

МОРФОГЕНЕЗ В СООБЩЕСТВЕ НИТЧАТЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

© 2013 г. Е. Л. Сумина¹, Д. Л. Сумин²¹ МГУ им. М.В. Ломоносова

119992 Москва, ГСП-2, Ленинские горы

² СНИПЭБ, 103009 Москва, Б. Никитская, д. 6

E-mail: stromatolit@list.ru

Поступила в редакцию 25.02.12 г.

Окончательный вариант получен 21.11.12 г.

Экспериментальным путем в сообществе современных нитчатых цианобактерий *Oscillatoria terebriformis* обнаружено явление обратимой дифференцировки, заключающееся в расчленении первоначально однородного сообщества на дифференцированные части (тяги, многолучевые агрегаты, сети и т.д.), возникающие только на время выполнения функции, деятельность которых направлена на поддержание жизнедеятельности сообщества как целостного образования. Образование структур происходит в результате перегруппировки нитей, без их специализации. При действии экстремального фактора выявлено наличие морфологически оформленной управляющей системы – полигональной сети. Сопоставлены структурные уровни организации нитчатых цианобактерий и многоклеточных эукариот (отдельные клетки нити – клеточные органеллы; нити – отдельные клетки; сообщество – организм), на основании чего проанализированы сходства и различия в протекании морфогенеза сравниваемых групп с использованием данных по эмбриональным регуляциям многоклеточных эукариот. Показано, что пространственная информация в морфогенезе не является непосредственно реализуемой ранее возникшей наследственной программой, а создается элементами целостных организмов (здесь – нитями, клетками) в процессе развития.

Ключевые слова: цианобактерии, сообщество, прокариоты, эукариоты, дифференцировка, морфогенез, морфогенетическая информация.

DOI: 10.7868/S0475145013030087

ВВЕДЕНИЕ

В геологической летописи, начиная с самых древних отложений, встречаются две категории макроскопических ископаемых – появляющиеся с рубежа 3.5 миллиарда лет строматолиты, и остатки многоклеточных эукариот, единичные находки которых известны с рубежа 2.7 миллиарда, а массовое появление – с 600 миллионов лет назад. Процессы, лежащие в основе морфогенеза ископаемых эукариот, достаточно хорошо изучены на их современных представителях. Основной проблемой в понимании природы строматолитов, являющихся следами существования прокариотных сообществ и характеризующихся морфологической оформленностью, дискретностью таксонов и направленностью эволюции не в меньшей степени, чем скелеты низших многоклеточных эукариот, до сих пор являлось отсутствие носителя морфогенетических процессов, которые могли бы создавать эти скелетоподобные образования.

Строматолиты (stroma (греч.) – ковер; lithos (греч.) – камень) – это макроскопические минеральные прикрепленные к субстрату закономерные слоистые образования преимущественно карбонатного состава, возникающие в результате жизнедеятельности нитчатых цианобактерий (рис. 1). Природа строматолитов дискуссионна – одни авторы считают их результатом связывания осадка в процессе роста водорослей и цианобактерий (Герасименко, 2002), другие – прокариотным аналогом скелета эукариот (Сумина, 2002), но палеонтологическое изучение показало, что строматолиты в геологическом времени ведут себя как любая естественная группа организмов (Комар и др., 1965).

У современных прокариот не предполагалось наличие макроскопических многоклеточных тел, по размерам (первые дециметры) сопоставимых со строматолитами, несмотря на то, что в работах (Еленкин, 1936, 1938; Горюнова, 1955; Кондратьева, 1995; 2001) имелись данные, позволяющие го-

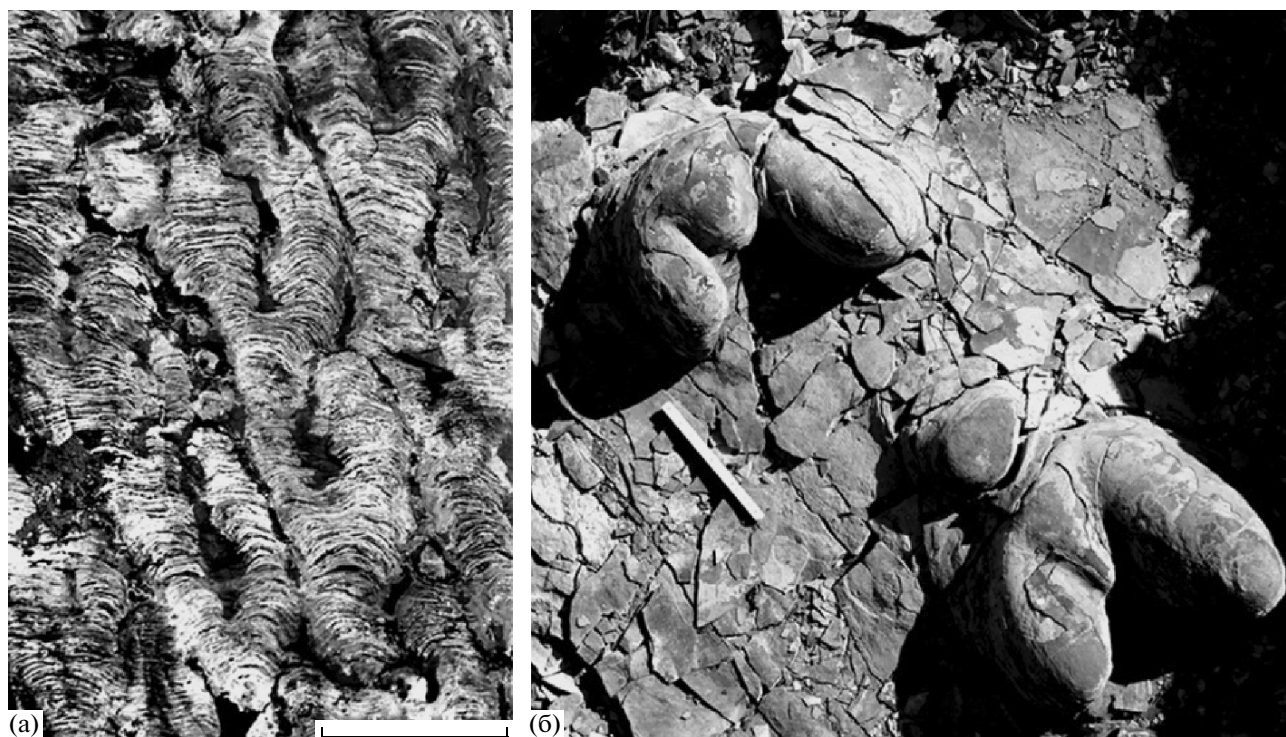


Рис. 1. а – Вертикальный разрез ветвящихся столбчатых строматолитов, верхний рифей (1 млрд. лет), Ю. Урал (фото Е. Суминой). б – Строматолит с трешлопастным контуром (вид сверху), венд (600 млн. лет), Якутия (фото Ю. Шуваловой). Масштабная линейка 20 см.

ворить о возможности морфогенеза у цианобактерий на уровне их “поселения” в целом.

Поскольку современные строматолиты образуются нитчатыми цианобактериями, авторы, основываясь на данных предшествующего биологического и палеонтологического изучения, предположили у этой группы прокариот способность осуществлять морфогенез в макроскопических масштабах – на уровне сообщества, что и легло в основу постановки задач экспериментальных исследований. Необходимо отметить, что в данной статье применительно к цианобактериям термин “сообщество” употребляется в смысле “компактное поселение самостоятельных элементов (нитей цианобактерий)” без определения его уровня целостности, так как к нему равно не применимы ни термин “организм”, ни термин “популяция” и, безусловно, оно не является биоценозом. Здесь же отметим, что, поскольку в природе и в условиях культивирования цианобактерии существуют в виде сообществ, имеющих вид кожистых пленок, термины “сообщество” и “пленка” используются нами как синонимы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В проведенных экспериментах использовалась культура нитчатых цианобактерий, выделенная из термальных источников кальдеры вулкана Узон на Камчатке. Цианобактерии культивировались в накопительной культуре, состоящей из представителей двух видов – *Oscillatoria terebriformis* (Ag.) Elenk. emend., которая является основным структурообразующим компонентом сообщества, и *Phormidium angustissimum* W. et G.S. West, являющимся минорным компонентом, а также разнообразного населения – бактерий, инфузорий, клещей и др.¹

По ботанической классификации эти организмы относятся к порядку *Oscillatoriales* (осцилляториевые) класса *Hormogoniophyceae* (гормогониевые) из отдела *Cyanophyta* (синезеленые водоросли). По бактериальной – к группе 11 (оксигенные фототрофные бактерии), подгруппе 3 (= порядок *Oscillatoriales*). Осцилляториевые – микроскопические многоклеточные фотосинтезики, клетки которых образуют нити, имеющие средние размеры до 400 микрометров в длину и 7 микрометров в

¹ Культура из коллекции Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН.

толщину для *Oscillatoria*; *Phormidium* имеет меньшие размеры — до 100 микрометров в длину и 1.5–2 микрометра в толщину. Нити способны передвигаться по субстрату в жидкой среде в обоих направлениях путем скольжения со скоростью до 100 мкм в минуту.

Осцилляториевые — нитчатые формы, имеющие длинные гомоцитные, как правило, прямые многоклеточные трихомы, состоящие из одинаковых по форме цилиндрических клеток. Терминальные клетки либо не отличаются от остальных клеток трихома, либо могут быть дифференцированы и имеют выпуклые перегородки. Форма терминальных клеток специфична для вида, в данном случае, конечные клетки более или менее сильно суживаются, дифференцировка распространяется на участок длиной в несколько клеток. Дифференцированные концевые клетки могут утрачивать способность к делению. Трихомы гибкие, особенно около концов, подвижные. Перегородки, как правило, тоньше, чем боковые клеточные стенки. При делении цитоплазматическая мембрана образует инвагинации вместе с тонким слоем пептидогликана, разделяющим новые мембраны дочерних клеток. Диаметр трихомов варьирует от 1 мкм до более чем 100 мкм. Постоянные чехлы обычно отсутствуют, но при скольжении трихома по плотной поверхности за ним остаются почти невидимые прозрачные, подобные чехлу, следы или просто слизь. В некоторых случаях вокруг трихомов образуется более заметный слизистый чехол — особенно в старых культурах в жидкой среде. Если трихомы находятся в скоплениях или кожистых пленках, то они окружены морфологически выраженным общим чехлом. Скользящее движение возможно по поверхности твердого или уплотненного субстрата. Движение вперед или назад сопровождается лево- или правонаправленным вращением трихома. Если терминальные участки трихомов не находятся в контакте с субстратом, свободный конец может колебаться при вращении трихома, особенно, если он изогнут. Скорость движения варьирует от менее чем 1 мкм с⁻¹ до примерно 11 мкм с⁻¹ (Определитель ..., 1997). Размножение — только бинарным делением клеток в одной плоскости путем трансцеллюлярного распада трихомов по “жертвенным” клеткам на более короткие подвижные участки, состоящие из нескольких клеток и называемые гормогониями. Они вырастают в новые нити. Часто распад происходит по уже мертвым клеткам — некридиям (Горбунова, 1991).

