

ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КЛЕТОЧНЫХ ПОКРОВОВ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ *PROROCENTRUM MINIMUM*

© М. А. Бердиева,¹ С. О. Скарлато, О. В. Матанцева, И. А. Поздняков

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;

¹ электронный адрес: maria.berd4@yandex.ru

Сложные покровы (амфиесма) вегетативных клеток потенциально токсичных динофлагеллят *Prorocentrum minimum* представлены плазматической мембраной и уплощенными амфиесмальными везикулами, внутри которых находятся текальные пластинки, состоящие из целлюлозы. Две наиболее крупные текальные пластинки окружают большую часть клетки жгутиконосца как створки раковины. Показано, что *P. minimum* крайне чувствительны к физическому стрессу: центрифугирование даже при низких скоростях (1200 и 2000 г) приводит к последовательному сбрасыванию старых покровов (экдизису) и образованию жизнеспособных сферопластов. Сферопласты, окруженные только плазматической мембраной, под которой происходит формирование новой амфиесмы, могут представлять собой удобные модельные системы для изучения многих аспектов клеточной и молекулярной биологии динофлагеллят.

Ключевые слова: одноклеточные эукариоты, динофлагелляты, сферопласты, клеточные покровы, ультраструктура.

Динофлагелляты — широко распространенная группа преимущественно одноклеточных эукариот, представители которой характеризуются многими уникальными морфологическими, ультраструктурными и биохимическими особенностями (Околотков, 2011). Эти жгутиконосцы обладают специфически организованным ядерным аппаратом — динокарионом, хромосомы которого содержат незначительное количество основных белков и остаются конденсированными на протяжении почти всего клеточного цикла (Bhaud et al., 2000). Деление ядра осуществляется путем закрытого плевромитоза с внеядерным веретеном и кинетохорами, встроенными в интактную ядерную оболочку (Raikov, 1982, 1995). Многие виды динофлагеллят отличаются большим размером гаплоидного генома, высокой степенью замещения тимина на 5-гидроксиметилурацил, способностью к биолюминесценции и синтезу особых стеролов и разнообразных токсинов (Околотков, 2011). Однако именно строение клеточных покровов наряду с результатами молекулярно-филогенетических исследований позволило отнести динофлагеллят к *Alveolata* — одной из обширных супергрупп эукариот, которая объединяет этих жгутиконосцев с инфузориями и споровиками (Cavalier-Smith, 1991; Adl et al., 2012).

Клеточные покровы динофлагеллят, которые носят еще название амфиесма, или тека, у большинства видов имеют сложное строение (Dodge, Crawford, 1970; Loeblich, 1970; Morrill, Loeblich, 1983). Под плазматической мембраной этих протистов располагается ряд уплощенных мембранных цистерн (альвеол), которые различные авторы называют амфиесмальными, текальными или кортикальными везикулами (Dodge, Crawford, 1970; Loeblich, 1970; Morrill, Loeblich, 1983). Непосредственно под

амфиесмальными везикулами часто располагается прерывистый слой микротрубочек (Morrill, Loeblich, 1983; Netzel, Dürr, 1984). В зависимости от содержимого этих везикул выделяют две морфологические формы динофлагеллят — голые (беспанцирные) и армированные (панцирные) (Dodge, Crawford, 1970). Везикулы панцирных форм содержат так называемые текальные пластинки, состоящие из целлюлозы. Пластинки тесно примыкают друг к другу в зонах контакта амфиесмальных везикул, называемых швами. Число пластинок у панцирных видов варьирует от нескольких штук до нескольких тысяч и является таксономическим признаком (Morrill, Loeblich, 1983; Netzel, Dürr, 1984).

Нередко в литературе термин «амфиесма» используют для обозначения клеточных покровов динофлагеллят в целом, в то время как термин «тека» — для описания только слоя целлюлозных пластинок (Morrill, Loeblich, 1983). Некоторые виды этих жгутиконосцев на поверхности плазматической мембраны дополнительно содержат органические чешуйки (Morrill, Loeblich, 1981a; Sekida et al., 2003). Кроме того, в составе покровов многих динофлагеллят выделяют особый структурный слой — пелликулу, природа которой остается до конца не выясненной (Morrill, Loeblich, 1981b; Sekida et al., 2001, 2004). Пелликула может присутствовать в виде аморфного материала в составе амфиесмальных везикул, а также формироваться в ходе смены клеточных покровов динофлагеллят как хорошо выраженный слой, предшествующий развитию новой теки (Wetherbee, 1975; Morrill, Loeblich, 1983; Netzel, Dürr, 1984; Höhfeld, Melkonian, 1992). Смена клеточных покровов армированных динофлагеллят — экдизис — происходит регулярно в ходе цитокинеза, а также в ответ на стрессовое воздействие на клетку этих про-

тистов (Morrill, Loeblich, 1983; Morrill, 1984; Pozdnyakov, Skarlato, 2012).

