



УДК 582.251.62

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНІЗАЦІЇ КЛІТИНИ ТА ПІРЕНОЇДІВ У *STICHOCOCCUS*-ПОДІБНИХ ВОДОРОСТЕЙ

ВІКТОРІЯ М. КАРБОВСЬКА<sup>1</sup> ТА ІГОР Ю. КОСТИКОВ<sup>2</sup>

**Анотація.** Проведено електронно-мікроскопічне дослідження клітинної організації деяких аутентичних штамів роду *Stichococcus* Nägeli. В першу чергу, піреноїду, як специфічної структури, особливості морфології якої часто застосовуються у систематиці в якості діагностичної ознаки. Результати проведених нами електронно-мікроскопічних досліджень дозволили описати різноманітність організації піреноїдів у даній групі і виокремити п'ять їх основних типів.

**Ключові слова:** Chlorophyta, *Stichococcus*, піреноїд, зелені водорості, систематика

<sup>1</sup> Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", Ботанічний сад ім. акад. О.В.Фоміна, вул. Симона Петлюри, 1, Київ, 01032, Україна; e-mail: karbovska.v@gmail.com

<sup>2</sup> Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ "Інститут біології", кафедра ботаніки, просп. Глушкова, 2, корпус 12, Київ, 03022, Україна

### Вступ

Рід *Stichococcus* Nägeli – це група таксонів невизначеного статусу, представники якої мають нитчастий тип структури тіла, циліндричні клітини, парієнтальний хлоропласт, дрібні розміри і розмножуються виключно вегетативним поділом клітини надвоє, що призводить до утворення коротких ниток, які зазвичай легко розпадаються на поодинокі клітини (NÄGELI 1849). Більшість *Stichococcus*-подібних водоростей (близько 50 видів та внутрішньовидових таксонів) за традиційною морфологічною системою була описана у складі роду *Stichococcus* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae).

Молекулярно-філогенетичні дослідження, виконані на підставі аналізу ядерного гену, який кодує малу субодиницю рибосомальної ДНК, показали належність більшості досліджених штамів *Stichococcus*-подібних водоростей до класу Trebouxiophyceae та їх близьку спорідненість

з кладою родини Prasiolaceae, а також філогенетичну гетерогенність класичного роду *Stichococcus* (ELLIAS & NEUSTUPA 2009; SLUIMAN *et al.* 2008). При цьому штамів ановані у провідних колекціях як *S. bacillaris* Nägeli потрапили до різних молекулярних клад (ELLIAS & NEUSTUPA 2009). У результаті молекулярно-філогенетичних досліджень з меж роду *Stichococcus* було виокремлено новий рід *Pseudomarvania* Neustupa & Elias (ELLIAS & NEUSTUPA 2009), а на основі штамів, раніше визначених як *S. bacillaris*, що є номенклатурним типом даного роду, були описані нові види *S. jenerensis* Neustupa, Eliáš et Šejnohová та *S. deasonii* Neustupa, Eliáš et Šejnohová (Neustupa *et al.* 2007). У провідних світових колекціях наразі немає жодного штаму, який би повністю відповідав оригінальному діагнозу *S. bacillaris*. Деякі ознаки роду *Stichococcus* вважаються дискусійними, зокрема, стосовно родового діагнозу дискусійною є наявність піреноїду. Сам К. Негелі (NÄGELI 1849) зауважив, що піреноїду він

не побачив: «Ein Chlorophyllbläschen habe ich noch nicht bemerkt; in größeren Zellen fand ich zuweilen einen hohlen kugeligen Raum in der Mitte». У 1914 р. В. Герінг (HEERING 1914) подав опис роду у зведені «Die Süßwasser-Flora» та визначив родовою ознакою відсутність піреноїду. Проте, при електронно-мікроскопічних дослідженнях, починаючи з 1974р. піреноїд був достовірно виявлений у штамів, ідентифікованих як *S. chloranthus* Rath (PICKETT-HEAPS 1974), *S. bacillaris* (SILVERBERG 1975), *S. deasonii*, *S. jenerensis* (NEUSTUPA *et al.* 2007) та *S. ampuliformis* Handa, Nakahara, Tsubota, Deguchi *et Nakano* (HANDA *et al.* 2003). Крім того, з Антарктики було отримано *Stichococcus cf. chloranthus*, у хлоропласті якого піреноїд відсутній (KOSTIKOV *et al.* 2003).