Oscillatoria terebriformis (осциллятория буравовидная) является в сообществе видом, осуществляющим все морфогенетические преобразования.

Формы этого вида способны к фотоавтотрофии, а также к очень медленному росту в темноте в анаэробных условиях за счет сбраживания экзогенных сахаров. Представители вида образуют темные сине-зеленого цвета дерновинки (пленки). Обитают в горячих источниках с температурой до 45°C.

Цианобактерии культивировались на среде, по составу аналогичной среде горячих источников (в граммах на литр): CaCl₂ — 0.1, NaH₄Cl — 0.1, MgSO₄ · 7H₂O — 0.2, H₃BO₃ — 0.1, K₂HPO₄ — 0.1, NaHCO₃ — 0.3, Na₂SiO₃ — 0.3, FeSO₄ — 0.01, микроэлементы — 0.01 (B, Mg, Zn, Na, Cu, Co).

Сообщество цианобактерий выращивали в чашках Петри стандартного размера, колбах и кристаллизаторах.

Наблюдения проводились невооруженным глазом и с применением микроскопической техники — бинокулярной лупы фирмы Carl Zeiss Jena (×32; 44 и 56), микроскопа NU 2 Carl Zeiss Jena (×123; 312). Препараты приготавливались стандартным методом с использованием предметных и покровных стекол. Растущую культуру освещали лампами накаливания с интенсивностью 2000 лк. Лампы находились на расстоянии 40–50 см от сосудов с культурой. Наблюдения проводились в двух режимах — при постоянном освещении искусственным светом и при естественном освещении с суточными колебаниями.

Отдельного комментария требует вопрос о воспроизводимости экспериментов. Поскольку процессы полностью не детерминированы и не эквивифинальны, в одинаковых условиях морфогенез сообщества может идти как сходных, так и в совершенно различных направлениях, с различными результатами и в течение разного времени. В двух и более стоящих рядом сосудах могут возникать совершенно непохожие картины, поэтому авторы описывают картину явлений, наблюдавшуюся в конкретных экспериментах. Топология событий, происходящих в сосуде, описывается принципиально неполно, поскольку структуры, образуемые цианобактериями, не только обладают малой прочностью, но и механочувствительностью, поэтому поворот лабораторного сосуда для наблюдений и фотографирования в большинстве случаев невозможен без нарушения хода процессов. В связи с тем, что структуры обладают фоточувствительностью, затруднена также фотосъемка процессов, идущих при малом освещении, так как для этого требуется изменение освещенности.

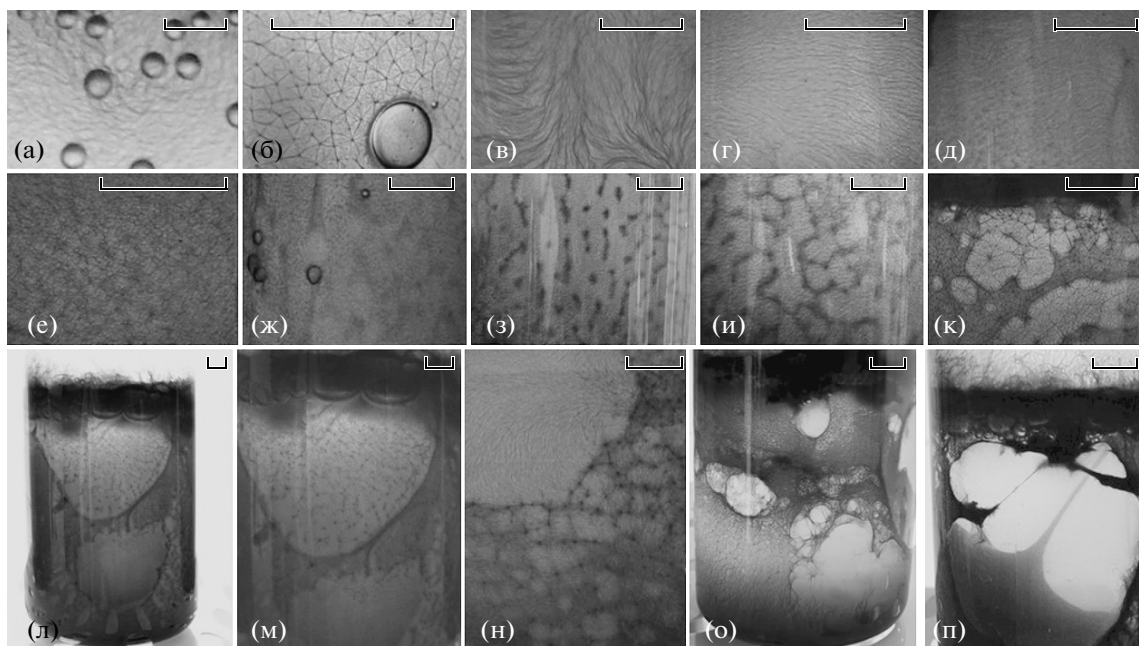


Рис. 2. Обобщенная последовательность стадий морфогенеза при сильном естественном освещении. а – Ячеистая структура молодой пленки; б – нити группируются в сеть; в, г – зрелая пленка (“потоки” из нитей); д – начало образования сети в зрелой пленке; е – начало образования 2 морфогенетических слоев; ж – пузырьки кислорода между слоями; з, и – преобразование внешнего слоя; к – образование сети во внутреннем слое; л, м, н – окна пропускания во внешнем слое; о, п – финальная стадия – сокращение фотосинтезирующей поверхности. Масштабная линейка 1 см.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Предыдущие экспериментальные исследования авторов сводились к изучению реакции сообщества на ряд внешних воздействий – нарушение его механической целостности, засыпание минеральными осадками, слабую вибрацию. Проводились также наблюдения за распространением нитей цианобактерий по поверхности различных субстратов в процессе увеличения площади, занимаемого сообществом, и изучение способности сообщества к поддержанию и изменению своего положения в пространстве. В результате проведенных экспериментов был обнаружен целый ряд морфологически обособленных участков сообщества, называемых в описании экспериментов “структурами”, которые различаются по форме и функциям, и возникают как поведенческий ответ слагающих пленку нитей на различные внешние воздействия. Все структуры образуются путем перегруппировки нитей в пленке.

Ряд структур и способ их образования были описаны в публикациях (Сумина, 2005, 2006). Здесь мы уделим внимание наблюдениям, которые не были описаны ранее. Поскольку при описании наблюдений в ряде случаев используются названия структур, не рассматриваемых здесь подробно, мы дадим их краткую характеристику.

Пленка – представляет собой плоское многослойное образование, не имеет собственных постоянных границ; ее размеры определяются размерами лабораторных сосудов. Толщина определяется ее проницаемостью для света. Пленка достаточно прочная на разрыв, что определяется не только переплетением нитей, но и слизистым полисахаридным матриксом, выделяемым ими. Основной функцией пленки является объединение нитей в структурное и функциональное целое. Существование в виде пленки позволяет нитям сохранять благоприятное пространственное положение, закрепляет осадок, под которым они могут быть погребены, противостоять факторам внешней среды, которым отдельные нити противостоять не могут. В пленке происходят обменные процессы, объединяющие множество нитей и осуществляется взаимодействие специализированных структур. В пленке могут наблюдаться “потоки” – однонаправленные скопления нитей (перо-видные, изогнутые и др.) (рис. 2в, 2г).

Тяжи представляют собой скопления, в которых нити располагаются параллельно друг другу, соприкасаясь боковыми сторонами. Могут иметь размеры от 25 мкм в толщину и 0.5 мм в длину до 1.5 мм в толщину и 10 см в длину. В строении тяжа можно выделить три части: в срединной части ни-

ти располагаются плотно и параллельно друг другу, в концевых частях, граничащих с пленкой или с субстратом — веерообразно, прикрепляясь к последним. В комплексе с многолучевыми агрегатами тяжи осваивают пространство на поверхности субстрата или в объеме жидкости: при перемещениях пленки или ее фрагментов способны к сокращению. Тяжи, располагающиеся в пределах пленки — армирующие, за ее пределами — прикрепительные (рис. 16–18²).

Многолучевые агрегаты — шарообразные скопления нитей размером до 2 мм. Свободные концы нитей по радиусам направлены наружу, в центре имеется плотное “ядро”. Способны к активному направленному движению со скоростью до 1.5 см в час. Функции — образование новых поселений, “сбор информации” о пространстве и “передача” ее основной массе сообщества. Способны также перемещать свободные концы тяжей (рис. 12).

Фотосинтетические сети — участки пленки, располагающиеся не горизонтально на субстрате, а подвешенные в объеме жидкости на тяжах. Образуются в фокусе светового потока (рис. 14в).

Поскольку цианобактерии являются фотосинтезирующими организмами, наиболее важными и выраженными морфогенетическими реакциями их сообществ являются реакции на изменение параметров освещенности.

Описание наблюдений

Фрагмент растущей пленки 5 × 5 см помещали в цилиндрический сосуд объемом 300 мл, заполненный средой. Далее сообщество увеличивало биомассу за счет фотосинтеза и осваивало поверхность стенок сосуда как в подводной части, так и в надводной. Морфогенез в надводной части во всех случаях соответствовал описанному ранее (Сумина, 2006), поэтому далее не рассматривается. Исходный фрагмент пленки постоянно находился на поверхности среды, удерживаясь пузырями фотосинтетического кислорода. От него сообщество тонкой пленкой распространялось по поверхности среды и поверхности лабораторного сосуда выше и ниже уровня жидкости. Ниже уровня жидкости молодая пленка распространялась тонким слоем, прозрачность которого возрастает по направлению распространения. Пленка пронизана армирующими тяжами, образующими ячеистую структуру из плавно изогнутых элементов, не образующих узелки в местах соединения. Пузырьки фотосинтетического кислорода мелкие, округлые, образуются между пленкой и стенкой лабораторного сосуда

(рис. 2а). В более зрелой пленке (4–5-дневной) при интенсивном дневном освещении ячеистая структура начинает преобразовываться в полигональную сеть, состоящую из тяжей и узелков (рис. 2б). В однородной ячеисто организованной массе асинхронно начинают возникать уплотнения (рис. 2а). Расстояние между ближайшими уплотнениями около 1 мм. В уплотнениях одновременно наблюдалось формирование центрального ядра и лучей (рис. 3б). Формирование ядра достигает оформленных стадий раньше, чем формирование лучей. Затем по кратчайшему расстоянию между ядрами лучи соединяются и образуют систему тяжей, соединяющую ядра и образующую вместе с ними сеть, в которую преобразуется вся структура пленки (рис. 3в, 3г). Остальные лучи, сходящиеся к ядрам, значительно более тонкие и занимают пространство между основными тяжами. На этой стадии развития образование сети не приводит к другим морфологическим преобразованиям пленки, кроме изменения ее структуры. Также приблизительно на этой стадии сообщество полностью осваивает поверхность сосуда и дальнейший его рост происходит за счет увеличения толщины пленки и образования специализированных структур, осваивающих объем (будут описаны ниже). Сетчатая структура пленки собирается и разбирается за минимальное наблюдаемое время 45 минут.