Электронно-микроскопические исследования показали, что покровы вегетативной клетки динофлагеллят включают в себя три мембраны — внешнюю мембрану клетки, а также внешнюю и внутреннюю мембраны амфиесмальных везикул, или амфиесмальные мембраны (Morrill, Loeblich, 1983; Pozdnyakov, Skarlato, 2012). Удивительно, но вопрос о том, какая из трех мембран, входящих в состав амфиесмы динофлагеллят, является плазматической, в течение долгого времени оставался дискуссионным (Dodge, Crawford, 1970; Loeblich, 1970; Kalley, Bisalputra, 1975; Wetherbee, 1975). Смена покровов в ходе жизненного цикла этих протистов носит весьма динамичный характер, и некоторые исследователи рассматривали в качестве плазмалеммы внутреннюю амфиесмальную мембрану, которая сохраняется в ходе экдизиса (Loeblich, 1970; Kalley, Bisalputra, 1975). Окончательный вывод по этому вопросу был сделан в работе Моррилл и Лёблиха (Morrill, Loeblich, 1983), в которой тщательно проанализированы все накопленные данные, касающиеся строения теки и процесса ее смены в ходе жизненного цикла жгутиконосцев. Было убедительно показано, что плазматической является внешняя мембрана клетки, которая непосредственно переходит в мембрану ундулоподии жгутика (Morrill, Loeblich, 1983).

Среди армированных динофлагеллят особый интерес вызывает планктонный потенциально токсичный вид-космополит — *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller, который широко распространился как в холодных водах умеренных широт, так и в тропических морях. Амфиесма представителей рода *Prorocentrum* включает в себя лежащие в индивидуальных везикулах 2 крупные соматические текальные пластинки, которые в виде двух створок окружают клетку, и 8 мелких апикальных текальных пластинок в зоне жгутикового кармана (Dodge, 1965; Dodge, Bibby, 1973; Faust, 1974). Пелликула у *Prorocentrum*, согласно имеющимся данным, отсутствует (Morrill, Loeblich, 1981b). В соответствии с предложенной классификацией покровов динофлагеллят (Morrill, Loeblich, 1983), такой план строения (внешняя плазматическая мембрана и смежные амфиесмальные везикулы с текальными пластинками) является наиболее простым среди армированных динофлагеллят. В общих чертах показано, что во время деления каждая дочерняя клетка получает часть материнской теки, достраивая вторую ее часть во время или после цитокинеза; таким образом, размножение этого протиста происходит по типу десмошизиса (Honsell, Talagico, 1985; Norrenrath et al., 2013). Однако детали этого процесса и в первую очередь тонкая организация клетки *P. minimum* в ходе смены теки до сих пор остаются неизвестными. Одним из способов изучения реорганизации амфиесмы динофлагеллят является индуцирование экдизиса с помощью воздействия стрессовых факторов. Кроме того, данные о реакции клеточных покровов на механический стресс могут представлять ценность для проведения экспериментальных работ, в которых критичным является наличие сложных клеточных покровов жгутиконосцев.

В настоящей работе прослежена динамика ультраструктурных изменений в клетках *P. minimum* в ответ на механические воздействия различной силы и продолжительности.

Материал и методика

В работе использовали клетки динофлагеллят *P. minimum* из коллекции протистов Лаборатории цитологии одноклеточных организмов Института цитологии РАН, которые были изолированы из Черного моря и переданы нам сотрудниками кафедры гидробиологии Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова. Клетки культивировали в среде f/2 (Guillard et al., 1962) без добавления силикатов при солености 17 ‰, комнатной температуре, освещенности 50 мкмоль фотонов м⁻² с⁻¹ и фотопериоде 12 ч свет : 12 ч темнота.

Для изучения влияния механического стресса на ультраструктуру жгутиконосцев их подвергали одному из четырех воздействий: 1) клетки центрифугировали 3 или 10 мин при 1200, 2000 или 10 000 г (центрифуга Mini-Spin, Eppendorf), а затем фиксировали для электронно-микроскопического анализа; 2) клетки сначала фиксировали, а затем концентрировали в течение 4 мин при 538 г (центрифуга Janetzki T32C); 3) клетки собирали перед фиксацией для электронной микроскопии на мембранные фильтры с помощью системы вакуумной фильтрации; 4) клетки фиксировали без предварительного центрифугирования.

Для электронной микроскопии клетки фиксировали в 2%-ном растворе глутаральдегида (Sigma, США) на среде f/2 (17 ‰) в течение 40 мин при 4 °С, трижды отмывали в чистой среде f/2 и постфиксировали в 1%-ном растворе OsO₄ (TAAB Laboratories Equipment, Англия) на среде f/2 1 ч при комнатной температуре. После трехкратной отмывки клетки заключали в агар, обезживали в серии спиртов повышающейся концентрации и ацетоне и заключали в смесь Аралдита с Эпоном. Ультратонкие срезы получали при помощи ультрамикротомы Leica UC6, контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца и изучали с помощью электронного микроскопа Libra 120 (Carl Zeiss).

