

УДК 57.086.3.581.557.24

А.М. НУРУШЕВА

К ВОПРОСУ О МИКОТРОФНОСТИ ОРХИДЕИ COELOGINA CRISTATA LINDL

(Институт ботаники и фитоинтродукции МОН РК)

С помощью электронной микроскопии исследовалась микотрофность орхидеи *Coelogina cristata* Lindl. Показано, что заражение субстратных корней происходит через корневые волоски, откуда микоризообразующий гриб попадает в веламен. По мере проникновения гиф вглубь корня происходит разрушение клеточных структур гриба и как конечный результат деградации гиф отмечается их полная некротизация.

Несмотря на то, что со дня открытия микориз Ф.И.Каменским прошло более ста лет, проблема микосимбиотрофизма продолжает привлекать внимание исследователей. В литературе имеются довольно многочисленные сведения по экологии, морфологии и анатомии грибов-микоризообразователей [1, 2, 3, 4].

В последнее время все больше появляется работ, выполненных с применением электронно-микроскопических методов исследования. Однако, основное внимание при этом уделялось ультраструктуре поверхностного слоя, сети Гартига, гаусторий, ядер [5,6,7,8,9 и др.].

Целью же настоящей работы было выявление изменений ультраструктуры микоризообразующего гриба в корнях орхидеи *Coelogina cristata* в разные фазы его развития, начиная от внедрения и кончая его перевариванием в клетках корня.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили инфицированные микоризным грибом субстратные корни орхидеи *Coelogina cristata*. Отрезки корней фиксировали 6% глутаровым альдегидом на 0,1 М фосфатном буфере (рН=6,8) с постфиксацией 2% OsO₄ на том же буфере, обезвоживали серией спиртов возрастающей концентрации и заключали в эпоксидную смолу Эпон 812. Ультратонкие срезы получали с помощью ультрамикротомы LKB-880, окрашивали уранилацетатом и лимоннокислым свинцом [10]. Просмотр препаратов осуществляли в электронном микроскопе Филипс EM-301.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании субстратных корней орхидеи *Coelogina cristata* обнаружено, что проникно-

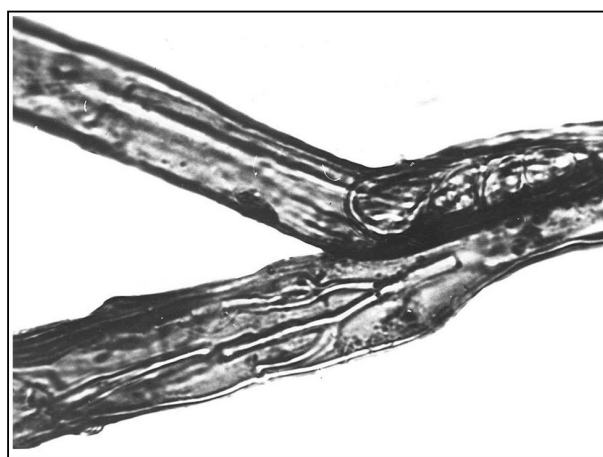


Рис.1. Гифы микоризного гриба в корневых волосках.
СМ x 1000

вание микоризного гриба в ткани корня происходит через корневые волоски (рис.1).

В корневых волосках гифы окружены фибриллярной оболочкой, которая состоит из двух слоев, заполненных цитоплазмой средней электронной плотности и содержат присущие им органеллы.

Плазматическая мембрана в одних гифах гриба прилегает к оболочке и имеет более или менее ровные очертания, тогда как в других приобретает извилистый характер. Ядро располагается по периферии клетки и имеет округлую форму. Большая часть ядра занята диффузным хроматином, который в нуклеоплазме распределен неравномерно. Ядрышко одно и несколько смещено от центра ядра (рис.2).

По электронной плотности ядра не однозначны: отмечаются как очень плотные, так и ядра средней электронной плотности. Митохондрии округлой, либо овальной формы, ограничены двухслойной мембраной, внутренний слой которой образует кристы. Матрикс митохондрий средней электронной плотности, в нем обнаруживаются