При увеличении толщины пленки место сетчатой структуры занимают так называемые “потоки” (названные так благодаря внешнему сходству, а не какому-либо осуществляемому движению) (рис. 2в, 2г). “Потоковая” структура пленки закономерно изменчива. Затем она на отдельных участках поверхности начинает преобразовываться в сетчатую, но первая стадия образования сгущений может существовать достаточно долго, придавая пленке крапчатый вид (рис. 2д, 2е). В первую очередь преобразуются те участки пленки, которые находятся в фокусе сосуда. На этой стадии может происходить выделение двух морфогенетических слоев — внешнего, обращенного к жидкости, и внутреннего, находящегося между ним и стенкой сосуда. Вначале они не различаются по структуре, а их разделение можно фиксировать по закладке пузырей фотосинтетического кислорода между слоями и движению пузырей вверх по границе этих слоев (рис. 2ж).

Далее слои имеют существенно разную морфогенетическую судьбу. Во внешнем слое сетчатая структура формируется полностью, затем происходит сокращение площади слоя со скольжением по внутреннему слою. В течение всего этого времени внутренний слой может сохранять “потоко-

² Культура *Microcoleus chthonoplastes*.

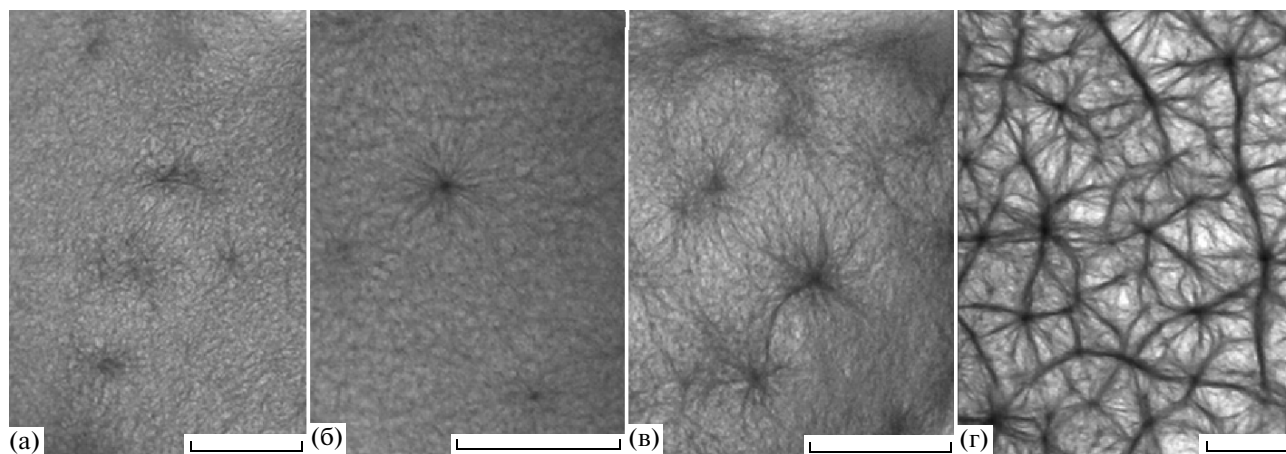


Рис. 3. Стадии образования полигональной сети. а – Образование сгущений; б – образование ядер и лучей; в – установление связей между узлами сети; г – зрелая полигональная сеть. Масштабная линейка 1 мм.

вую” структуру (рис. 2з–2н, 4а, 4б). Во время этих преобразований отсутствует влияние структуры одного слоя на другой. При сокращении наружного слоя внутренний слой приобретает непосредственный контакт со средой и преобразование его структуры начинается только после этого и только на тех участках, где это произошло. Образование полигональной сети во внутреннем слое идет путем индукции сетчатой структуры края внешнего слоя на внутренний слой и происходит соответственно от краев к центру освободившихся участков (рис. 2к–2н, 4в, 4г). В общем случае, сетчатая структура возникает при повышении освещенности. Однако, в наших опытах часто наблюдалось развитие сетчатой структуры внутреннего слоя при понижении освещенности, что может говорить не только о наличии самой индукции, но и о ее природе – о выработке некоторого аналога условного рефлекса, поскольку развитие участков сообщества не связано с определенными и однозначными корреляциями и определяется поведением его элементов (нитьями цианобактерий).

Выделение двух морфогенетических слоев не является неизбежной и обязательной стадией процесса: в большинстве случаев сообщество преобразуется как один слой. По нашим наблюдениям слои чаще всего выделяются в условиях повышения концентрации кислорода в герметически закрытых сосудах.

После образования сети начинается собственно процесс преобразования общей формы сообщества. В нем начинают формироваться зоны сжатия и растяжения (рис. 5). Структурно процесс идет в том же направлении, что и при образовании узелков сети, то есть путем возникновения иерархиче-

ских различий между первоначально однородными участками. Отдельные узелки сети утолщаются и отходящие от них тяжи начинают сократительные движения. В результате этого возникают центры слияния многих узелков и тяжей в единую плотную массу, являющуюся центром сокращения до его финальных стадий. Насколько можно проследить, в этой плотной массе длительное время сохраняется сетчатая структура, но сильно сжатая. Фрагменты сети, находящиеся между центрами сокращения, растягиваются вплоть до полного разрыва. На месте разрывов остается чистое стекло сосуда без фрагментов культуры цианобактерий, из чего можно сделать вывод, что не только сокращение, но и растяжение являются активной функцией. Пленка в однородном состоянии достаточно прочно прикреплена к стеклу всей поверхностью, а во время описанных морфогенетических преобразований прикрепляется только в области сжатия. В области растяжения нити ослабляют связи, как между собой, так и с субстратом, что вполне соответствует целям полной эвакуации всего сообщества с переосвещенных участков (рис. 6).

В целом, сообщество из тонкой пленки, равномерно расположенной на поверхности сосуда, может преобразовываться в систему компактных тяжей примерно за пять часов. Несмотря на то, что изначально на разные участки тяжа приходится разное количество материала сворачиваемой пленки, сами тяжи при завершении формирования на всем протяжении обладают одинаковой толщиной и плотностью, то есть при их образовании происходит перераспределение нитей в соответствии с заданной формой данной структуры (рис. 2о, 2п). Тонус тяжей определяется интенсив-

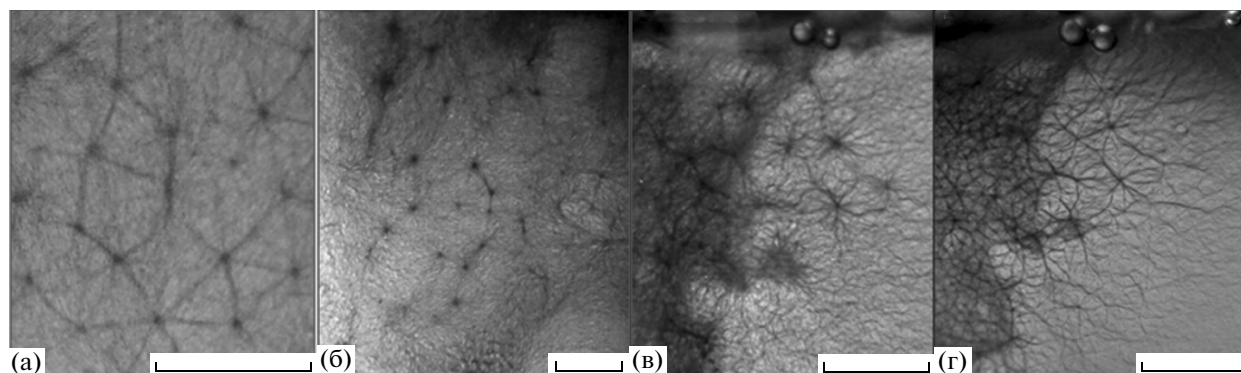


Рис. 4. Структура двух морфогенетических слоев. а, б – Образование сети во внешнем слое при сохранении потоковой структуры внутреннего; в, г – индукция сетью внешнего слоя образования сети во внутреннем слое за 1 час при ослаблении естественного освещения. Масштабная линейка 2 мм.

ностью освещения (фоточувствительность структур будет описана ниже). При падении интенсивности естественного освещения тяжи расслабляются и их система провисает (рис. 7а). Для поддержания связи с субстратом образуются прикрепительные тяжи по направлению и против направления движения всей системы вниз. Верхние тяжи растягиваются и существуют до момента прикрепления общей массы сообщества к субстрату. После этого они прикрепляются всей поверхностью к стеклу, сбрасывают напряжение и далее разбираются (рис. 7б). По направлению вниз в то же время тяжи растут и прикрепляются к субстрату (рис. 7в). Скорость роста тяжей превышает скорость провисания основной системы тяжей.

В ряде случаев сообщество принимает вид фотосинтетической сети, натянутой на тяже (рис. 8). Общий вид этой конструкции напоминает парус. Как было описано ранее (Сумина, 2006), на микроскопическом уровне сообщество имеет структу-

рированную границу, состоящую из трех зон: зоны сетчатого расположения нитей, зоны параллельного расположения нитей и зоны из нитей, расположенных перпендикулярно краю, имеющей вид бахромы (рис. 9б). Принципиально схожая картина наблюдается и в макроскопическом масштабе. Собственно площадь фотосинтетической сети пронизана армирующими тяжами. Ее край, обращенный к незанятому пленкой участку стенки сосуда, представляет собой четко различимую плотную границу, на которой расположены обращенные в среду пучки тонких коротких тяжей, расположенные примерно на равном расстоянии друг от друга. Важным отличием границы в макроскопическом масштабе является то, что она возникает не при распространении сообщества в среду, а при его сокращении.