Результаты и обсуждение

Клетка *P. minimum* содержит одно крупное базальное ядро, несколько хлоропластов, располагающихся по периферии жгутиконосца, митохондрии с трубчатыми кристами и множество зерен крахмала (рис. 1, а, б). В центральной части клетки вблизи ядра локализуется хорошо выраженный аппарат Гольджи (рис. 1, а, б). Палочковидные трихоцисты, обладающие собственной мембраной, ориентированы под небольшим углом к клеточной поверхности. В апикальной части клетки расположены два жгутика с отходящими от кинетосом микротрубочковыми корешками, парная пузула, состоящая из каналов и пузырьков, а также скопление вакуолей с фиброзным содержимым (рис. 1, б).

Две крупные соматические текальные пластинки в составе амфиесмы вегетативных клеток *P. minimum* как створки раковины окружают почти всю клетку жгутиконосца (рис. 1, б, в). На большинстве электронограмм под внутренней мембраной амфиесмальных везикул идентифицируются дополнительные мембраны, или пузырьки, которые, по-видимому, являются предшественниками амфиесмальных везикул. В таком случае эти пузырьки можно назвать ювенильными амфиесмальными везикулами (рис. 1, б, в; 2—4). В зависимости от положения в клетке размер и форма этих везикул варьируют; напри-