### Матеріали і методи досліджень

Матеріалом дослідження були штами *Stichococcus*-подібних водоростей, депоновані у колекції культур Київського національного університету імені Тараса Шевченка (акронім АСКУ) як номенклатурний тип роду – *S. bacillaris* (АСКУ 487, 868) та *Pseudostichococcus monalanthoides* (АСКУ 644).

Для трансмісійної електронної мікроскопії використовували 1,5 мл суспензійної культури водоростей. Клітини водоростей осаджували центрифугуванням при 5000 g протягом 10 хв. Осад фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері з наступною дофіксацією у 1% розчині чотирьохокису осмію ( $\text{OsO}_4$  в 1 М PBS), дегідрували в розчині етилового спирту при поступовому збільшенні його концентрації (30%, 50%, 70%, 90%, 100%) і ацетоні, контрастували ураніацетатом і заливали в епоксидну смолу. Із залитих в епоксидну смолу зразків виготовляли ультратонкі зрізи, для яких застосовували подвійне контрастування цитратом свинцю та ураніацетатом за Рейнольдсом (Уикли 1975). Спостереження та мікрофотографування проводили на

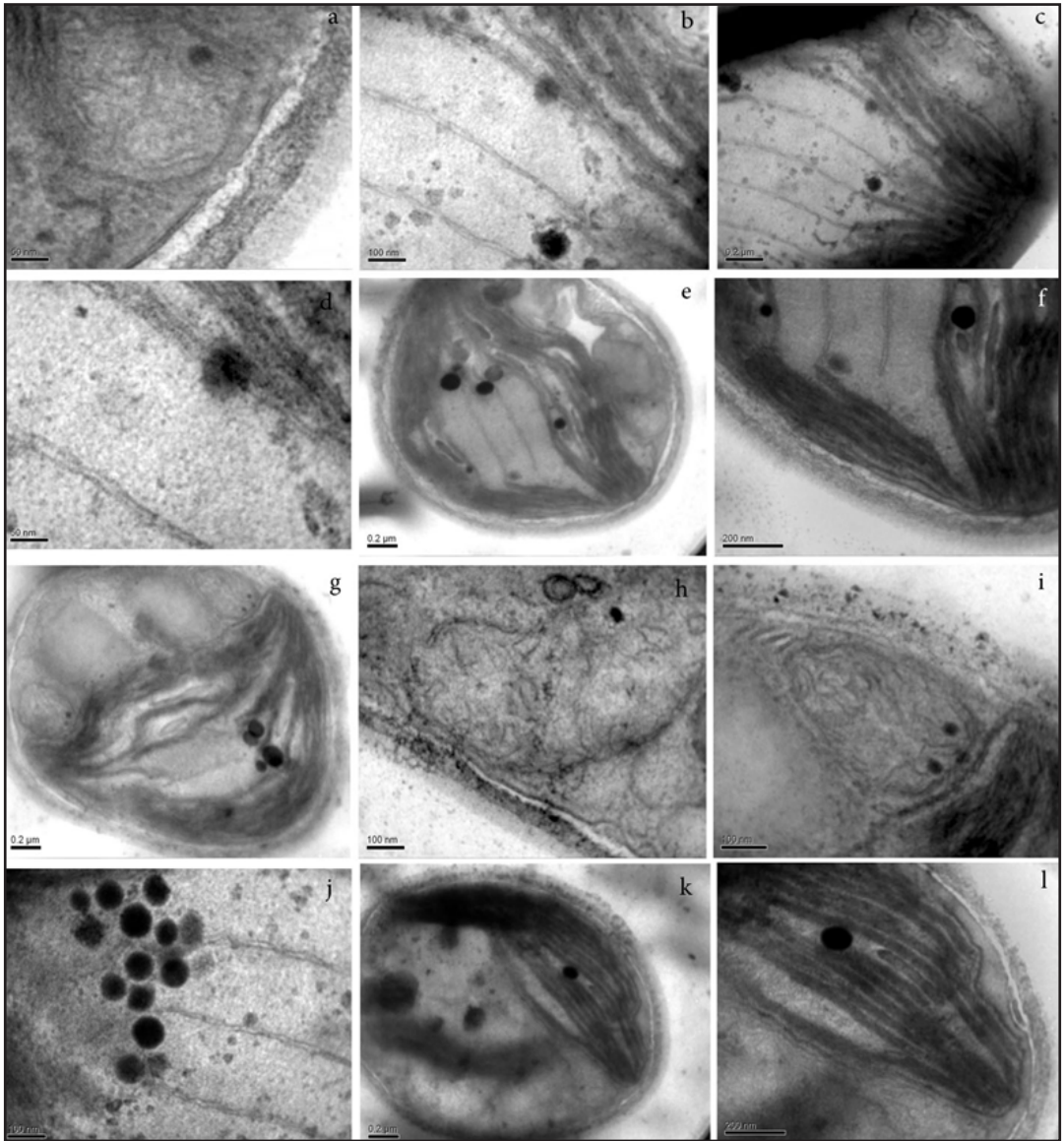
електронному мікроскопі JEM-1230 (JEOL, Японія) при робочих напругах 80 кВт.

