

УДК 576.3.582.29

A. M. НУРУШЕВА

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ГРИБАМИ И ВОДОРОСЛЯМИ В ЛИШАЙНИКЕ *HYPOGYMNIA PHYSODES* (L.) Nyl.

(РГП «Институт ботаники и фитоинтродукции» МОН РК г. Алматы)

В сообщении приводятся результаты электронно-микроскопического исследования лишайника *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Дано описание ультраструктуры симбионтов лишайника *Hypogymnia physodes*, а также рассмотрен характер взаимоотношений между компонентами в талломе.

Данным сообщением мы завершаем серию исследований по изучению субмикроскопической организации лишайников. Предметом настоящего исследования явился лишайник *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.

С помощью электронной микроскопии исследовали тонкую организацию водорослевого компонента листоватого лишайника *Hypogymnia physodes*. С этой целью материал фиксировали 2 % глутаровым альдегидом на 0.5 М какоди-латном буфере (рН 7.4) с последующей фиксацией в тетраксиде осмия по общепринятой методике, обезвоживали серией спиртов возрастающей концентрации и абсолютным ацетоном и заключали в эпоксидную смолу «Аралдит».

Ультратонкие срезы приготавливали с помощью ультрамикротома LKB-III, окрашивали уранил-acetатом и цитратом свинца [1]. Просмотр ультратонких срезов осуществляли в электронном микроскопе GEM-7.

Результаты исследования и их обсуждение

Лишайник *Hypogymnia physodes* относится к классу сумчатых лишайников *Ascolichenes*, подклассу гимнокарповые лишайники *Gymnocalpeae*, порядку круглоплодные *Cyclocarpales*, семейству *Parmeliaceae* и роду – *Hypogymnia*.

Лишайник *H. physodes* имеет листоватый, разнообразный по форме (розетковидный, полу-розетковидный или неопределенной формы) таллом, с тесно сближенными или налегающими друг на друга лопастями 1-5 мм длиной и 1-6 мм шириной. Имеет также как и вышеописанные ранее виды гетеромерное строение. Состоит из 4-х слоев: верхний коровой слой, слой водорослей, сердцевина и нижний коровой слой. Верхний

коровой слой хорошо развит, серовато-зеленоватый, серовато-желтовато-зеленоватый или голубовато-зеленовато-серый, гладкий или морщинистый 28-38 мкм толщиной, плотного строения, крупноклеточный.

Непосредственно под коровым слоем располагается слой водорослей 30-60 мкм толщиной. Под слоем водорослей расположен сердцевинный слой, значительно превышающий по толщине остальные слои.

Сердцевинный слой белый, внутри с полостью, что является одним из основных признаков, отличающих род *Hypogymnia* от рода *Parmelia*, образован рыхло расположенным гифами гриба, отличается от предыдущих слоев более темной окраской.

Фикобионтом листоватого лишайника *Hypogymnia physodes*, также как и у *Parmelia vagans*, является одноклеточная зеленая водоросль *Trebouxia*. Специфической структурой зеленой водоросли *Trebouxia*, встречающейся лишь в симбиотическом состоянии, является пиреноид (рис. 1, 2).

Он занимает центральную часть клетки водоросли, внутри него округлые электроннопрозрачные зоны, придают ему «альвеолированный» вид. Электронно-прозрачные зоны являются везикулированными мембранами тилакоидов. Везикулы имеют округлые профили, либо могут быть слегка сплющенными и вытянутыми.

В центральной части пиреноида располагаются многочисленные осмиофильные глобулы – пиреноглобулы, определяемые некоторыми авторами как пиреноглобулы [2, 3], другими – осмиофильными пластошариками [4]. В своих описаниях мы будем придерживаться более часто встречающегося термина – пиреноглобулы.

