

УДК 582.26

**О.Н. БОЛДИНА**

Учреждение РАН Ботанический ин-т им. В.Л. Комарова РАН,  
ул. Проф. Попова, 2, 197376 Санкт-Петербург, Россия  
e-mail: olgab1999@mail.ru

**УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК ПОЧВЕННОЙ ВОДОРΟΣЛИ АСКУ 61-02  
ИЗ КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО  
УНИВЕРСИТЕТА ИМ. ТАРАСА ШЕВЧЕНКО**

Приведено описание тонкой структуры клеток почвенной водоросли АСКУ 61-02. Обнаружено сходство ультраструктуры клеток этого штамма и зеленых монадных водорослей *Chlamydomonas moewusii* и *Ch. pitschmannii*, но еще в большей степени – с таксонами коккоидных, представленных в кладе *Moewusinia*.

Ключевые слова: АСКУ 61-02, *Chlorophyta*, *Moewusinia*, ТЭМ, клеточная оболочка, пиреноид, стигма, ядро.

**Введение**

Коллекция АСКУ (Костиков и др., 2009) содержит значительное количество интересных «свежих» изолятов одноклеточных зеленых водорослей. Многие из них необходимо детально изучить с применением всех современных методов. Значимость комплексных исследований хламидомонад была показана даже для штаммов, поддерживаемых в коллекциях длительное время, видовая принадлежность которых считалась очевидной (Yumoto et al., 2013). В данной работе исследована тонкая структура клеток одного из изолятов коллекции АСКУ, вызывавшего у нас сомнения в принадлежности его к хламидомонадам.

**Материалы и методы**

Штамм АСКУ 61-02 был получен в 2010 г. из коллекции Киевского нац. ун-та как штамм вида "*Chlamydomonas* cf. *culleus*". Позднее выяснилось (Костиков, устное сообщ.), что видовое его название – аканим, а сам штамм, по результатам секвенирования, отнесен к отдельной секции клады *Moewusinia* (Nakada, 2008). Этот штамм под рабочим названием В-15 в 1996 г. был выделен И.Ю. Костиковым из почвы дубового леса в Высоких Арденнах (Бельгия).

Для наблюдения и фиксации культуру выращивали на минеральной агаровой среде № 12 «Kuhl» (Schlösser, 1994) на комнатной осветительной установке. Дополнительно штамм АСКУ 61-02 поддерживали на безагаровой среде в холодильной установке POLAIR ШХ-0,5 при температуре 12–14 °С и умеренном освещении. Для ТЭМ исследования использовали 7-дневную культуру. Все подготовительные процедуры осуществляли по ранее описанной стандартной методике (Болдина, 2012). В работе применяли трансмиссионный электронный