Отдельные тяжи, возникающие при высокой интенсивности освещенности за счет сокращения пленки, при падении освещенности расслабляют-

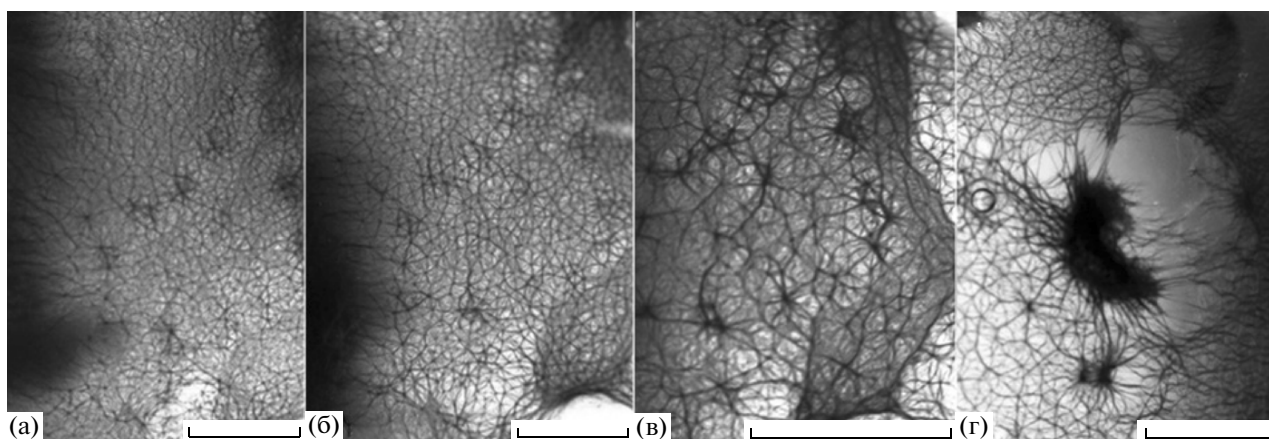


Рис. 5. Образование зон сжатия и растяжения в полигональной сети. Масштабная линейка 1 см.

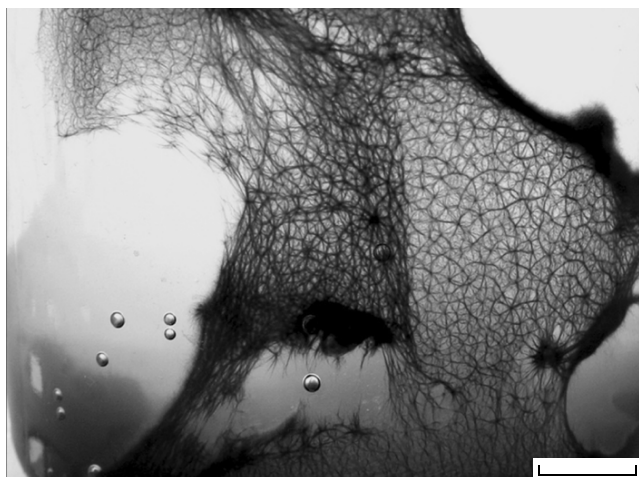


Рис. 6. Взаимодействие зон сжатия и растяжения в морфогенезе. Масштабная линейка 1 см.

ся, форма их становится извилистой, как на макро-, так и на микроскопическом уровне и они достигают поверхности стенки сосуда (рис. 10). В этом случае нити, слагающие тяж, распределяются по поверхности стекла в виде пленки; от тяжа остаются только реликты его структуры (рис. 10г). Однако, при повышении освещенности нити снова собираются в тяж, соответствующий первоначальной форме и расположению в пространстве, который в результате натяжения отходит от поверхности сосуда в толщу среды (рис. 10д). Возможно,

здесь наблюдается одно из наиболее ранних в эволюции проявлений эквифинальности. Реакция нитей, ранее входивших в тяж, по времени опережает подобную реакцию других частей сообщества и вызывается скорее не избыточной освещенностью, а просто ее ростом и наблюдаемый эффект может являться аналогом научения.

Выше были описаны преобразования, возникающие при суточных изменениях освещенности, скорость которых диктуется скоростью изменения фактора, а не возможностями самого сообщества. При искусственно создаваемых изменениях освещенности удалось наблюдать сокращение и расслабление тяжей и пленок, обусловленное фоточувствительностью, выраженные с максимальной для них в данных условиях скоростью. В частности, длинные тяжи расслаблялись и провисали при отключении света на 13–15 мм при длине тяжа около 60 мм за 4–6 минут (рис. 11а–11д). При включении света обратное натяжение происходит за то же время (рис. 11ж–11л). Сокращения и расслабления одного и того же тяжа в зависимости от освещенности удалось стимулировать более пяти раз.

Во время расслабления-сокращения меняется не только форма тяжа, но и его микроструктура. При натяжении он становится ровным и гладким, а при расслаблении извилистым и рыхлым (рис. 11е, 11м). При изменении освещения одновременно с тяжом испытывали сокращение и другие части сообщества, не прикрепленные к

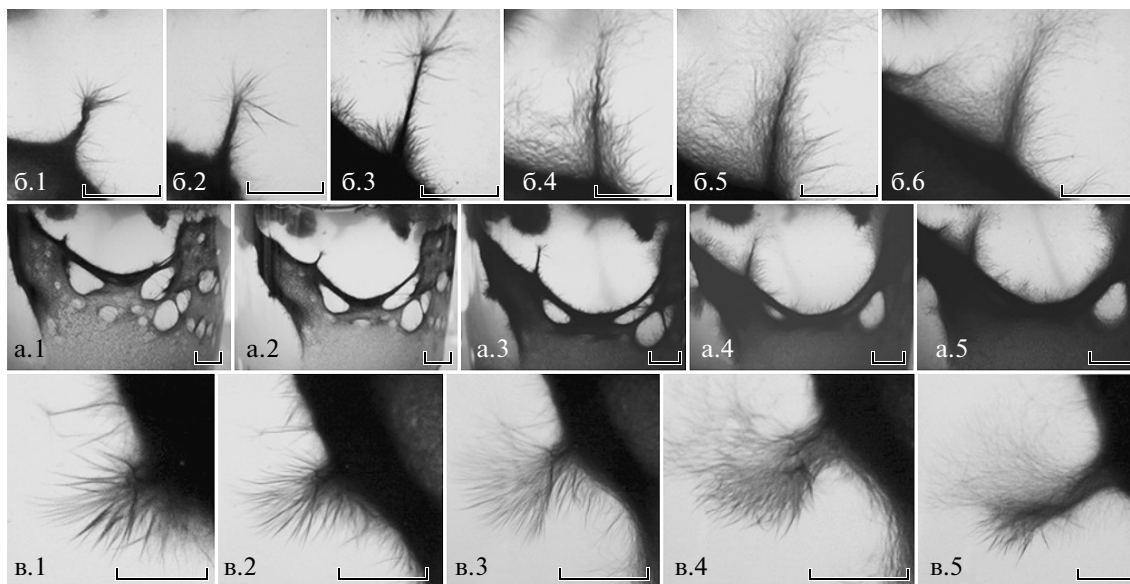


Рис. 7. Образование прикрепительных тяжей при ослаблении естественного освещения. а – Динамика опадания пленки; б – образование и распад прикрепительного тяжа против направления опадания пленки; в – образование прикрепительного тяжа по направлению опадания пленки. Время протекания процесса 1.5 ч. Масштабная линейка а, в – 1 см, б – 5 мм.

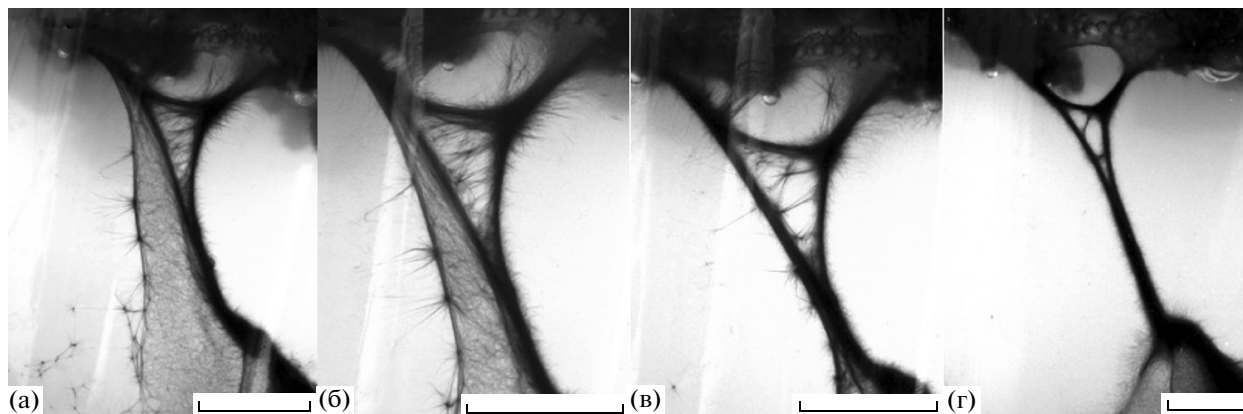


Рис. 8. Протекание морфогенеза при ослаблении естественного освещения. Время протекания процесса 2 ч 15 мин. Масштабная линейка 1 см.

субстрату: в частности, “висячие” тяжи — более, чем в два раза. Важно, что сокращался и свободный произвольный фрагмент пленки (рис. 11а–11д, 11ж–11м).

Способность к сокращению проявляет также не имеющая выраженных структур пленка, расположенная на стенке сосуда. Ее сокращение происходит по всей площади в вертикальном направлении около двух раз при длине около 60 мм. При отключении искусственного освещения она также испытывает расслабление и увеличивает свою площадь почти до первоначального размера. Преоб-

разование ее формы в процессе сокращения напоминает подъем шторы “маркиза” (рис. 12). Важным отличием от сокращения тяжа является то, что для пленки оно происходит примерно в течение часа, а расслабление — примерно за 15 минут — в отличие от 4–6 минут для тяжа, что еще раз подтверждает, что тяжи являются специализированными структурами для осуществления механических движений.