### Результати та їх обговорення

На прикладі штаму АСКУ 868 встановлено, що клітини *Stichococcus*-подібних водоростей вкриті тонкою (95-105 нм) двохшаровою оболонкою. Внутрішній шар більш електронно-щільний, зі слабо помітною поздовжньою фібрилярністю, 56-60 нм завтовшки. Зовнішній шар більш світлий, гомогенний, 45-50 нм завтовшки (Рис. 1 а).

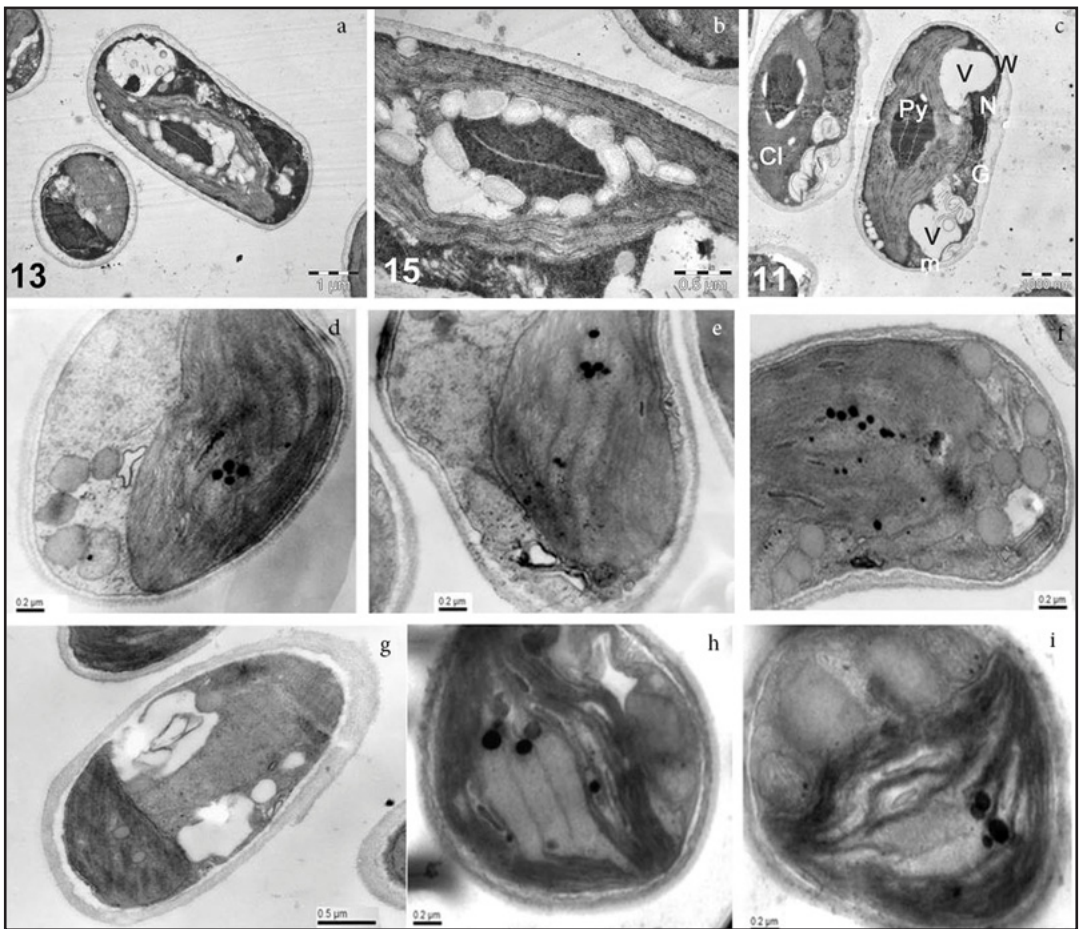
Хлоропласт один, паріетальний, розширений у центральній частині клітини (Рис. 1 к, л). Він містить 8-14 парафронтально розташованих паралельних ламел, які складаються з 2-4 тилакоїдів (Рис. 1 б) і лінзовидний видовжений голий піреноїд 1,5-2,5 мкм завдовжки, 0,6-1,2 мкм завширшки (Рис. 1 с). На сагітальних зрізах піреноїд розділяє хлоропласт на абаксіальну, проміжну та адаксіальну області. В абаксіальній області розташовано 4-6 ламел, в проміжній – 4-8 ламел і піреноїд, в адаксіальній – 1-3 ламели. У дистальній частині проміжної області як на поздовжніх, так і на поперечних зрізах ламели утворюють пари. У кожній парі одна ламелла коротка, і закінчується біля краю піреноїда. У той час як друга ламела довга, заходить у піреноїд, при цьому один із її тилакоїдів