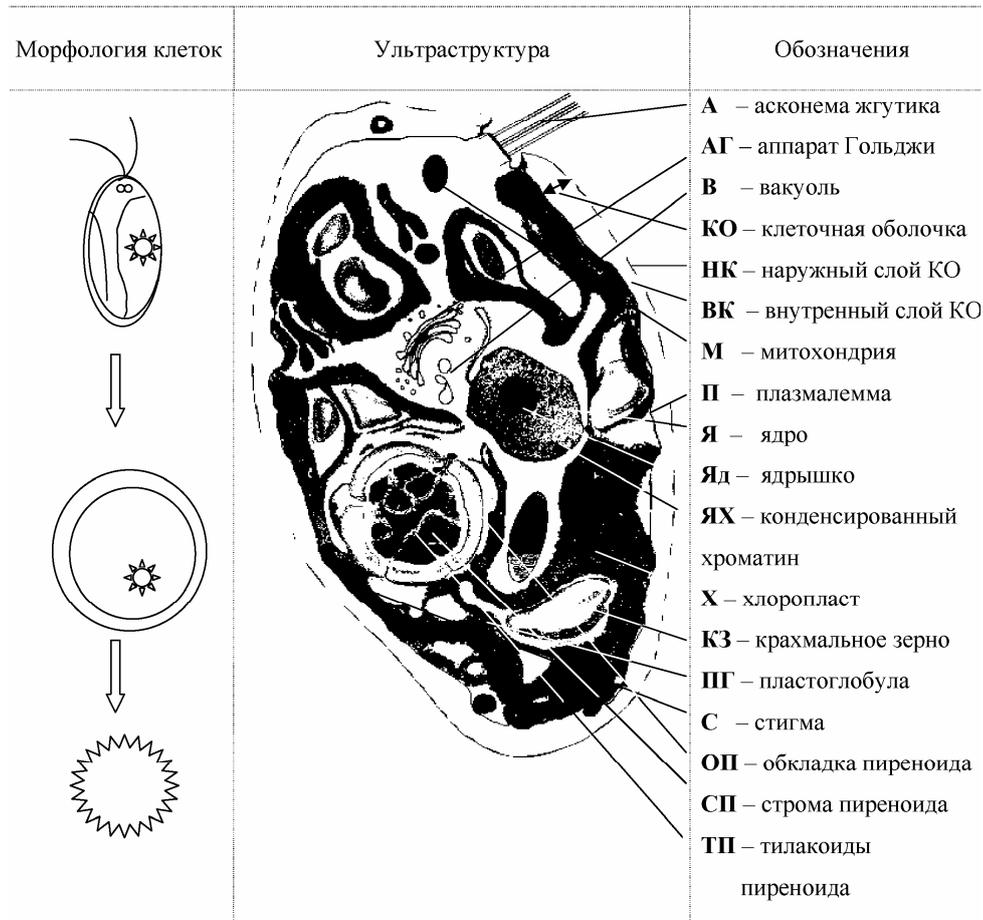
© О.Н. Болдина, 2014

микроскоп TESLA BS 500, а также светооптические микроскопы Carl Zeiss AxioImager.A1 и Amplival.

### ***Морфология клеток***

В световом микроскопе вегетативные клетки крупные, широкоэллипсоидные, сферические, 16–32 мкм в диам., спорангии 33–100 мкм в диам. Клетки в спорангиях 16–19×12–16 мкм. Их обычно 4, реже – больше. Оболочка толстая, отчетливо выраженная, со слизью, в зрелых клетках часто имеется одностороннее утолщение. В некоторых клетках к ней прикреплены желтовато-оранжевые частицы диаметром около 0,3 мкм. В зрелых клетках ядро идентифицировать трудно. Хлоропласт пристенный, зернистый, с лопастями, занимает почти весь объем клетки. Пиреноид один, сферический, иногда немного сплюснутый (3–5 мкм диам.), располагается в центральном утолщении хлоропласта и слегка смещен от центра клетки к периферии, а у эллипсоидных клеток – в сторону длинной оси клетки. Стигма незаметна. Зооспоры узкоэллипсоидные, эллипсоидные (5–7 × 11–13 мкм), подвижные; обнаруживаются только в молодых культурах. Они имеют пару жгутиков и более тонкие пристенные хлоропласты с латеральным утолщением на уровне центра клетки. В этом утолщении расположен пиреноид. С возрастом клетки округляются, а жгутики исчезают. Сократительные вакуоли хорошо видны только в подвижных или только что остановившихся клетках. В некоторых вегетативных клетках заметны очень мелкие вакуоли. Стареющие жидкие культуры сохраняют ярко-зеленую окраску. В них присутствуют многочисленные покоящиеся клетки (около 20 мкм диам.) со скульптурированной оболочкой (см. рисунок).

В электронном микроскопе оболочка вегетативных клеток имеет толщину 0,1–0,5 мкм и состоит из двух слоев. Снаружи располагается характерный для хламидомонад триламеллярный слой (около 0,02 мкм толщ.), имеющий хорошо различимые повторяющиеся субъединицы. На ряде срезов субъединичная структура этого слоя в виде специфической параллельной исчерченности. Внутренний слой образован очень плотно упакованными фибриллами. Вблизи плазмалеммы фибриллы располагаются более рыхло, а между ними встречаются ограниченные мембраной пузырьки разного вида. Плотнупакованная часть внутреннего слоя увеличивается по мере формирования вегетативных клеток из зооспор. Плазмалемма имеет слабоволнистые очертания. Хлоропласт содержит либо прямые тилакоиды, повторяющие наружные контуры клетки, либо плавно изогнутые в соответствии с линиями лопастей. Тилакоиды собраны в пачки по 2 или 3, значительно реже образуя более крупные комплексы. В строме помимо многочисленных рибосом обнаруживаются крахмальные зерна (около 10 на срез у зооспор и до 50 на срез у зрелых клеток) веретеновидной и овальной формы; пластоглобулы (единичные – у зооспор, многочисленные – у зрелых клеток). Стигма выявляется на периферии хлоропласта, в районе пиреноида, чуть ближе к заднему концу клетки. Она образована одним слоем довольно мелких (около 0,05 мкм в диам.) осмиофильных глобул. Пиреноид состоит из плотной гомогенной стромы, окружающей ее крахмальной обкладки, и уплощенных парных тилакоидов, проникающих в строму между пластинами обкладки. Последняя – слабофрагментированная, из 4–8 крахмальных пластин.



Ультраструктура клеток почвенной водоросли АСКУ 61-02

Тилакоиды в пиреноиде расположены хаотично, их контуры сильно изогнуты, образуя на срезах многочисленные зигзаги и петли. Общая контактирующая мембрана двух внутрипиреноидных тилакоидов плотная, неровная, волнистая. Ядро сферическое, в зрелых клетках лопастное, окружено двухмембранной оболочкой и относится к простому хромоцентрическому типу. Диспергированный хроматин располагается глыбками по всему ядру и не образует более или менее различимого ободка. Поры в ядерной оболочке многочисленные. Ядрышко центральное, иногда слегка смещено к периферии ядра; расположение его фибриллярного и гранулярного компонентов чаще всего неупорядоченное. Митохондрии обнаруживаются как в центре, так и на периферии клетки. Форма сечения митохондрий – округлая, удлинненно-овальная, реже овальная, изогнутая или слегка разветвленная. В редких случаях они контактируют с оболочкой хлоропласта. Аппарат Гольджи (АГ) выявляется обычно вблизи ядра в виде 2–3 диктиосом и немногочисленных пузырьков. Диктиосомы образованы 5–8 цистернами. Местами АГ тесно контактирует с

наружной мембраной ядерной оболочки, оболочкой хлоропласта и ЭПР. Помимо сократительных в цитоплазме наблюдаются светлые вакуоли и светлые вакуоли с мелким гранулярным содержимым. У зрелых клеток они дополнены вакуолями с плотным содержимым.