В условиях интенсивного естественного освещения сообщество не только сокращает свою поверхность, но и образует специфические структу-

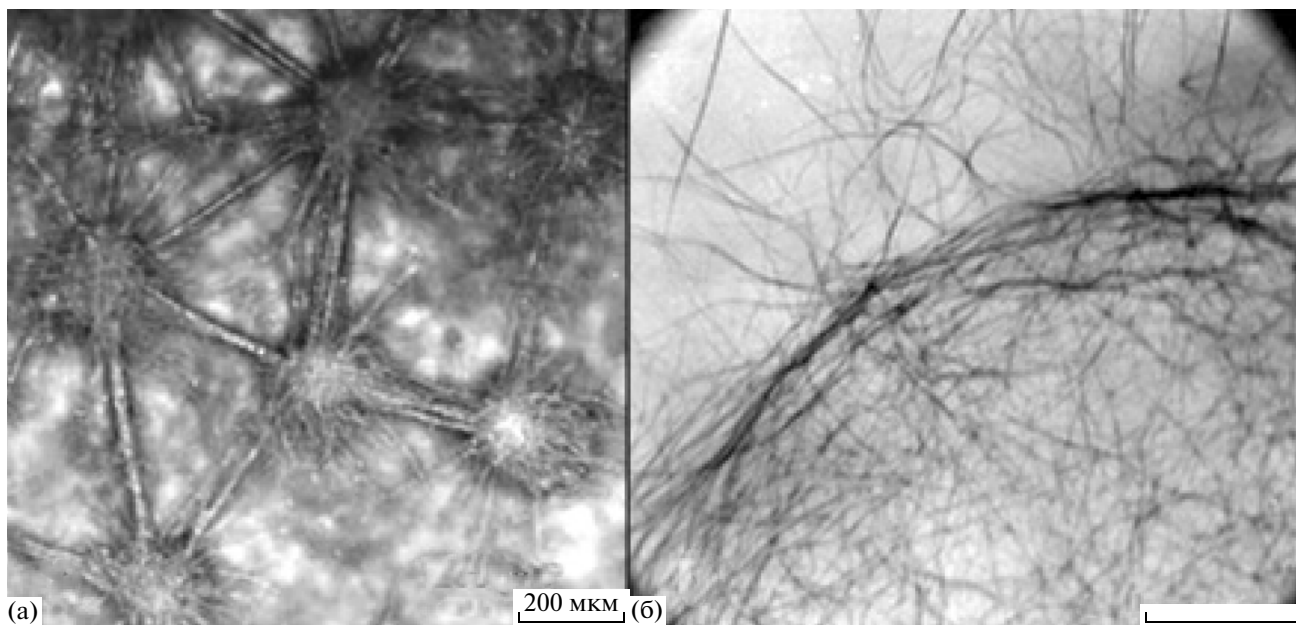


Рис. 9. а — Полигональная сеть нитчатых цианобактерий (систематическое положение авторами не указано) Petroff et al., 2008, б — строение границы растущей пленки. Масштабная линейка 0.2 мм.

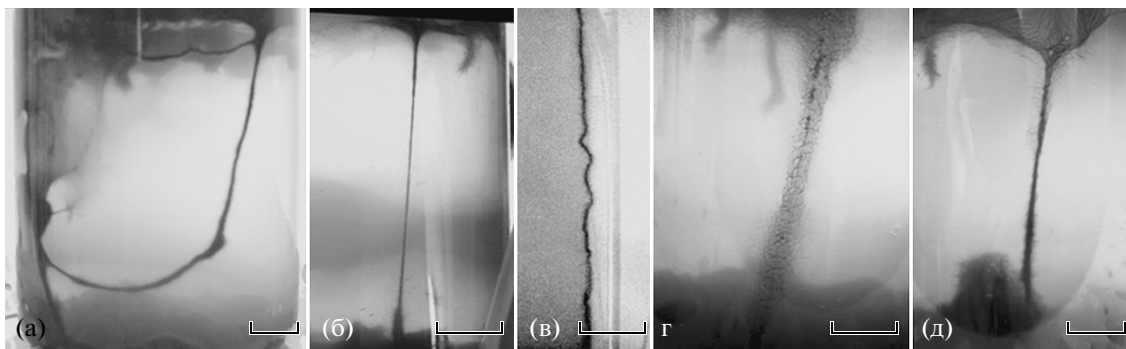


Рис. 10. Изменение строения тяжа и его положения в пространстве при изменении естественной освещенности. а–г – Уменьшение освещенности, д – увеличение освещенности. Время протекания – 10 ч. Масштабная линейка 1 см.

ры, увеличивающие поверхность фотосинтеза. К ним относятся “висячие” тяжи (рис. 13, 14). Морфогенез этих образований принципиально отличается от тяжей, возникающих в результате сокращения пленки, и проявляет сходство с образованием прикрепительных тяжей, описанных выше. Образование “висячих” тяжей начинается с возникновения на нижней стороне участка сообщества, находящегося на поверхности среды, особой выступающей области, напоминающей почку (рис. 13п). В области почки нити выходят в среду на значительно большую длину, чем на других участках. Затем из почки вниз начинает расти длинный ровный тяж, свободно висящий в жидкости. Структура “висячего” тяжа отличается от структуры двух видов упомянутых выше тяжей тем, что вся его поверхность плотно опушена хоро-

шо различными короткими тяжиками примерно равной длины и нижний его конец всегда свободен. На нем могут располагаться разрастания в виде кистей разной формы. Тяжи обладают механо- и фоточувствительностью, которые проявляются в сокращении и изгибании. В случае воздействия колебаниями среды тяж может изгибаться на 90° за пять минут после окончания воздействия (рис. 13). Фоточувствительность проявляется сходным образом, но за большее время и без столь однозначной связи с самим воздействием, поскольку оно значительно распределено по времени (рис. 14).

Все вышеописанные морфогенетические преобразования слишком сложны для того, чтобы объяснить их действием тех или иных физических сил, могущих возникать в сообществе при измене-

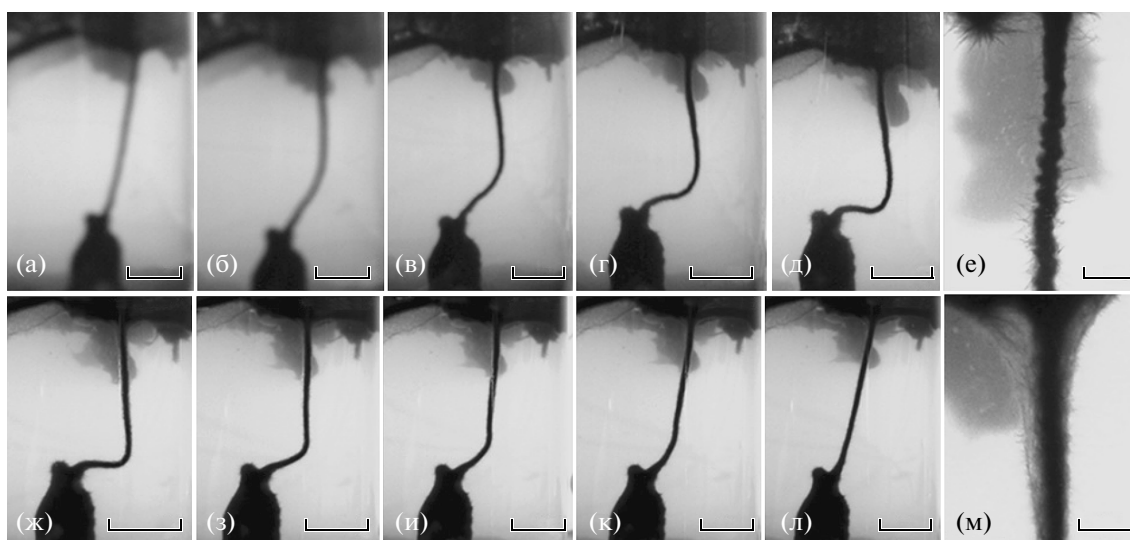


Рис. 11. Реакция тяжа на изменение освещения. а–д – Расслабление за 4 минуты при слабом искусственном освещении; ж–л – натяжение за 6 минут при сильном искусственном освещении; е – структура расслабленного тяжа; м – структура натянутого тяжа. Масштабная линейка а–д, ж–л – 2 см, е, м – 5 мм.

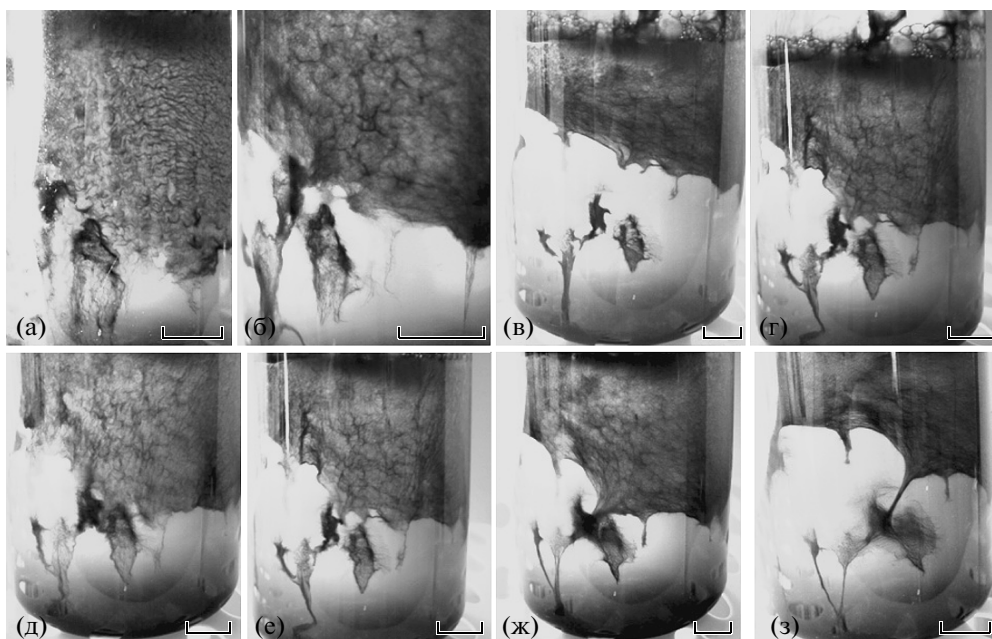


Рис. 12. Сокращение и расслабление пленки, не прикрепленной к стенке сосуда. а–в – Сокращение при сильном искусственном освещении (1,5 часа), г, д – расслабление при слабом искусственном освещении (15 минут), е–з – сокращение при возрастании естественного освещения (1 час 15 минут).

нии условий. Таким образом, встает вопрос о наличии в сообществе управляющей системы. В большинстве случаев ее в непосредственно выраженном виде наблюдать не удалось. Однако, в случае преобразования пленок в системы тяжей при избыточном освещении, механически этот процесс осуществляется сетчатой структурой, предварительно создаваемой сообществом для его обслуживания. Это наводит на мысль о том, что одновременно с механическими свойствами та же система может собирать и реализовывать информацию, необходимую для осуществления направленных морфогенетических преобразований. Общее сходство сетевых структур в сообществе цианобактерий со строением диффузной нервной системы низших многоклеточных может являться чисто внешним и само по себе ничего не доказывает. Однако, нам удалось наблюдать поведение изолированных объектов, названных нами многолучевыми агрегатами, которые аналогичны отдельным узлам сетчатых структур. Свойства поведения многолучевых агрегатов позволяют предполагать у них способность к сбору, созданию и реализации пространственной информации. Как было показано ранее (Сумина, 2006), эти образования способны к направленному движению в толще жидкости и к перемещению тяжей, что может задавать структуру сообщества при освоении им объема.