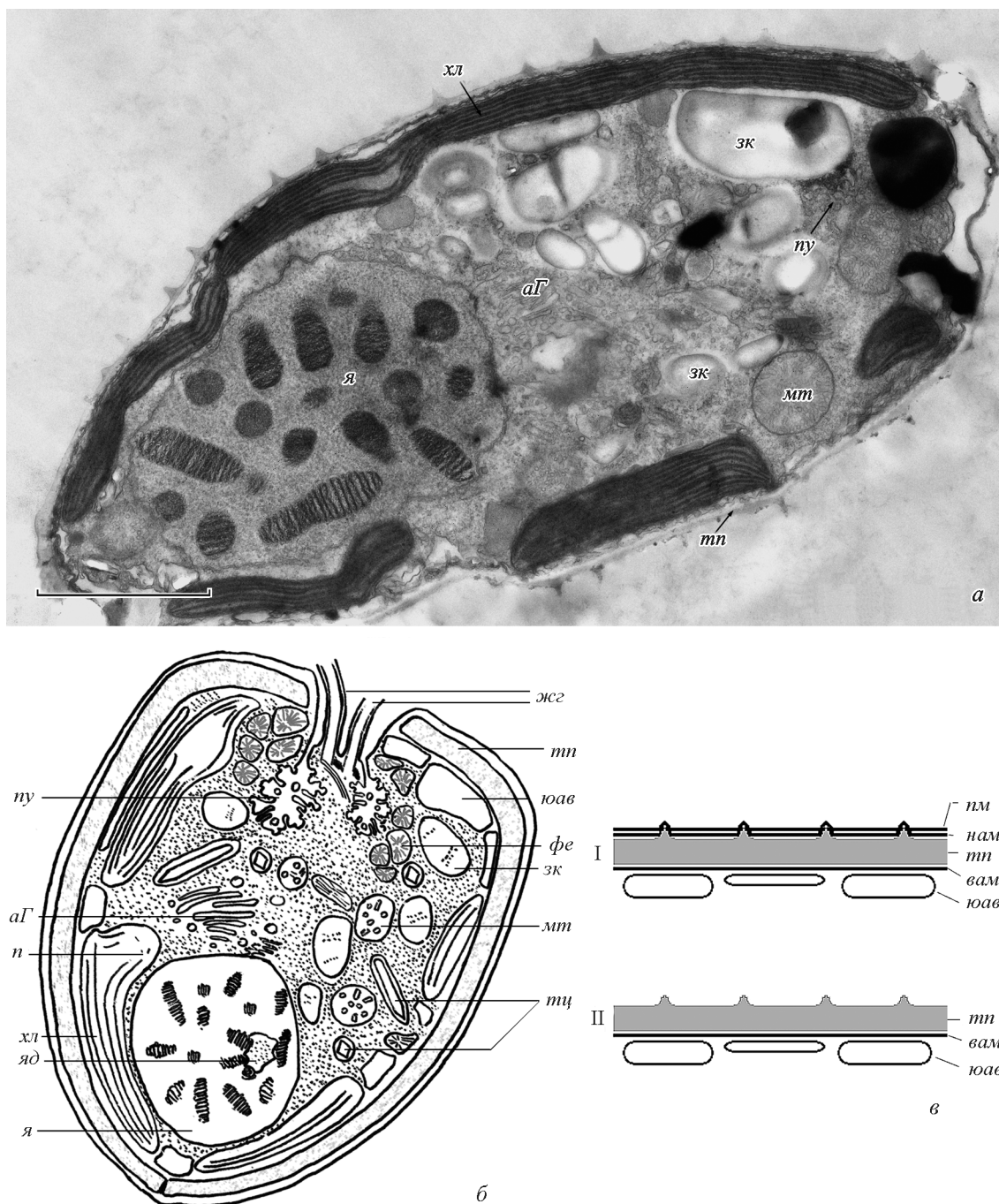


Рис. 1. Общая организация клетки *Prorocentrum minimum*: тонкое строение (а), схематический рисунок жгутиконосца (б) и схема организации клеточных покровов до (I) и после (II) механического воздействия (в).

аГ — аппарат Гольджи, вам — внутренняя амфиэсмальная мембрана, жг — жгутики, зк — зерна крахмала, мт — митохондрии, нам — наружная амфиэсмальная мембрана, п — пиреноид, пл — плазматическая мембрана, пу — пузула, тп — текальная пластинка, тц — трихоцисты, фе — вакуоли