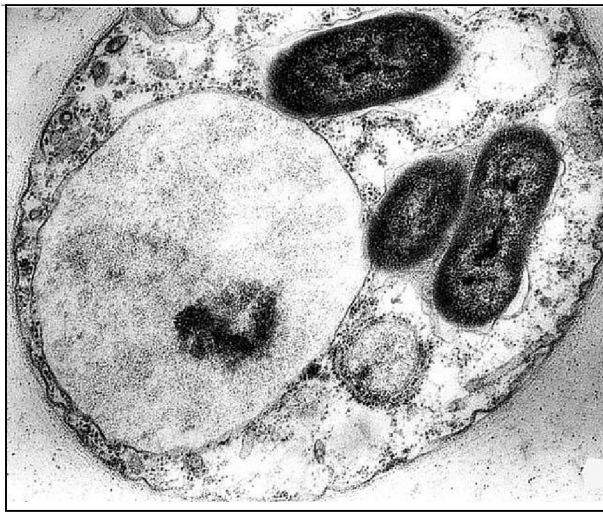


Рис.2. Гифа микоризообразующего гриба. ТЭМ x 12000

темные интрамитохондриальные гранулы и митохондрии. Эндоплазматический ретикулум агранулярного типа. В цитоплазме отмечаются многочисленные рибосомы. Липидные капли единичные, размеры их варьируют. Гранул гликогена, широко распространенного запасного вещества грибов, незначительное количество. Вакуоли с зернисто-фибриллярным содержимым, ограничены элементарной мембраной. На отдельных срезах отмечаются вакуоли довольно крупных размеров, с электронно-плотным включением, расположенным по периферии. Интересно, что сходные структуры были описаны [11] для лишайников и определены как мультивезикулярные тела. При исследовании одноклеточной зеленой водоросли *Coccomyxa* – фикобионта лишайника *Peltigera aphthosa* мы также наблюдали подобные тела, которые, по-нашему мнению, представляют собой вторичные запасные вещества [12]. По структуре электронно-плотное тело напоминает липидное, либо липопротеиновое включение, находящееся в вакуоли.

Мицелий гриба септированный. Клетки гиф отделены друг от друга симметричными перегородками – септами, состоящими из трех слоев: двух широких электронно-плотных и узкого светлого слоя между ними. В центре септы располагается пора, окруженная светлым долипоровым утолщением, в которое входят темные слои септы. Поры в септах, образованные вследствие вставания внутреннего слоя стенок гиф, открытые. Пробки в них отсутствуют.

Темные слои септы в зоне поры, расширяясь за счет светлого центрального слоя, формируют

канал поры. От канала поры по обе ее стороны находятся скопления осmioфильного материала, имеющего зернисто-фибриллярную структуру, который прилегает к краям септ, простираясь в область долипорового утолщения. С наружной стороны от септ пора ограничена колпачком, по своему строению сильно отличающегося от элементов порового аппарата. Он имеет вид очень плотного полумесяца и образован из нескольких, чередующихся по толщине, темных и светлых слоев, причем толщина темных слоев значительно превышает толщину светлых, что на первый взгляд дает ощущение однородности строения колпачка.

Из корневых волосков гриб попадает в веламен. В зоне веламена, наряду с гифами, хорошо сохранившимися внутреннюю структуру, обнаруживаются клетки грибов, находящиеся на разной стадии деградации. Начальная фаза ее характеризуется незначительной дезорганизацией цитоплазмы, появлением многочисленных мелких вакуолей, частичным плазмолизом. По мере проникновения гиф вглубь тканей корня признаки разрушения клеточных структур гриба усиливаются и как конечный результат деградации гиф можно отметить их полную некротизацию: содержимое гиф становится бесструктурным и электронно-плотным. Впоследствии происходит облитерация гиф (рис.3).

В цитоплазме отдельных гиф, находящихся в тесном контакте с клеточной стенкой веламена, обращают на себя внимание мембранные комплексы, состоящие из двойных, параллельных друг