В экспериментах, результаты которых описываются ниже, наблюдалось образование и направленное перемещение многолучевых агрегатов по поверхности стенок лабораторного сосуда (рис. 15а–15р). При возрастании интенсивности естественного освещения, свежая пленка, покрывшая за ночь свободные от основной массы сообщества поверхности сосуда, начинает стягиваться в компактные образования, полностью освобождая участки поверхности между ними. Сами эти компактные образования примерно за 1 час приобретают вид звездчатого скопления с четко выраженным центральным ядром и лучами (сравнить с начальными стадиями образования узлов сети). Размер таких скоплений различен – от 0.5 до 5 мм. После окончания формирования некоторые многолучевые агрегаты начинают активное движение по поверхности стекла в направлении других ближайших агрегатов и объединяются с ними. В течение времени наблюдений удалось зафиксировать до пяти последовательных объединений. В процессе объединения их ядра могут полностью сливаться, но часто длительное время сохраняют оформленность. При этом “двухъядерный” многолучевой агрегат действует как единое целое (рис. 15х). Скорость движения агрегатов по стеклу достигает 3 см в час. При соприкосновении их лучей она несколько увеличивается. Некоторые многолучевые агрегаты образуют под углом к поверх-

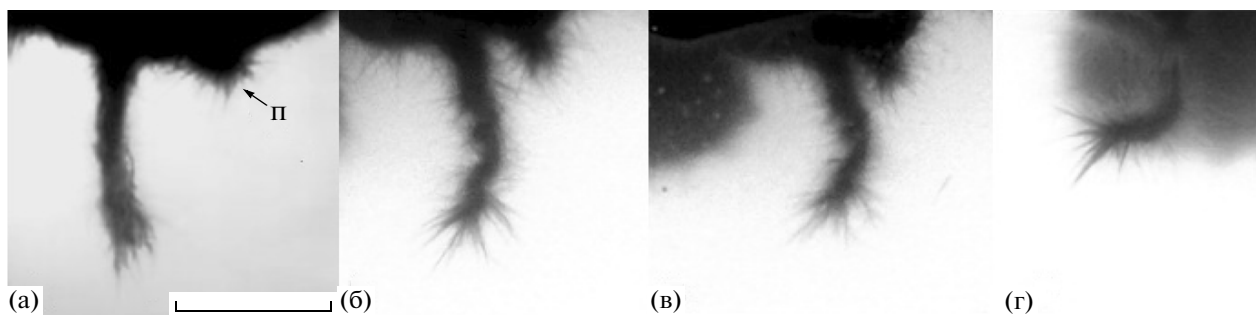


Рис. 13. Висячий тяж. а–г – Изгибание в ответ на механическое воздействие; п – почка. Время протекания 5 мин. Масштабная линейка 1 см.

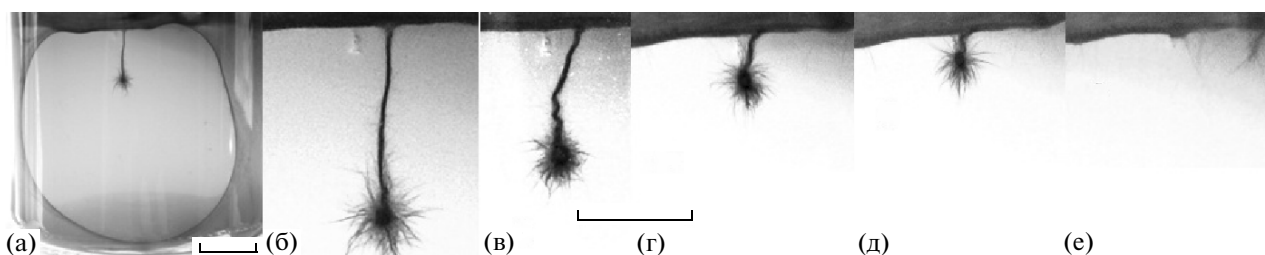


Рис. 14. Сокращение висячего тяжа. Усиление естественного освещения. Время протекания – 2.5 ч. Масштабная линейка 1 см.

ности стекла вначале тонкий луч, а затем достаточно толстый тяж по направлению к близлежащему участку массы сообщества и подтягиваются к ней. Расстояние, первоначально разделяющее многолучевой агрегат и основную массу сообщества, может достигать сантиметра и более.

Многолучевые агрегаты обладают также механической чувствительностью. При возникновении колебаний в среде, например, от случайных толчков, их лучи сокращаются и изгибаются, при прекращении воздействия выпрямляются (рис. 15р–15у). При распространении от основной массы сообщества фронта нитей в область нахождения многолучевого агрегата возникает ячеистая структура, отличающаяся от других областей вновь возникающей пленки. Многолучевой агрегат обладает существенной автономией и способностью структурно влиять на вновь образующиеся участки сообщества (рис. 15ф). При включении многолучевых агрегатов во вновь образованную пленку и исчезновении структуры лучей, их ядра могут существовать более 12 часов, не испытывая на себе влияние других структур и даже продолжать влиять на вновь образующиеся структуры.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предметом исследования явлений морфогенеза традиционно являлось становление морфологии по большей части крупных тел многоклеточных эукариот. Авторами исследован прокариотный объект, результаты морфогенеза которого вполне сопоставимы с таковыми у многоклеточных эукариот, однако здесь процессы идут по альтернативной схеме.

У нитчатых цианобактерий рода *Oscillatoria*, описанных выше, морфогенез в сообществе осуществляется исключительно за счет перемещения нитей и изменения пространственной структуры их расположения при отсутствии морфологической и физиологической специализации нитей. Это позволяет сообществу создавать крупные морфологически оформленные структуры, состоящие из специализированных частей, поддерживающих жизнедеятельность сообщества как целого (Сумина, 2006). При этом за счет отсутствия специализации нитей сообщество может в зависимости от изменения условий изменять свое строение любым необходимым ему образом. Фактически, наблюдаемый объект эволюционно находится на границе коллективного поведения его вполне самостоя-

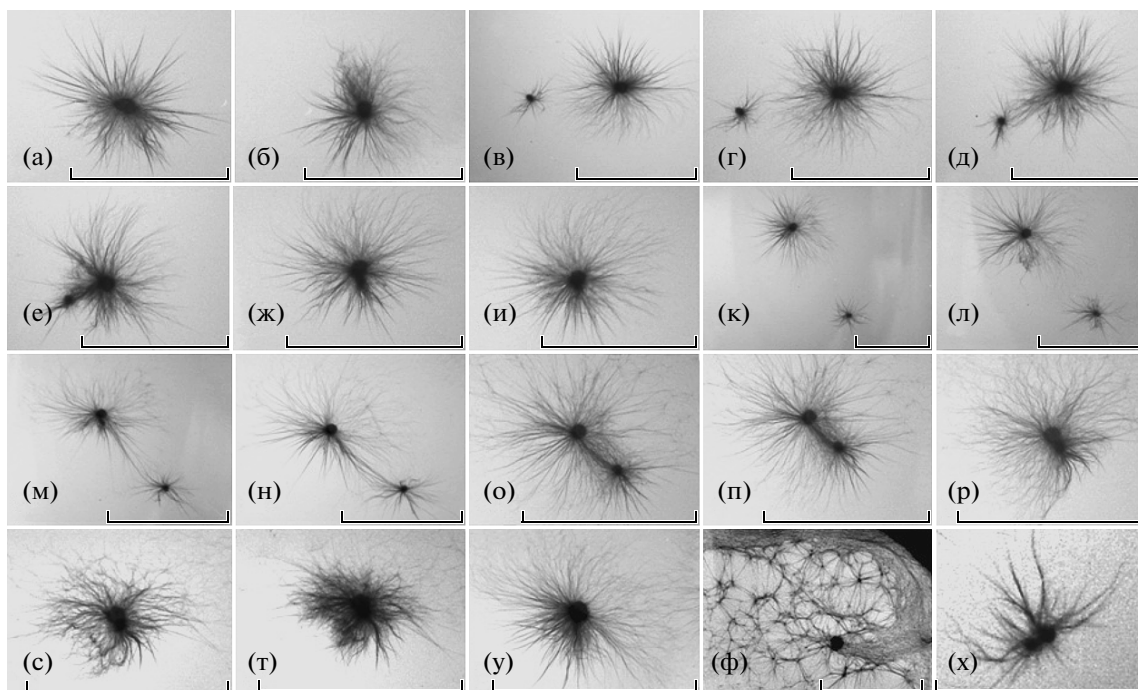


Рис. 15. а–р – Перемещения и слияния многолучевых агрегатов. Усиление естественного освещения. а–ф – Единый ряд событий. а–р – 07:45–12:30; р–у – 12:30–13:15; ф – 16:00. х – Многолучевой агрегат с двумя ядрами. Масштабная линейка 5 мм.

тельных элементов (нитей) и онтогенеза в классическом понимании этого термина.

При сравнении прокариот и эукариот авторы придерживаются точки зрения, предложенной М.В. Гусевым и Г.Б. Гохлернер (1980) и полагают, что эукариотные клетки являются высокоспециализированными многоклеточными прокариотами, первичные однородные элементы которых при различных направлениях специализации дали все четыре типа полуавтономных органелл – митохондрии, пластиды, ядро и цитоплазму. Вероятнее всего, у многоклеточных эукариот наблюдается два иерархически соподчиненных уровня многоклеточности, которые являются фундаментом для согласованных специализаций, то есть биологического морфогенеза.

Если применительно к этой схеме рассматривать иерархию организации сообщества нитчатых цианобактерий, то, очевидно, что нити являются многоклеточными прокариотными организмами. Многоклеточность проявляется в наличии физиологических связей клеток через цитоплазматические мостики и наличии дифференцированных клеток в пределах одной нити (Гусев, Минеева, 2004). Таким образом, объединение прокариотных клеток в нить – это первый уровень многоклеточности, аналогичный тому, который лежит в основе

организации эукариотных клеток. Если в эукариотных клетках элементы прокариотного происхождения объединены в объеме, то у цианобактерий – линейно, что определяет как сходства, так и различия их организации.

Второй уровень представлен объединением нитей в сообщество, где осуществляется дифференцировка только пространственного положения элементов (нитей). Как представляется, это означает, что нитчатые цианобактерии соотносятся с эукариотами не как организмы предыдущего уровня развития, а как параллельная ветвь эволюции многоклеточности, находящаяся на той же стадии, что и многоклеточные эукариоты (рис. 19). Поэтому сходство их морфогенезов является вполне объяснимым.