с фиброзным содержимым, хл — хлоропласты, юав — ювенильные амфиэсмальные везикулы, я — ядро, яд — ядрышко. Масштабный отрезок — 2 мкм.

Рис. 3. Ультраструктура клеточных покровов *Prorocentrum minimum*, центрифугированных после фиксации (а—г), собранных перед фиксацией на мембранный фильтр (д) и не подвергавшихся механическому воздействию в ходе фиксации (е).

Обозначения те же, что и на рис. 1, 2. Масштабные отрезки — 0.5 мкм.

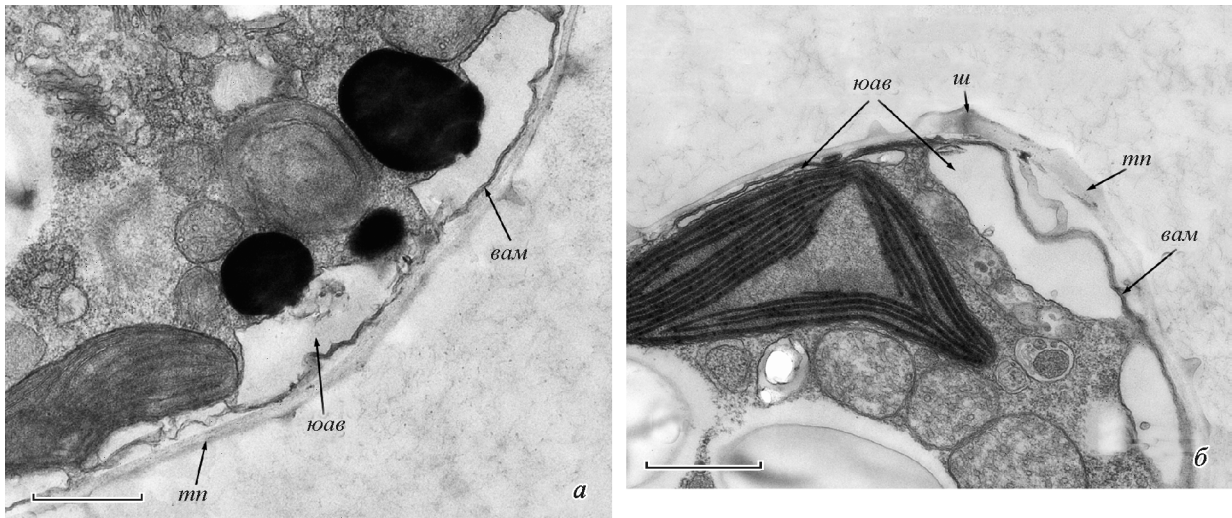
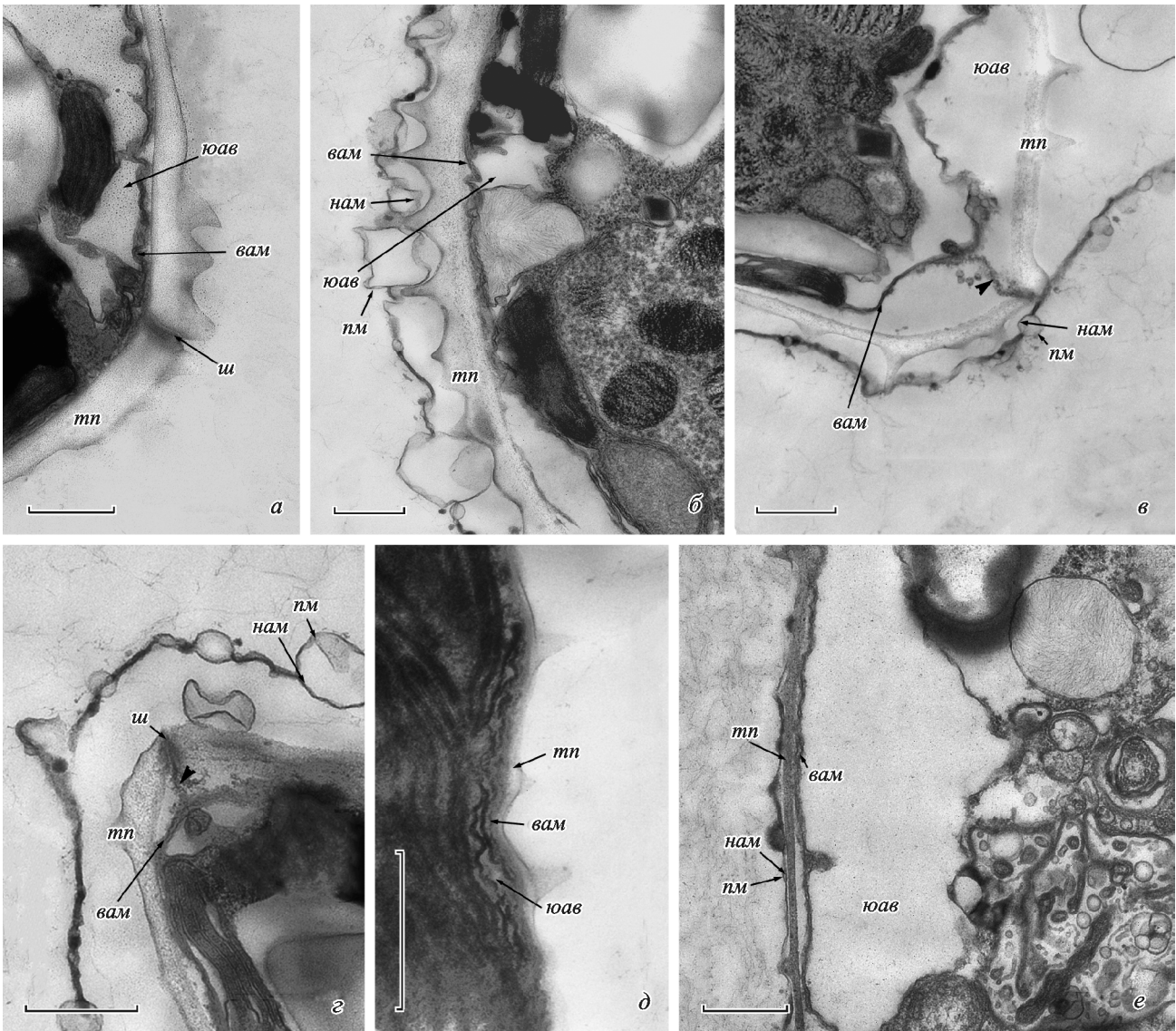