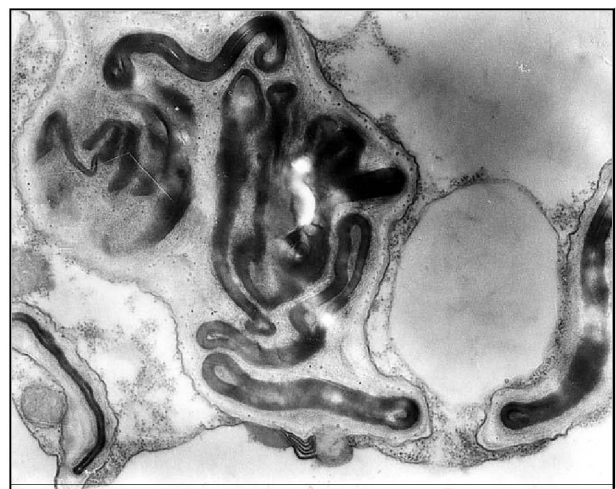


Рис. 3. Облитерация гиф микорризного гриба. ТЭМ x 45000

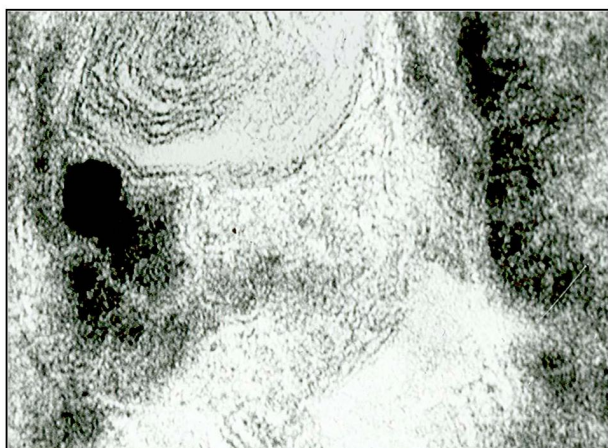


Рис.4. Часть гифы с мембранными комплексами.
ТЭМ x 75000

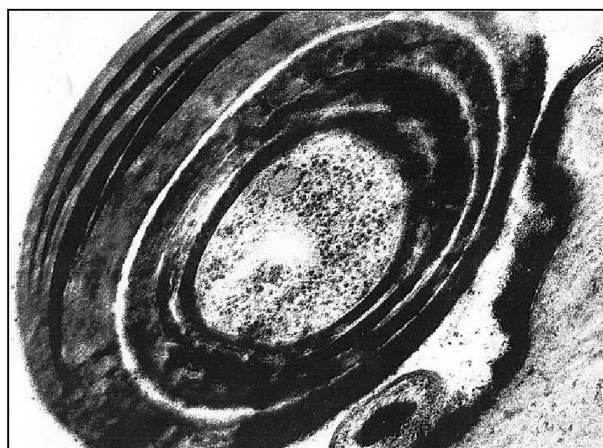


Рис.5. Гифа гриба с многослойной оболочкой.
ТЭМ x 75000

другу извитых мембран, расположенных concentрически. Обычно они обнаруживаются в периферических участках клеток (рис.4).

Аналогичные структуры были описаны для некоторых видов *Actinomyces* [13] и в животных тканях [14] как извилины эндоплазматического ретикулума и место формирования элементов мембран. По мнению Ю.Плотниковой [15] мембранные агрегаты в гаусториях ржавчинных грибов являются продолжением плазмолеммы, о чем свидетельствуют, во-первых, - сходство мембран по толщине с плазмолеммой и, во-вторых, - окрашивание плазмалеммы и мембранных агрегатов при обработке срезов фосфорно-вольфрамовой кислотой, тогда как мембраны митохондрий, хлоропластов и эндоплазматического ретикулума не окрашивались. Автор полагает, что в гаусториях особенно интенсивно происходит синтез плазмалеммы за счет веществ, поглощаемых гаусторией из цитоплазмы растения-хозяина.

В зоне выростов сложной конфигурации на наружной поверхности стенки клеток экзодермы, направленных в сторону веламена гифы находятся в тесном контакте с выростами клеточной стенки, образующих лабиринтоподобные структуры. В местах контакта гриба с клетками растения отмечается отложение аморфного электронно-плотного вещества. Довольно часто встречаются гифы с многослойной оболочкой, импрегнированной электронно-плотным веществом (рис.5).

Образование новых слоев оболочки и их утолщение происходит на поверхности плазмолизированной цитоплазмы. Цитоплазма отдельных гиф содержит многочисленные вакуоли. Часть ваку-

олей с электронно-прозрачным содержимым, в некоторых вакуолях содержится невысокой электронной плотности. Наблюдаемые многочисленные мелкие пузырьки, по-видимому, представляют собой остатки вакуолизированных митохондрий с разрушенными кристами, трансформированные в отдельные пузырьки. В достаточном количестве выявляются осmioфильные глобулы различных размеров. Особенности строения гиф и инфицированных клеток корня обусловлены, по всей вероятности, взаимным влиянием гриба на растение-хозяина и растения на гриб и являются следствием защитной реакции обоих партнеров.

Экзодерму гриб преодолевает через живые тонкостенные пропускные клетки. Конгломераты облитерированных гиф гриба с полностью деградированной цитоплазмой обнаружены в гипертрофированных клетках коровой паренхимы (рис.6).

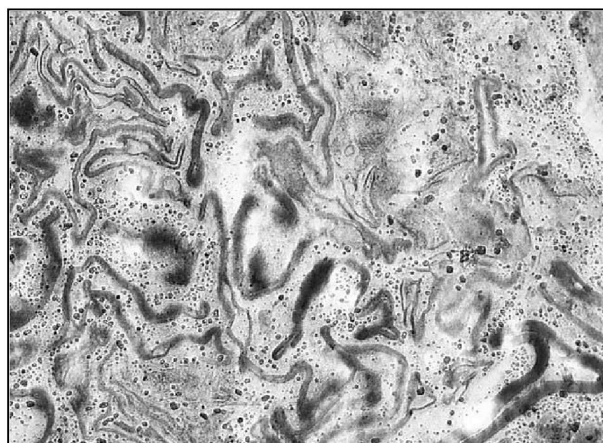


Рис.6. Облитерация гиф микоризного гриба.
ТЭМ x 20 000

В центральном цилиндре гифы гриба не обнаружены.