Морфогенез в сообществах нитчатых цианобактерий обладает наибольшим сходством с морфогенезом многоклеточных эукариот в том, что представляется самым важным – в дифференциации на функционально согласованные части. Поведение отдельных нитей определяется не индивидуальными потребностями нитей, а потребностями большего целого, как показано для эукариот на примере гидроидов (Марфенин, 1993). Исходя из характера перемещений нитей в сообществе, можно предполагать наличие морфо-

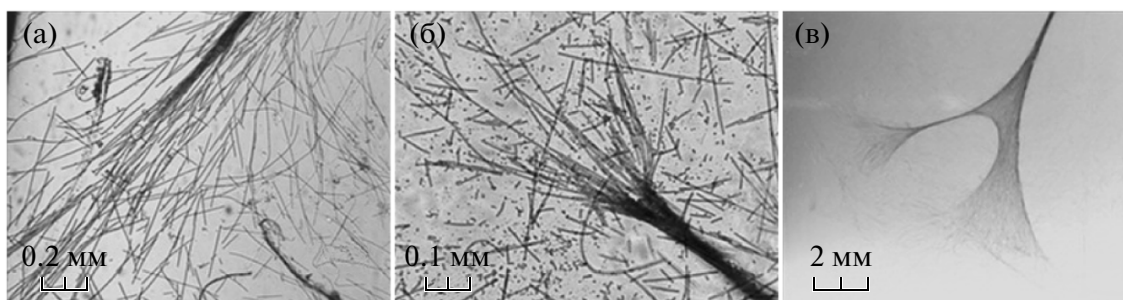


Рис. 16. Прикрепительные тяжи. а – Механизм образования тяжа: полоса из параллельно движущихся нитей, начинающая консолидироваться в плотный тяж; б – сформированный тяж с оформленными дистальной и проксимальной частями; в – начало развертывания тяжей в фотосинтетическую сеть.

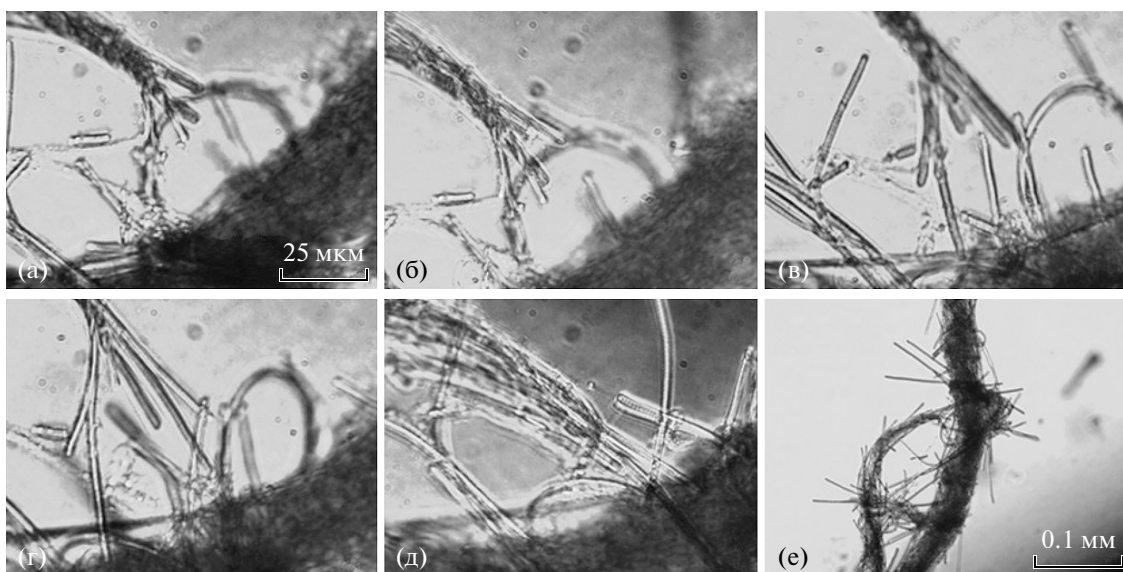


Рис. 17. Последовательные стадии прикрепления тяжа к субстрату (в данном случае, другому тяжу). Время протекания – 20 мин.

генетических полей, аналогичных наблюдаемым в развитии эмбрионов многоклеточных эукариот (Белюсов, 1987). Масштабы согласования, то есть создание микроскопическими цианобактериями структур размером до 10 см (в наших экспериментах) и ископаемые следы существования таких структур, достигающих до 1 м в поперечнике (максимальный размер ископаемых строматолитов), соответствуют тому же размерному классу, в котором сосредоточено большинство морфогенетических явлений у многоклеточных эукариот. В данном случае размер можно воспринимать не как количественную, а как качественную характеристику. По-видимому, именно соотношение размера и физических и химических характеристик структур определяет в обоих случаях наличие организмов

трех уровней сложности: 1) органеллы эукариотных клеток – отдельные клетки нити цианобактерий; 2) клетки эукариот – отдельные нити цианобактерий; 3) многоклеточный организм – сообщество цианобактерий (пленка).

Все структуры формируются из цианобактериальных нитей, свободно движущихся друг относительно друга, и осуществляющих как контактные, так и дистантные взаимодействия. На время существования структур специализируется только пространственное положение нитей – 1) в отношении сообщества в целом, то есть в соответствии с его потребностями в данном месте и в данное время; 2) в отношении индивидуального положения в образующейся структуре, то есть в соответствии со строением данной части структуры и стадией ее

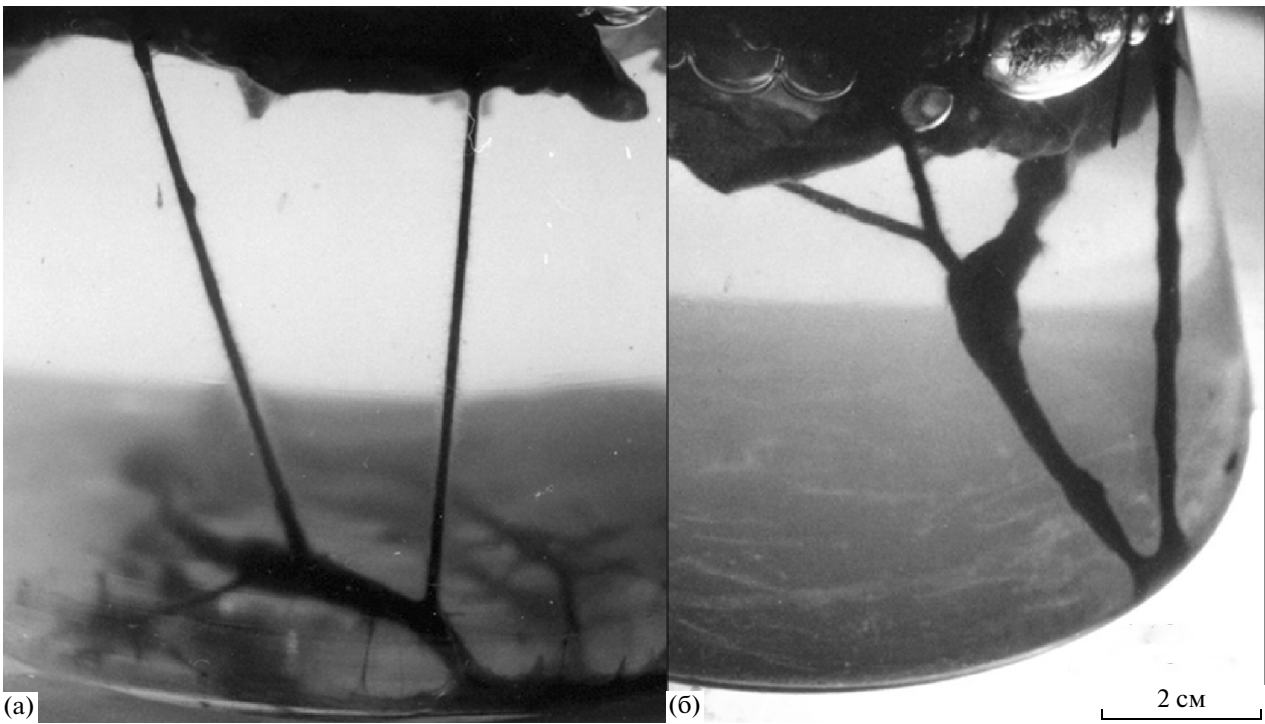


Рис. 18. Изменение пространственной структуры сообщества *Microcoleus chthonoplastes* при помощи сокращения тяжей. Искусственное освещение. Время протекания – 1 сутки.

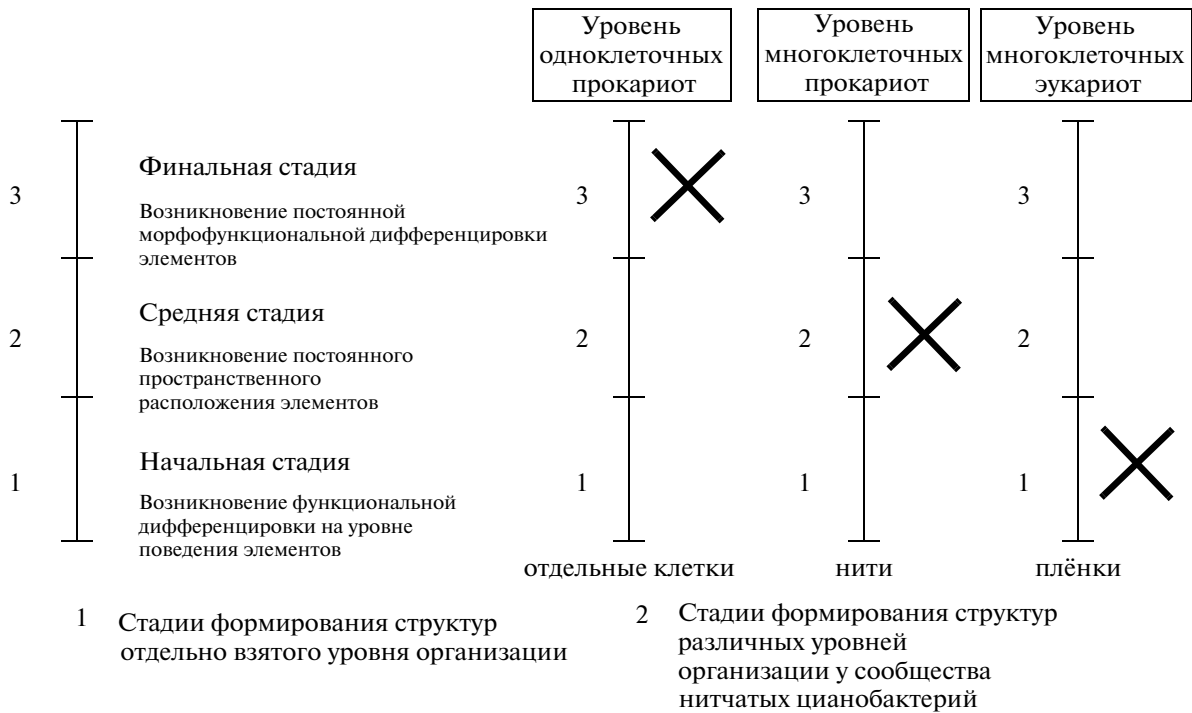


Рис. 19. Степень развития иерархических уровней организации цианобактерий (Сумина, 2005).

формирования; 3) по отношению друг к другу, то есть в соответствии с характером взаиморасположения нитей в том или ином участке структуры. Также наблюдается временная специализация адгезивных свойств нитей по отношению к субстрату и друг другу. Поскольку нити перемещаются в пределах структур при сохранении целостности последних, специализированными оказываются не те или иные нити, а именно определенные участки структур.