Рис. 2. Ультраструктура клеточных покровов *Prorocentrum minimum* после центрифугирования при низких (а) и высоких (б) скоростях.

вам — внутренняя амphiesмальная мембрана, тп — текальная пластинка, ш — шов, юав — ювенильные амphiesмальные везикулы. Масштабные отрезки — 1 мкм.



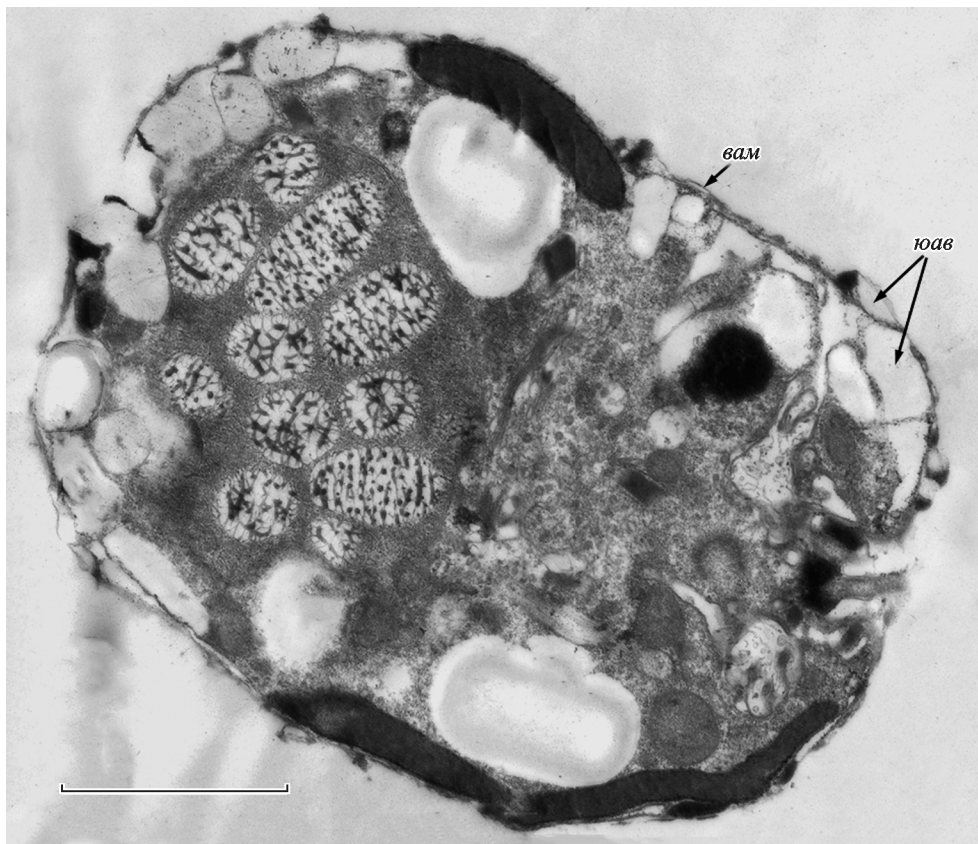


Рис. 4. Сферопласт *Prorocentrum minimum*.

вам — внутренняя амфиесмальная мембрана, трансформирующаяся в новую плазматическую мембрану клетки, юав — ювенильные амфиесмальные везикулы, дающие начало новым альвеолам. Масштабный отрезок — 2 мкм.

мер, они могут быть уплощенными или объемными, содержать электронно-прозрачный материал и отдельные мембранные образования.

Оказалось, что клеточные покровы жгутиконосцев крайне чувствительны к физическому стрессу. Так, центрифугирование *P. minimum* даже при низких скоростях (1200 и 2000 g; рис. 2, а), не говоря уже о более высоких (10 000 g; рис. 2, б), в течение 3—10 мин приводило к сбрасыванию организмами плазматической и внешней амфиесмальной мембран. У жгутиконосцев, собранных перед фиксацией на мембранный фильтр, плазматическая и внешняя амфиесмальная мембраны также утрачивались (рис. 3, д). В случае, если клетки сначала фиксировали, а затем центрифугировали, плазматическая и внешняя амфиесмальная мембраны были утрачены лишь у части клеток (рис. 3, а). Другая часть фиксированных динофлагеллят сохраняла обе мембраны, однако они отслаивались от текальных пластинок (рис. 3, б—г). В некоторых случаях наблюдали нарушение контакта между мембранами амфиесмальных везикул в швах теки (рис. 3, г). В интактном состоянии эти мембраны плотно сжаты текальными пластинками и покрыты тонким слоем аморфного материала. Несмотря на нарушение контакта, мембраны сохранялись после механического воздействия на клетки (рис. 2, б; 3, в, г), однако в некоторых случаях были окружены аморфным материалом и поэтому идентифицировались с трудом. Следует также отметить, что механическое воздействие во всех случаях приводило к потере ундулиподий жгутиков. Интактное состояние покровов, характерное для вегетативных клеток *P. minimum*, когда

внешняя и внутренняя амфиесмальные мембраны плотно прилегают к текальным пластинкам, сохранялось только в случае полного отсутствия механического воздействия на клетки в процессе фиксации материала (рис. 3, е).

Сбрасывание старых покровов (экдизис) у динофлагеллят наблюдается в процессе деления и эксцистирования клеток, а также после воздействия стресс-факторов на этих жгутиконосцев (Morrill, 1984; Netzel, Dürr, 1984; Bricheux et al., 1992; Pozdnyakov, Skarlato, 2012). К числу таких факторов в условиях эксперимента можно отнести и центрифугирование (Bricheux et al., 1992; Hohfeld, Melkonian, 1992). В настоящей работе показано, что экдизису *P. minimum* предшествует формирование неподвижных форм. При этом происходит сбрасывание «старой» плазматической и внешней амфиесмальной мембран, а затем, приблизительно через 2 ч, наблюдается сбрасывание текальных пластинок старой амфиесмы (рис. 4). При этом «старая» внутренняя амфиесмальная мембрана становится новой плазматической мембраной, а под ней происходит формирование новой амфиесмы. Таким образом, клетки *P. minimum* по существу становятся сферопластами, сохраняя при этом типичную ультраструктурную организацию и жизнеспособность даже после центрифугирования жгутиконосцев на высоких скоростях (рис. 2, б; 4).