пронизує піреноїд парафронтально. У результаті 2-4 тилакоїди (по одному із кожної пари ламел проміжної області) розділяють піреноїд на 3-5 паралельні парасагітальних сегменти. Товщина одного сегмента становить близько 200 нм (Рис. 1 д). У периферійній зоні піреноїду інколи спостерігається декілька піреноглобул (Рис. 1 е, ж), а у дистальних зонах хлоропласта – від одної до декількох пластоглобул (Рис. 1 ф). Гранули строматичного крохмалю або його відклади навколо піреноїду не виявлені.

На поперечних зрізах до внутрішньої сторони хлоропласта латерально прилягають два пластинчасті мітохондріальні профілі (Рис. 1 г). На поздовжніх зрізах біля полюсів



**Рис. 1.** Особливості ультраструктурної будови *Stichococcus*-подібних водоростей (на прикладі АСКУ 868 *Stichococcus bacillaris*): **a** – двошарова оболонка; **b** – ламели, що складаються з 2-4 тилакоїдів; **c** – лінзоподібний видовжений голий піреноїд; **d** – пари ламел, що пронизують піреноїд; **e, j** – піреноглобули; **f** – пластоглобули; **g** – мітохондріальний профіль; **h, i** – пластинчастий мітохондріальний профіль, притиснутий до хлоропласту; **k, l** – паріетальний хлоропласт.