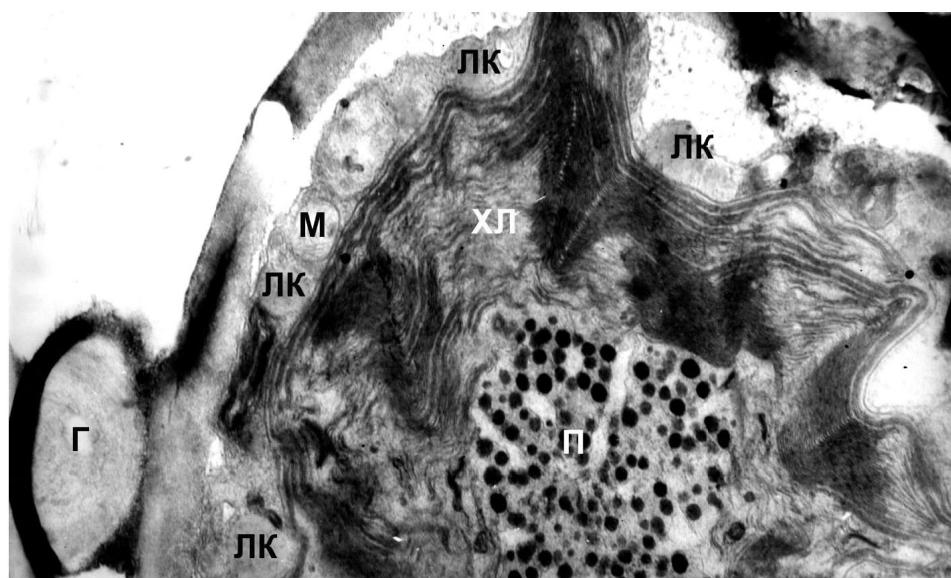


Рис. 1. Клетка фикобионата лишайника *H. physodes*,
П – пиреноглобулы, Пл – пластоглобулы, М – митохондрии, ЛК – липидные капли, Г – гриб. Ув. х 20 000

Пиреноглобулы 20-30 нм диаметром и на первый взгляд кажутся хаотично разбросанными в пиреноидном матриксе, однако при более внимательном прочтении электронномикрофотографий видно, что пиреноглобулы часто ассоциированы с мембранами тилакоидов пиреноида.

Многие авторы выявили связь между пиреноглобулами и мембранными тилакоидами [3, 5, 6]. По их мнению, там, где появляются пиреноглобулы, тилакоидные мембранны обнаруживаются внутри матрикса пиреноида. Роль глобул – формируются они только в условиях симбиоза или являются естественной частью симбиотических клеток – является основой обсуждения многих лет.

J. Jacobs и V. Ahmadjian [7], исследуя лишайник *Cladonia cristatella* и его изолированные симбионты, пришли к выводу, что выработка пиреноглобул не зависит от симбиотического состояния, а зависит от физиологического и трофического состояния фикобионата. По данным ряда исследований [7-9] пиреноглобулы содержат липиды и, вероятно, функционируют как вторичные запасные продукты. В течение «сухих» периодов глобулы могут использоваться для снабжения лишайников углеродом и водой.

Пиреноидный матрикс, также как и строма хлоропласта, содержит гранулы, сходные с рибосомами. Кроме того, в цитоплазме часто встречаются крупные липидные капли.

Фотосинтетические мембранны хлоропласта располагаются по периферии хлоропласта, образуя пакеты из 10-15 до 50 и более тилакоида. Фотосинтетические мембранны лежат параллельными рядами в пределах одного пакета, тогда как соседние пакеты могут занимать не сходные направления.

Такое упорядоченное расположение фотосинтетических мембранных, характерное для большинства хлоропластов водорослей, в других клетках может нарушаться за счет того, что отдельные мембранны или часть мембранны выглядят набухшими и извитыми, хотя в том же хлоропласте могут встречаться пакеты с плотно упакованными мембранными.

Рибосомный материал в хлоропластиах располагается узкими зонами между отдельными пакетами. Полисомы, характерные для цитоплазмы, практически отсутствуют в хлоропластиах.

Ультраструктура микробионтов изученного лишайника не отличается от ранее описанных нами микробионтов других лишайников. Приведем лишь краткую характеристику.

Клетки микробионта имеют обычный комплекс органелл: ядро, митохондрии, рибосомы, полисомы, эндоплазматический ретикулум, вакуоли. Среди включений наиболее часто встречающиеся структуры – липидные капли, концентрические тельца, миелиновые фигуры, запасные питательные тела.