Стрессиндуцированный экдизис, сходный с таковым у *P. minimum*, был также описан и у некоторых других динофлагеллят, например у *Heterocapsa niei* (Hohfeld, Melkonian, 1992) и *Glenodinium foliaceum* (Bricheux et al., 1992). У последнего вида механическое воздействие на

клетку в отличие от *P. minimum* незамедлительно приводило к сбрасыванию старой теки, причем остатки старой плазмалеммы и внешней амфиесмальной мембраны сохранились на протяжении некоторого времени и утрачивались постепенно в ходе формирования пелликулярного слоя (Bricheux et al., 1992). Сформированную пелликулу клетки *G. foliaceum* покидали для завершения развития новой амфиесмы через 2 ч, т. е. приблизительно через такой же промежуток времени, после которого клетки *P. minimum* начинают сбрасывать старые текальные пластинки. Для *H. niei* продолжительность стадий экдисиса не определена. Тем не менее и в этом случае механическое воздействие на клетку приводило к разрыву швов в районе внутренней амфиесмальной мембраны, что способствовало сбрасыванию всей внешней части старой теки и формированию пелликулярного слоя (Höhfeld, Melkonian, 1992). Таким образом, отмеченные выше факты свидетельствуют о быстрой реакции клеток динофлагеллят на механический стресс, причем эта реакция регистрируется на ультраструктурном уровне. Отмеченная нами в случае *P. minimum* задержка сбрасывания теки вслед за утратой мембран (старой плазматической и внешних амфиесмальных), вероятно, необходима для подготовки к формированию новой теки в отсутствие пелликулярного слоя. В дальнейших исследованиях особое внимание должно быть уделено феномену реорганизации амфиесмы *P. minimum*.

В последнее время *P. minimum* стали использовать в качестве модельного объекта для электрофизиологических исследований (Pozdnyakov et al., 2014). Однако в силу особенностей процесса смены покровов у *P. minimum* применение метода патч-кламп к сферопластам оказалось возможным только в случае блокировки синтеза целлюлозных текальных пластинок 2,6-дихлорбензонитрилом (Pozdnyakov et al., 2014). Не будучи токсичным для клеток, 2,6-дихлорбензонитрил не только индуцирует экдисис, но и задерживает клеточный цикл в фазе G₁, когда происходит синтез целлюлозы (Kwok, Wong, 2003; Pozdnyakov et al., 2014). В этом случае текальные пластинки не препятствуют образованию плотного контакта между регистрирующей стеклянной микропипеткой и плазматической мембраной. Вместе с тем получение жизнеспособных сферопластов в результате центрифугирования *P. minimum* несомненно окажется полезным для проведения иммуноцитохимических и генно-инженерных работ на этом перспективном объекте для клеточно-биологических исследований токсичных и потенциально токсичных планктонных динофлагеллят.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 16-14-10116) на базе Института цитологии РАН.

Список литературы

Околовцов Ю. Б. 2011. Dinoflagellata. В кн.: Протисты. Руководство по зоологии. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. 3 : 7—94. (Okolodkov Yu. B. 2011. Dinoflagellata. In: Protists. Guide book in zoology. St. Petersburg; Moscow: KMK. 3 : 7—94.)

Поздняков И. А., Скарлато С. О. 2015. Анализ транскриптома динофлагеллят *Prorocentrum minimum*: идентификация представителей суперсемейства потенциалуправляемых катионных каналов. Цитология. 57 (7) : 533—543. (Pozdnyakov I. A., Skarlato S. O. 2015. Analysis of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* transcriptome: identifying the members of the volta-

ge-gated cation channel superfamily. Tsitologiya. 57 (7) : 533—543.)

Adl S. M., Simpson A. G. B., Lane C. E., Lukeš J., Bass D., Bowser S. S., Brown M. W., Burki F., Dunthorn M., Hampl V., Heiss A. 2012. The revised classification of eukaryotes. J. Eukaryot. Microbiol. 59 : 429—493.

Bhaud Y., Guillebault D., Lennon J., Defacque H., Soyer-Gobillard M. O., Moreau H. 2000. Morphology and behaviour of dinoflagellate chromosomes during the cell cycle and mitosis. J. Cell Sci. 113 : 1231—1239.

Bricheux G., Mahoney D. G., Gibbs S. P. 1992. Development of the pellicle and thecal plates following ecdysis in the dinoflagellate *Glenodinium foliaceum*. Protoplasma. 168 : 159—171.

Cavalier-Smith T. 1991. Cell diversification in heterotrophic flagellates. In: The biology of free-living heterotrophic Flagellates. Oxford: Clarendon Press. 113—131.

Dodge J. D. 1965. Thecal fine-structure in the dinoflagellate genera *Prorocentrum* and *Exuviaella*. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 45 : 607—614.

Dodge J. D., Bibby B. T. 1973. The Procoentrales (Dinophyceae): I. A comparative account of fine structure in the genera *Prorocentrum* and *Exuviaella*. Bot. J. Linn. Soc. 67 : 175—187.

Dodge J. D., Crawford R. M. 1970. A survey of thecal fine structure in the Dinophyceae. Bot. J. Linn. Soc. 63 : 53—67.

Faust M. A. 1974. Micromorphology of a small dinoflagellate *Prorocentrum marie-lebouriae* (Parke and Ballatine) comb. nov. J. Phycol. 10 : 315—322.

Guillard R. R. L., Ryther J. H. 1962. Studies of marine diatoms I. *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. Can. J. Microbiol. 8 : 229—239.