Таким образом, согласно нашим данным процесс переваривания гриба не осуществляется, а заканчивается в клетках коровой паренхимы. Процесс переваривания начинается при преодолении грибом сложного лабиринта выростов оболочки клеток экзодермы, где, по-видимому, гифы испытывают наибольшее воздействие ферментативной системы растения-хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Agerer R.* Studies on Ectomycorrhizae. II. Introducing remarks on characterization and identification. // "Mycotaxon". 1986. V.26. P. 473-492.
2. *Schonbek F.* Symbiosen: Mycorrhiza. Endomycorrhizae. / "Progr. Bot.: Struct. Bot. Physiol. Genet. Taxonomy. Ecobot. Vol.48". Derlin e.a., 1986. P. 415-424.
3. *Massicotte H.B., Peterson R.Z., Ackerly C.A., Piche Y.* Structure and ontogeny of *Alnus crispa* – *Alvea diplophloeus* ectomycorrhizae. // Can.J.Bot. 1986. V. 64, N 1. P.177-192.
4. *Munzenberger B., Metzler B., Kottke I., Oberwinkler F.* Morphologische und anatomische Charakterisierung der Mykorrhiza *Lactarius deterrimus* – *Picea abies* in vitro. // "Z.Mykol.", 1986. V. 52. N. 2. P. 407-422.
5. *Agerer R.* Studies on Ectomycorrhizae. III. Mycorrhizae formed by four fungi in the genera *Lactarius* and *Russula* on spruce. // "mycotaxon", 1986. V. 27. P. 1-59.
6. *Agerer R.* Mycorrhizae formed by *Tricholoma sulphureum* and *T.vaccinum* on spruce. // "Mycotaxon", 1987. V. 28. N. 2. P.327-360.
7. *Agerer R.* Studies on ectomycorrhizae. XVII. The ontogeny of the ectomycorrhizal rhizomorphs of *Paxillus involutus* and *Thelephora terrestris* (Basidiomycetes). // Nova Hedvigia. 1988. V.47. N3-4. P.311-334/
8. *Brand F., Agerer R.* Stadien an Ektomycorrhizen. VIII. Die Mykorrhizen von *Lactarius subdulcis*, *Lactarius vellereus* und *Lassaris amethystine* an Buche. // "Z.Mykol.", 1986. V.52. N. 2. P. 287-320.
9. *Uhl M., Agerer R.* Studies on Ectomycorrhizae XI. Mycorrhizae formed by *Dermocybe crocae* on *Pinus silvestris* and *Dermocybe palustris* on *Pinus mugo*. // "Nova Hedvigia", 1987. V.45. N 3-4. P.509-527.
10. *Reynolds E.* The Use Lead Citrate at high pH as an electron stain in electron microscopy. // J. Cell Biol., 1963. V. 17. N.1. P. 208-213.
11. *Peveling E., Galun M.* Electron-microscopical studies on the phycobiont *Coccomyxa Schmidle*. // New Phytol., 1976. V.77.N3. P.713-718.
12. *Нурушева А.М., Машанский В.Ф.* Ультраструктура *Coccomyxa peltigera* – фикобионта *Peltigera arphthosa* (Peltigeraceae) воздушно-сухом и увлажненном состояниях // Бот. журнал. 1985. Т.70. № 9. С.1196-1199.
13. Overman, Pine. 1963. Цитируется по Плотниковой Ю.М.
14. Robertson 1961. Цитируется по Плотниковой Ю.М.
15. *Плотникова Ю.М.* Структурные основы взаимоотношения растения-хозяина и патогенна при ржавчинных болезнях пшеницы (на примере стеблевой и желтой ржавчины) Докт. диссертация. М.1984.

Резюме

Электрондық микроскопия көмегімен *Coelogina cristata* Lindl орхидеясының микротрофтығы зерттелді. Субстратты тамырлардың зақымдануы тамырлы түкшелер арқылы өтіп микоризотудырушы саңырауқұлақ веламенге тиеді. Гифтік тамырда терең бойлауы нәтижесінде саңырауқұлақ құрылымының клеткаларында бұзылу пайда болады, бұл гифтің құлдырауы мен толықтай некратазацияға ұшырауының соңғы нәтижесі.

Summary

With the help of electronic microscopy it was investigated mycotrophic orchids *Coelogina cristata* Lindl. It is shown, that infection substrate roots occurs through root fuzz, whence mycorrhiza formative the mushroom gets in velen. In process of penetration the gif deep into a root occurs destruction of cellular structures of a mushroom and as an end result of degradation the gif is marked their full necrosis.