multicellular green alga *Volvox* // Plant Cell. 1998. V. 10. P. 781–789.
- Darden W.H. Sexual differentiation in *Volvox aureus* // J. Protozool. 1966. V. 13. P. 239–255.
- Darden W.H. Production of male-inducing hormone by a parthenosporic *Volvox aureus* // Ibid. 1968. V. 15. P. 412–414.

- Darden W.H.* Some properties of male-inducing pheromones from *Volvox aureus* M5 // *Microbios*. 1980. V. 28. P. 27–39.
- Darden W.H., Sayers E.R.* Parthenospore induction in *Volvox aureus* DS // *Ibid.* 1969. V. 2. P. 171–176.
- Deason T.R., Darden W.H.* The male initial and mitosis in *Volvox* // *Contributions in phycology* / Eds Parker B.C., Brown R.M. Lawrence (Kansas): Allen Press, 1971. P. 67–79.
- Deason T.R., Darden W.H., Ely S.* The development of sperm packets of the M5 strain of *Volvox aureus* // *J. Ultrastruct. Res.* 1969. V. 26. P. 85–94.
- Desnitskiy A.G.* A review on the evolution of development in *Volvox* – morphological and physiological aspects // *Eur. J. Protistol.* 1995. V. 31. P. 241–247.
- Desnitskiy A.G.* Development and reproduction of two species of the genus *Volvox* in a shallow temporary pool // *Protistology*. 2000. V. 1. P. 195–198.
- Ely T.H., Darden W.H.* Concentration and purification of the male-inducing substance from *Volvox aureus* M5 // *Microbios*. 1972. V. 5. P. 51–56.
- Hand W.B., Haupt W.* Flagellar activity of the colony members of *Volvox aureus* during light stimulation // *J. Protozool.* 1971. V. 18. P. 361–364.
- Hoops H.J., Nishii I., Kirk D.L.* Cytoplasmic bridges in *Volvox* and its relatives // *Cell-cell channels* / Eds Baluska F. et al. Georgetown (Texas): Landes Biosci., 2006. P. 65–84.
- Huskey R.J., Griffin B.E., Cecil P.O., Callahan A.M.* A preliminary genetic investigation of *Volvox carteri* // *Genetics*. 1979. V. 91. P. 229–244.
- Jeffery W.R.* Evolution of ascidian development // *Bio-science*. 1997. V. 47. P. 417–425.
- Kelland J.L.* Inversion in *Volvox* (Chlorophyceae) // *J. Phycol.* 1977. V. 13. P. 373–378.
- Kirk D.L.* *Volvox*: molecular-genetic origins of multicellularity and cellular differentiation. N.Y.: Cambridge Univer. Press, 1998. 381 p.
- Kirk M.M., Kirk D.L.* Exploring germ-soma differentiation in *Volvox* // *J. Biosci.* 2004. V. 29. P. 143–152.
- Kirk D.L., Nishii I.* *Volvox carteri* as a model for studying the genetic and cytological control of morphogenesis // *Devel. Growth Diff.* 2001. V. 43. P. 621–631.
- Mita I.* Studies on factors affecting the timing of early morphogenetic events during starfish embryogenesis // *J. Exp. Zool.* 1983. V. 225. P. 293–299.
- Nedelcu A.M.* Sex as a response to oxidative stress: stress genes co-opted for sex // *Proc. Royal Soc. L. Ser. B.* 2005. V. 272. P. 1935–1940.
- Pommerville J., Kochert G.* Effects of senescence on somatic cell physiology in the green alga *Volvox carteri* // *Exp. Cell. Res.* 1982. V. 140. P. 39–45.
- Raff R.A.* Constraint, flexibility, and phylogenetic history in the evolution of direct development in sea urchins // *Devel. Biol.* 1987. V. 119. P. 6–19.
- Raff R.A., Love A.C.* Kowalevsky, comparative evolutionary embryology, and the intellectual lineage of evo-devo // *J. Exp. Zool.* 2004. V. 302. P. 19–34.
- Schmitt R.* Differentiation of germinal and somatic cells in *Volvox carteri* // *Curr. Opin. Microbiol.* 2003. V. 6. P. 608–613.
- Starr R.C.* Cellular differentiation in *Volvox* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1968. V. 59. P. 1082–1088.
- Starr R.C.* Control of differentiation in *Volvox* // *Devel. Biol.* 1970. Suppl. 4. P. 59–100.
- Starr R.C., Zeikus J.A.* UTEX – the culture collection of algae at the University of Texas at Austin. 1993 list of cultures // *J. Phycol.* 1993. V. 29. Suppl. 2. P. 1–106.
- Tucker R.G., Darden W.H.* Nucleic acid synthesis during the vegetative life cycle of *Volvox aureus* M5 // *Arch. Mikrobiol.* 1972. V. 84. P. 87–94.

## ***Volvox* (Chlorophyta, Volvocales) as a Model Organism in Developmental Biology**

**A. G. Desnitskiy**

*Biological Research Institute and Department of Embryology, St. Petersburg State University, Oranienbaumskoe sh. 2, Sary Peterhof, St. Petersburg, 198504 Russia*  
*e-mail: adesnitskiy@mail.ru*

**Abstract**—Model systems based on two or more related species with different types of development are finding increasing use in current comparative embryology. Green algae of the genus *Volvox* offer an interesting opportunity to study sex pheromones, morphogenesis as well as the formation of a somatic cell line undergoing terminal differentiation, senescence, and death as well as a line of reproductive cells, which at first grow and then undergo a series of consecutive divisions that give rise to new organisms. However, almost all studies of the recent years were conducted on a single species, *Volvox carteri* f. *nagariensis*. The goal of this publication was to advertise the cosmopolitan alga *V. aureus* as a model species in developmental biology. Published data on *V. aureus* are briefly reviewed in comparison with the development of *V. carteri* and outlooks of further studies are specified. In particular, the expediency of collecting new *V. aureus* strains from nature to study their development in clonal culture is outlined.

**Key words:** related species, cell division, cell differentiation, model species, reproduction, evolution of development, *Volvox aureus*.