**Fig. 1.** Ultrastructure features of cell of the *Stichococcus*-like algae (on example of АСКУ 868 *Stichococcus bacillaris*): **a** – double-layer membrane; **b** – lamella consisting of 2-4 thylakoids; **c** – lens-like elongated naked pyrenoid; **d** – pair of lamellas that permeate the pyrenoid; **e, j** – pyrenoglobule; **f** – plastoglobule; **g** – mitochondrial profile; **h, i** – mitochondrial profile pressed to the chloroplast; **k, l** – parietal chloroplast.



**Рис. 2.** Різноманітність піреноїдів у *Stichococcus*-подібних водоростей: **a, b** – АСКУ 871 *Stichococcus jenerensis* (за NEUSTUPA *et al.* 2007); **c** – АСКУ 872 *S. deasoni* (за NEUSTUPA *et al.* 2007); **d, e** – АСКУ 487 *S. bacillaris*; **f, g** – АСКУ 644 *Pseudostichococcus monalanthoides*; **h, i** – АСКУ 868 *S. bacillaris*.

**Fig. 2.** Diversity of the pyrenoids in the *Stichococcus*-like algae: **a, b** – АСКУ 871 *Stichococcus jenerensis* (accordingly to NEUSTUPA *et al.* 2007); **c** – АСКУ 872 *S. deasoni* (accordingly to NEUSTUPA *et al.* 2007); **d, e** – АСКУ 487 *S. bacillaris*; **f, g** – АСКУ 644 *Pseudostichococcus monalanthoides*; **h, i** – АСКУ 868 *S. bacillaris*.

клітини виявлено по одному пластинчастому мітохондріальному профілю, які притиснуті до хлоропласту (Рис. 1 h, i). На сагітальних зрізах інколи на одному із полюсів клітини між оболонкою і мітохондріальним профілем спостерігаються дві електронно-прозорі структури, які, можливо, представляють вакуолі.

Ядро розміщується у центрі клітини. У фронтальній площині воно одною стороною прилягає до піреноїд-вмісного потовщення хлоропласту, іншою –

до вільної від хлоропласту клітинної оболонки. У сагітальному розрізі ядро з обох сторін обмежене пластинчастими мітохондріальними профілями (Рис. 1 g).

У результаті проведених досліджень були виявлені нові типи організації піреноїдів, уточнені деталі організації клітинної оболонки та хлоропласту. Наші результати узгоджуються з результатами електронно-мікроскопічних досліджень інших дослідників, які теж відмічали наявність у хлоропласті голого піреноїду



(PICKETT-HEAPS 1974; SILVERBERG 1975), що суперечить первинному авторському діагнозу. Оболонка, піреноїд і мітохондріальний профіль на поперечному зрізі відповідають електронограмам виду *Stichococcus* sp., проте у нашого штаму гранули крохмалю у стромі хлоропласту не виявлені (SILVERBERG 1975).

При дослідженні клітинної організації *Stichococcus*-подібних водоростей, ми у першу чергу зацікавились піреноїдом як специфічною структурою, особливості морфології якої часто застосовуються у систематиці у якості діагностичної ознаки. Результати проведених нами електронно-мікроскопічних досліджень показали різноманітність організації піреноїдів у даній групі.

Ми пропонуємо виділити п'ять основних типів, за наявності чи відсутності у піреноїді крохмальної обгортки, розмірами та розміщенням піреноглобул, наявністю ламел. До **першого типу** ми відносимо піреноїд з крохмальною обгорткою, пронизаний одною ламелою. Даний тип характерний для штаму АСКУ 871 *S. jenerensis* (Рис. 2 а, б). До **другого типу** – піреноїд з крохмальною обгорткою, пронизаний багатьма ламелами. Даний тип характерний для штаму АСКУ 872 *S. deasonii* (Рис. 2 с). До **третього типу** – піреноїд без крохмальної обгортки, пронизаний багатьма ламелами, з великими піреноглобулами, характерний штаму АСКУ 868 *S. bacillaris* (Рис. 2. h, i). До **четвертого типу** – піреноїд без крохмальної обгортки, пронизаний багатьма ламелами, дрібні скупчення піреноглобул – у штаму АСКУ 487 *S. bacillaris* (Рис. 2 d, e). До **п'ятого типу** ми відносимо піреноїд-подібне тіло, яке пронизане тилакоїдами, які не утворюють ламел, і містить піреноглобули, характерне для штаму АСКУ 644 *Ps. monalanthoides* (Рис. 2 f, g).