Рис. 2 Концентрическая фигура в микробионте. Ув x 20 000

Клеточная оболочка имеет зернисто-фибрillлярное строение, неравномерно электронно-плотная, уплотняясь в отдельных участках к периферии и становясь более электронно-светлой на границе с цитоплазмой.

Цитоплазма клеток микробионта характеризуется высокой электронной плотностью, наличием в ней скоплением рибосом и полисом. Вакуоли по своему содержимому различны: в одном и том же сегменте клетки микробионта встречаются вакуоли с рыхло-фибрillлярным содержимым, в некоторых вакуолях содержимое гранулярное и в них наблюдаются липидные капли и миелиноподобные концентрические фигуры, имеющие комплексное строение. От содержимого вакуоли они ограничены одной или несколькими агранулярными мембранами, внутри которых, в свою очередь, располагаются одно или несколько закрученных фигур. Наряду с таким типом строения, можно видеть фигуры лишь с рыхло-фибрillлярным содержимым.

Кроме того, в микробионтах лишайника *H. physodes* нами обнаружены мембранные агрегаты, состоящие из параллельных извитых, концентрически расположенных, мембран (рис. 2).

Мицелий гриба септированный. Клетки гиф отделены друг от друга симметричной перегородкой – септой. Встречающиеся тельца Воронина имеют вид плотных осмиофильных глобул

с темным гомогенным матриксом, различного диаметра, однако в среднем он достигает 0,2–0,25 мкм.

Тельца Воронина ограничены одинарной элементарной мембраной, приурочены к септам и располагаются симметрично по обе стороны септы.

Концентрические тельца, повсеместно встречающиеся в микробионтах ранее изученных лишайников, также характерны и для микробионтов *H. physodes*

При электронно-микроскопическом исследовании обнаружено, что контакты водорослей с гифами микробионта осуществляются далеко не у всех водорослей. Формы контакта, как показал анализ литературы, могут быть различными.

Так, M.Galun, N.Paran и Ben-Shaul [8], изучая ассоциацию гриб-водоросль у *Lecanoraceae* отметили, что у *Lecanora olea* наблюдалось глубокое вторжение гриба внутрь клетки водоросли, причем гаусторий прорастал через стенку клетки водоросли и окружался цитолеммой отступающего протопласта водоросли, у *L.subplana* происходит выпячивание гриба в стенку клетки водоросли, но гифа не проникает внутрь, а часть стенки, ограничивающая проникновение гаустория, намного тоньше оболочки водоросли, у *Squamaria crassa* контакт между грибом и водорослью существует в виде близости стенки гриба к стенке водоросли и лишь около 0.5%

стареющих клеток водоросли и 40% разрушающихся клеток заражены гаусториями гриба.

J. Jacobs и V. Ahmadjan [7] обнаружили, что в местах контакта клеток микобиона и фотобиона лишайника *Cladonia cristatella* происходит нарушение целостности плазмалеммы и гаустории внедряются в водоросль путем энзиматического переваривания стенки водоросли в большей степени, чем путем механического проникновения.

A. Walken [9] показал, что в лишайнике *Cornicularia normoerica* симбионты сообщаются между собой с помощью трубчатых канальцев, берущих начало в хлоропласте, проходящих через стенку клетки водоросли и соединяющих ее с клеткой гриба или с другой клеткой водоросли. Никакого проникновения гаусторий гриба в водоросль и зон эрозии между симбионтами автором не наблюдалось.

На наших препаратах гифы микобиона пронизывают слой водорослей и соприкасаются лишь с прилежащими к ним клетками водорослей. В этом случае наблюдается тесное соприкосновение гиф гриба и клеток водорослей, однако при этом какого-либо нарушения оболочек и структур обоих компонентов в лишайнике, а тем более глубокого вторжения гриба внутрь водоросли нам обнаружить не удалось.

Исходя из этого, можно предположить, что в изучаемых лишайниках контакт между микобионтом и фикобионтом осуществляется посредством аппрессорий. Наши наблюдения вполне подтверждаются данными E. Peveling [10] и E. Peveling и M. Galun [11] для других видов ас-комицетных лишайников, при исследовании которых также отмечалось, что физический контакт между симбионтами состоял большей частью в тесной близости их клеточных стенок без проникновения гриба в клетку водоросли.