Отличия и сходства в протекании морфогенеза у цианобактерий и у многоклеточных эукариот по различным уровням организации распределены весьма мозаично.

У нитчатых цианобактерий порядка осцилляторных специализация клеток в нитях развита крайне слабо, в основном это касается концевых клеток, но в других порядках она может быть сильно развитой, как в морфологическом, так и в физиологическом плане (Кондратьева, 1995). Таким образом, здесь наблюдается не прямое структурное соответствие — нити состоят из неподвижных друг относительно друга специализированных элементов (клеток), а в структуру сообщества нити входят как подвижные и неспециализированные элементы.

На уровне отдельных элементов также наблюдается принципиальное отличие морфогенеза от такового многоклеточных эукариот. Элементы сообщества цианобактерий (нити), не испытывают специализации и не имеют постоянного пространственного положения в структуре.

На уровне самих структур, напротив, наблюдается принципиальное сходство с эукариотами — сложные структуры, демонстрирующие корреляцию в строении, возникают путем последовательной смены стадий, и могут иметь структуры-предшественники, что сходно с онтогенезом.

На уровне строения сообщества в целом опять наблюдается принципиальное различие — корреляция в образовании и расположении структур в сообществе отсутствует. Структуры возникают во времени и пространстве независимо друг от друга, но в зависимости от нужд сообщества в данное время и в данном месте. Также все структуры могут преобразовываться в любые другие (неэквивалентный морфогенез).

У многоклеточных эукариот сложная организация тел управляется и поддерживается множеством специализированных систем. В цианобактериальном сообществе пока обнаружена только одна система, одновременно выполняющая все три важнейшие функции — информационную, двигательную и распределительную — полигональная

сеть. Последняя функция была рассмотрена ранее (Сумина, 2006). О наличии у полигональных сетей информационных функций, помимо того, что они управляют направленными изменениями формы и структуры сообщества, свидетельствует также и то, что они состоят из элементов, даже в изолированном виде способных к созданию и реализации пространственной информации.

Неизбежно встает вопрос о субъекте (субъектах) создания и сохранения морфогенетической информации.

Высокая степень стереотипности морфогенезов многоклеточных эукариот в течение длительного времени создавала впечатление, что этот процесс происходит благодаря predetermined механическому следованию наследственной информации. Наиболее распространенной в настоящее время точкой зрения является то, что наследственная информация возникает в структуре ДНК случайным путем и полезные изменения закрепляются естественным отбором. Однако, если организм теряет способность противостоять случайным изменениям своей структуры (поддерживать гомеостаз) и допускает свое приспособление к среде, это приводит к его специализации (потере целостности организации) и вымиранию (Сумин, Сумина, 2006). Только к такому исходу и может приводить воздействие низкоорганизованной системы на более высокоорганизованную. Возрастающие степени независимости организма от среды, в частности, возникновение многоклеточности, пока остается без объяснения и пока не найден субъект, ответственный за ее информационное обеспечение.

Говоря о реализации информации клетками многоклеточных эукариот, необходимо обратить внимание на их способность к осуществлению эмбриональных регуляций при полном разрушении надклеточных структур эмбриона (Spiegel M., Spiegel E., 1975; Белоусов, 2005) и при культивировании тканей *in vitro* (Исаева, 1994). Это указывает на возможность создания и изменения морфогенетической информации самими клетками и их сообществами.

Таким образом, между цианобактериями и эукариотами наблюдается сходство в наличии коллективного поведения нитей и клеток, то есть на первичном уровне — уровне отношений их элементов. Различие же связано с отсутствием у цианобактерий вторичных, относительно поведения, эквивалентных морфогенезов.

На наш взгляд ценность цианобактериального сообщества как объекта морфогенетических наблюдений состоит в том, что здесь очевидным яв-

ляется факт создания и реализации пространственной информации самими нитями, поскольку нет никаких других источников ее возникновения. Другими словами, механические, электрические или иные градиенты, управляющие морфогенезом, не возникают в сообществе как внешние силы по отношению к его элементам (нитям), а создаются самими нитями с целью управления морфогенезом как процессом их взаимоорганизации при образовании целого. Также очевидно, что пространство, в котором информацию о структурных изменениях в котором реализует отдельная нить, значительно (на два порядка и более) превышает в размерах физически занимаемое ею пространство, причем это пространство является общим для всех нитей, вовлеченных в морфогенез. Это также не соответствует самоорганизации поведения отдельной нити или сумме таких самоорганизаций.

В.Я. Бродским (2009) выделено две ступени в работе информационной системы организмов: первая, геномная, реализующая информацию о собственных структурах и функциях организмов, и вторая, сигнальная, объединяющая организмы в агрегаты, и впоследствии, в постоянные организмы следующего уровня сложности. Результаты наблюдений над цианобактериями, как нитчатыми, так и одноклеточными (Кондратьева, 1995), вполне отвечают такой структуре отношений источников морфогенетической информации, и позволяют сделать вывод, что генетическая информация, определяющая постоянную структуру организма, является производной от деятельности сигнальной системы, обеспечивающей поведение его элементов.

Природа обнаруженного явления в дальнейшем требует специальных исследований, в частности, изучения сигнальных факторов морфогенеза.

Авторы выражают признательность Л.В. Белоусову, В.Я. Бродскому и В.В. Исаевой за обсуждение и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Белоусов Л.В. Основы общей эмбриологии. М.: Изд-во МГУ, Изд-во Наука, 2005. 367 с.

Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. М.: Изд-во Московского университета, 1987. 237 с.

Бродский В.Я. Прямые межклеточные взаимодействия и “социальное” поведение клеток млекопитающих, протистов и бактерий. Возможные причины многоклеточности // Онтогенез. 2009. Т. 40. № 2. С. 97–106.

Герасименко Л.М. Актуалистическая палеонтология циано-бактериальных сообществ // Дисс. ... докт. биол. наук. М., 2002. 70 с.

Горбунова Н.П. Альгология. М.: Изд-во Высшая школа, 1991. С. 54–71.

Горюнова С.В. Явление хищничества у синезеленых водорослей // Микробиология. 1955. 24. № 3. С. 271–274.

Гусев М.В., Гохлернер Г.Б. Свободный кислород и эволюция клетки. М.: Изд-во МГУ, 1980. 223 с.

Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М.: Изд-во МГУ, 2004. С. 76–79.

Еленкин А.А. Синезеленые водоросли СССР. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1936, 1938. 977 с.

Исаева В.В. Клетки в морфогенезе. М.: Наука, 1994. 223 с.

Комар Вл.А., Раабен М.Е., Семихатов М.А. Конофитоны рифея СССР и их стратиграфическое значение // Тр. ГИН АН СССР. 1965. Вып. 131. 72 с.

Кондратьева Н.В. Флора водорослей континентальных водоемов Украины. Прокариотические водоросли. Киев: ин-т ботаники им. Холодного, 1995. Вып. 1. Часть 1. 235 с.

Кондратьева Н.В. Флора водорослей континентальных водоемов Украины. Прокариотические водоросли. Киев, 2001. Вып. 1. Часть 2. 342 с.

Маргелис Л. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.: Изд-во Мир, 1983. 351 с.

Марфенин Н. Н. Феномен колониальности. М.: Изд-во Московского университета. 1993. 237 с.

Определитель бактерий Берджи. М.: Изд-во Мир, 1997. Т. 1. С. 375–409.

Сумин Д.Л., Сумина Е.Л. Вымирание как результат приспособления / XX Люблинские чтения “Современные проблемы эволюции”. Ульяновск, 2006. С. 147–152.

Сумина Е.Л. Методические аспекты интерпретации морфологических структур строматолитов / Материалы конф. памяти В.А. Вахрамеева. М.: Геос, 2002. С. 129–131.

Сумина Е.Л. О формировании уровней организации клеточных организмов (на примере цианобионтов) / Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. С. 95–102.

Сумина Е.Л. Поведение нитчатых цианобактерий в лабораторной культуре // Микробиология. 2006. Т. 75. № 4. С. 532–537.

Dworkin M. Recent Advances in the Social and Developmental Biology of the Mxobacteria // Microbiol. Rev. 1996. V. 60. № 1. P. 70–102.

Petroff A., Sim M., Liang B., Rothman D., Bosak T. Aggregation Phenomena in Cyanobacterial Analogues of Ancient Stromatolites / In: Geobiology of Stromatolites. J. Reitner, N. Quéric, M. Reich (Eds.) International Kalkowsky-Symposium, Universitätsverlag Göttingen. 2008. P. 106–107.

Shimkets J.L. Social and developmental biology of the Mxobacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1990. 54. (4). P. 473.

Spiegel M., Spiegel E. The reaggregation of dissociated embryonic sea urchin cells // Amer. Zool. 1975. V. 15. P. 583–606.

Morphogenesis in a Community of Filamentous Cyanobacteria

E. L. Sumina and D. L. Sumin

^a Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

^b Network of Independent Scientists, Educators, and Experts in Biopolitics (NISEEB),
Bolshaya Nikitskaya 6, Moscow, 103009 Russia

e-mail: stromatolit@list.ru

Abstract—Reversible differentiation was experimentally discovered in a community of modern filamentous cyanobacteria *Oscillatoria terebriformis*. Splitting of the initially uniform community into differentiated parts (strands, multiradiate aggregates, networks, etc.) occurs only for the duration of a function facilitating the activity of this community as an integral unit. The structures are formed as a result of regrouping of the filaments, without their specialization. A morphologically regulatory system (polygonal network) was found to develop under the impact of extreme factors. The levels of structural organization of filamentous cyanobacteria and multicellular eukaryotes were compared (individual cells in a filament—cell organelles; filaments—individual cells; community—organism), and the similarities and differences in morphogenesis of these groups were analyzed using the data on the embryonic regulation in multicellular eukaryotes. Spatial information in morphogenesis was shown to result not from direct realization of an inherited program but is created by the elements of integral organisms (cells and filaments) in the course of development.

Keywords: cyanobacteria, community, prokaryotes, eukaryotes, differentiation, morphogenesis, morphogenetic information.

Сдано в набор @.@.@.2012 г.	Подписано к печати @.@.2012 г.	Дата выхода в свет 23.05.	Формат 60 × 88 ¹ / ₈
Цифровая печать	Усл. печ. л. 10.0	Усл. кр.-отг. 1.2 тыс.	Уч.-изд. л. 10.0
	Тираж 116 экз.	Зак. 237	Цена свободная

Учредитель: Российская академия наук,
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Издатель: Российская академия наук. Издательство “Наука”, 117997 Москва, Профсоюзная ул., 90
Оригинал-макет подготовлен МАИК “Наука/Интерпериодика”
Отпечатано в ППП “Типография “Наука”, 121099 Москва, Шубинский пер., 6