### Висновки

Виявлення піреноїду у штамів роду *Stichococcus* ідентифікованих та депонованих у вітчизняних та світових колекціях як

номенклатурний тип даного роду *S. bacillaris*, не узгоджується з оригінальним діагнозом даного роду. Більше того, проведені нами дослідження дозволили виокремити п'ять основних типів піреноїдів для групи *Stichococcus*-подібних водоростей.

### Використані джерела

- УИКАИ Б. 1975. Электронная микроскопия для начинающих. Мир, Москва.
- ELLIAS M., NEUSTUPA J. 2009. *Pseudomarvania*, gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae), a new genus for “budding” subaerial green algae *Marvania aerophytica* Neustupa et Sejnohova and *Stichococcus ampulliformis* Handa. *Fottea* 9 (2): 169–177.
- HANDA S., NAKAHARA M., TSUBOTA H., DEGUCHI H., NAKANO T. 2003. A new aerial alga *Stichococcus ampulliformis* sp. nov. (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) from Japan. *Phycol. Res.* 51: 203–210.
- HEERING W. 1914. Ulothrichales in Pascher. Jena.
- KOSTIKOV I., MASSALSKI A., OLECH M. 2003. Taxonomical and ecological studies on the pioneer soil algae from deglaciated areas of maritime Antarctica. In: OLECH M. (ed.), The functioning of polar ecosystems as viewed against global environmental changes. XXIX International Polar Symposium: 71–73. Kraków.
- NÄGELI C. 1849. Gattungen einzelliger Algen: physiologisch und systematisch Bearbeitet. Friedrich Schulthess, Zürich.
- NEUSTUPA J., ELIÁŠ M., ŠEJNOHOVÁ L. 2007. A taxonomic study of two *Stichococcus* species (Trebouxiophyceae, Chlorophyta) with a starch-enveloped pyrenoid. *Nova Hedwigia* 84 (1–2): 51–63.
- PICKETT-HEAPS J. 1974. Cell division in *Stichococcus*. *Eur. J. Phycol.* 9 (1): 63–73.
- SILVERBERG B.A. 1975. Some structural aspects of the pyrenoid of the Ulothrichalean alga *Stichococcus*. *Trans. Amer. Micros. Soc.* 94: 417–421.
- SLUIMAN H., GUIHAL C., MUDIMU O. 2008. Assessing phylogenetic affinities and species delimitations in Klebsormidiales (Streptophyta): nuclear-encoded rDNA phylogenies and its secondary structure models in *Klebsormidium*, *Hormidiella* and *Entransia*. *J. Phycol.* 44: 183–195.

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF ORGANIZATION OF THE CELL AND PIRENOIDS IN  
*STICHOCOCCUS*-LIKE ALGAE

VICTORIA M. KARBOVSKA <sup>1</sup> & IGOR YU. KOSTIKOV <sup>2</sup>

**Abstract.** The results of SEM study of cell organization and some feature of the structure of pyrenoids in several authentic strains of the genus *Stichococcus* Nägeli from ACKU collection are reported. Our results showed a variety of organizations of the pyrenoid in this group of green microalgae and allowed to describe five main types of pyrenoids.

**Key words:** Chlorophyta, *Stichococcus*, pyrenoid, culture of green microalgae, systematics

<sup>1</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», O.V. Fomin Botanical Garden, Simona Petliury Str. 1, Kyiv 01032, Ukraine; e-mail: karbovska.v@gmail.com

<sup>2</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre «Institute of Biology», Department of Botany, Glushkov Prospect 2, b. 12, Kyiv 03022, Ukraine