### Обсуждение

Согласно классическим воззрениям (Ettl, Gärtner, 1995), рассматриваемая водоросль должна быть отнесена к хлорококковым водорослям. В культуре клетки представлены преимущественно неподвижными стадиями. Подвижные клетки присутствуют только в очень молодых культурах, они немногочисленны, а жгутиковая фаза кратковременна. У большинства клеток невозможно определить какую-либо полярность, присущую клеткам вольвоксовых, сократительные вакуоли и другие черты зеленых монад.

Проведенное ТЭМ-исследование позволило выявить в клетках АСКУ 61-02 признаки, обнаруженные у других представителей из клады *Moewusinia*. Это, прежде всего, однослойная стигма и характерный тип строения пиреноида, который повторяет все особенности, описанные ранее для хламидомонад *Chlamydomonas moewusii* и *Ch. pitschmannii* (Gibbs, 1962; Болдина, 2010). Эти особенности имеются только у двух видов *Chlorococcum* – *Ch. eschinozygotum* и *Ch. hypnosporum* (Константинова, 1988; Константинова, Болдина, 2000) и у *Tetracystis aerea* (Brown, Bold, 1964). При этом строение оболочки и тип ядра, наблюдаемые у АСКУ 61-02, демонстрируют большее сходство с этими же структурами у видов *Chlorococcum* и *Tetracystis*. По-видимому, АСКУ 61-02 образует с ними отдельную "коккоидную" ветвь клады *Moewusinia*.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Болдина О.Н. Ультраструктура клеток *Chlamydomonas pitschmannii* // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Мат. междунар. конф. – Киров, 2010. – С. 68–71.
- Болдина О.Н. Ультраструктура клеток *Lobochlamys culleus* (*Chlamydomonadaceae*, *Chlorophyta*) // Ботан. журн. – 2012. – 97(9). – С. 1175–1183.
- Константинова И.А. Ультраструктура водорослей рода *Chlorococcum* в культуре: Дис. канд. биол. наук. – Ленинград, 1988. – 161 с.
- Константинова И.А., Болдина О.Н. Сравнительный анализ ультраструктуры пиреноидов зеленых монадных и коккоидных водорослей // Физиол. раст. – 2000. – 47(5). – С. 655–659.
- Костиков И.Ю., Демченко Э.Н., Новохацкая М.А. Коллекция культур водорослей Киевского национального университета им. Тараса Шевченко. Каталог штаммов (2008 г.) // Черномор. ботан. журн. – 2009. – 5(1). – С. 37–79.
- Brown R.M.Jr., Bold H.C. Phycological Studies. V. Comparative studies of the algal genera *Tetracystis* and *Chlorococcum*. – Austin: Univ. Texas Publ., 1964. – 213 p.
- Ettl H., Gärtner G. Syllabus der Boden- Luft- und Flechtenalgen. – Stuttgart, 1995. – 350 p.
- Gibbs S.P. The Ultrastructure of the Pyrenoids of Green Algae // J. Ultrastr. Res. – 1962. – 7(3/4). – P. 262–272.
- Nakada N., Misawa K., Nozaki H. Molecular systematics of *Volvocales* (*Chlorophyceae*,

*Chlorophyta*) based on exhaustive 18S rRNA phylogenetic analyses // Mol. Phylogenet. Evol. – 2008. – **48**(1). – P. 281–291.

*Schlösser U.G.* SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen. Catalogue of strains 1994 // Bot. Acta. – 1994. – **107**(1/2). – S. 113–186.

*Yumoto K., Kasai F., Kawachi M.* Taxonomic re-examination of *Chlamydomonas* strains maintained in the NIES-Collection // Microbiol. Cult. Coll. – 2013. – **29**(1). – P. 1–12.

Подписал в печать П.М. Царенко

*O.N. Boldina*

V.L. Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences,  
2, Prof. Popova St., 197376 Saint-Peterburg, Россия  
e-mail: olgab1999@mail.ru

CELL ULTRASTRUCTURE OF SOIL ALGA ACKU 61-02 FROM THE CULTURE  
COLLECTION OF TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY

The fine structure of ACKU 61-02 cells is described. It was shown that its cellular ultrastructure has many similarities to that of green monad algae *Chlamydomonas moewusii* and *Ch. pitschmannii*, and it is even more closer to that of coccoid algae representing *Moewusinia*-clade.

**Key words:** ACKU 61-02, *Chlorophyta*, *Moewusinia*, TEM, cell wall, pyrenoid, stigma, nucleus.