Höhfeld I., Melkonian M. 1992. Amphiesmal ultrastructure of dinoflagellates: a reevaluation of pellicle formation. J. Phycol. 28 : 82—89.

Honsell G., Talarico L. 1985. The importance of flagellar arrangement and insertion in the interpretation of the theca of *Prorocentrum* (Dinophyceae). Bot. Mar. 28 : 15—21.

Hoppenrath M., Chomerat N., Horiguchi T., Schweikert M., Nagahama Y., Murray S. 2013. Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae) — a proposal and review. Harmful Algae. 27 : 1—28.

Kalley J. P., Bisalputra T. 1975. Initial stages of cell wall formation in the dinoflagellate *Peridinium trochoideum*. Can. J. Bot. 53 : 483—494.

Kwok A. C. M., Wong J. T. Y. 2003. Cellulose synthesis is coupled to cell cycle progression at G₁ in the dinoflagellate *Crypthecodinium cohnii*. Plant Physiol. 131 : 1681—1691.

Loeblich A. R., III. 1970. The amphiesma or dinoflagellate cell covering. In: Proc. North Amer. Paleontol. Conv. Lawrence: Allen Press. 2 : 867—929.

Morrill L. C. 1984. Ecdysis and the location of the plasma membrane in the dinoflagellate *Heterocapsa niei*. Protoplasma. 119 : 8—20.

Morrill L. C., Loeblich A. R., III. 1981a. A survey for body scales in dinoflagellates and a revision of *Cachonina* and *Heterocapsa* (Pyrrhophyta). J. Plankton Res. 3 : 53—65.

Morrill L. C., Loeblich A. R., III. 1981b. The dinoflagellate pellicular wall layer and its occurrence in the division Pyrrhophyta. J. Phycol. 17 : 315—323.

Morrill L. C., Loeblich A. R., III. 1983. Ultrastructure of the dinoflagellate amphiesma. Int. Rev. Cytol. 82 : 151—180.

Netzel H., Dürr G. 1984. Dinoflagellate cell cortex. In: Dinoflagellates. Orlando: Acad. Press. 43—105.

Pozdnyakov I., Matantseva O., Negulyaev Y., Skarlato S. 2014. Obtaining spheroplasts of armored dinoflagellates and first single-channel recordings of their ion channels using patch-clamping. Mar. Drugs. 12 : 4743—4755.

Pozdnyakov I., Skarlato S. 2012. Dinoflagellate amphiesma at different stages of the life cycle. Protistology. 7 : 108—115.

Raikov I. B. 1982. The protozoan nucleus. Morphology and evolution. Wien: Springer. 474 p.

Raikov I. B. 1995. The dinoflagellate nucleus and chromosomes: mesokaryote concept reconsidered. *Acta Protozool.* 34 : 239—247.

Sekida S., Horiguchi T., Okuda K. 2001. Development of the cell covering in the dinoflagellate *Scrippsiella hexapraeicingula* (Peridinales, Dinophyceae). *Phycol. Res.* 49 : 163—176.

Sekida S., Horiguchi T., Okuda K. 2004. Development of thecal plates and pellicle in the dinoflagellate *Scrippsiella hexapraeicingula* (Peridinales, Dinophyceae) elucidated by changes in

stainability of the associated membranes. *Eur. J. Phycol.* 39 : 105—114.

Sekida S., Okuda K., Katsumata K., Horiguchi T. 2003. A novel type of body scale found in two strains of *Amphidinium* species (Dinophyceae). *Phycologia.* 42 : 661—666.

Wetherbee R. 1975. The fine structure of *Ceratium tripos*, a marine armored dinoflagellate. I. The cell covering (Theca). *J. Ultrastruct. Res.* 50 : 58—64.

Поступила 13 VI 2016

MECHANICAL IMPACT ON THE CELL COVERING FINE
STRUCTURE OF DINOFLAGELLATES *PROROCENTRUM MINIMUM*

M. A. Berdieva,¹ S. O. Skarlato, O. V. Matantseva, I. A. Pozdnyakov

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;

¹ e-mail: maria.berd4@yandex.ru

Complex cell coverings (amphiesma) of potentially toxic dinoflagellates *Prorocentrum minimum* include plasma membrane and flattened amphiesmal vesicles with thecal cellulose plates. Two largest thecal plates surround the major portion of dinoflagellate cell as shell valves. We have revealed that *P. minimum* cells appear to be extremely sensitive to the physical stress: even low speed centrifugation (1200 and 2000 g) leads to a dropping of old coverings shedding (ecdysis) and the formation of viable spheroplasts. Spheroplasts are surrounded only by the plasma membrane beneath which the new amphiesma is formed. These spheroplasts can be a convenient model system for investigation of numerous aspects of cell and molecular biology of the dinoflagellates.

Key words: unicellular eukaryotes, dinoflagellates, spheroplasts, cell cover, ultrastructure.