Морфологический контакт между микобионтом и фикобионтом обнаруживался регулярно. В зоне контакта клеточных оболочек можно видеть неширокую полосу фибрillлярного и зернистого материала, «склеивающего» соседние клетки. Цитоплазма клеток микобиона характеризуется высокой электронной плотностью, наличием в ней скоплений рибосом и полисом, концентрических телец. Цитоплазматическая мембрана имеет фестончатое строение.

Клеточная оболочка водорослей, прилегающих к грибу, в зоне контакта бесструктурна. Между ней и цитоплазматической мембраной обнаруживается светлый промежуток, а цитоплазма приобретает повышенную, либо чрезвычайно высокую электронную плотность.

Митохондрии, хлоропласти, прилегающие к зоне контакта, выглядят на фоне электронно-плотной цитоплазмы более светлыми. Их внутренние мембранные структуры теряют четкость и фрагментируются.

На отдельных электронномикрофотографиях можно видеть, что в зоне контакта гифы гриба и двух соседних водорослей происходит разрушение не только оболочки водорослей, но и оболочки гриба.

Однако в большинстве случаев при проникновении грибных гиф между клетками водорослей не наблюдается повреждения оболочек и структур обоих компонентов: гифы гриба плотно прилегают к клеткам водорослей.

Это позволяет предполагать, что контакт между водорослью и грибом чаще всего происходит посредством физического прикосновения клеточных стенок обоих компонентов, без какого-либо повреждения последних.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.
2. Jacobs J.B., Ahmadjan V. The ultrastructure of lichens. V. *Hydrophyria venosa*, a freshwater lichen // New Phytol. 1973. V. 72, N 1. P. 155-160.
3. Lichtenhaller H. Plastoglobuli and the fine structure of plastids // Endeavour. 1968. N 27. P. 144-149.
4. Peveling E. Die Feinstruktur vegetativer Flechtenthaler nach Untersuchungen mit dem Durchstrahlungs- und Oberflächen-RasterElektronenmikroskop. Habilitationsschrift der Math. // Nat. Fak. Univ. Munster. 1968. V. 9. P. 451-461.
5. Peveling E., Galun M. Electron-microscopical studies on the phycobiont *Coccomyxa Schmidle* // New Phytol. 1976. V. 77, N 3. P. 713-718.
6. Jacobs J., Ahmadjan V. The ultrastructure of lichens. II. *Cladonia cristatella*: the lichens and its isolated symbionts // J. Phycol. 1971. V. 7, N 1. P. 71-82.
7. Jacobs J., Ahmadjan V. The ultrastructure of lichens. I. A general survey // J. Phycol. 1969. V. 5. P. 227-240.
8. Galun M., Paran N., Ben-Shaul J. Thr fungus-alga association in the *Leconoraceae*: An ultrstructural study // New Phytol. 1970. V. 69, N 3. P. 599-603.
9. Walken A.T. Fungus-alga ultrastructure in the lichen *Cornicularia normoerica* // Amer. J. Bot. 1968. V. 55, N 6. P. 641-648.

10. *Peveling E.* Fine structure. In: Ahmadjian V., Hale M.E. (eds) // The licens . Academic Press, London New York. 1973. P. 147-182.

11. *Peveling E., Galun M.* Electron-microscopical studies on the phycobiont *Coccomyxa Schmidle* // New Phytol. 1976. V. 77, N 3. P. 713-718.

Резюме

Hypogymnia physodes қынаның ультракұрылымдық құрылышы зерртелініп, қынаның балдырған және сандырау құлак компоненттерінің осы құрылыштарына сипаттама берілген. Қыналану нәтижесі фико- және мицобионттың ультракұрылымдық құрылышына көрнекті

әсерін тигізбейтіндігі көрсетілген. Балдырған мен сандырауқұлақ компоненттерінің қарым қатынастары тек физикалық түйісу арқылы ғана жүреді, олар бір біріне ешқандай енбейді.

Sammury

There was studied the ultrstructure of the lichens *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. and given description of it. And there was showed that lichenization has not essential influence on the thin structure of the cells of phyto- and mycobionts. Interaction between fungi and alga carry in out physical contact. But symbionts don't penetration each other.