

Академия наук СССР
Уральский филиал
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

М.Г.НИФОНТОВА

ФОТОСИНТЕЗ ЛИШАЙНИКОВ
(ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель –
доктор биологических наук,
профессор П.Л.ГОРЧАКОВСКИЙ

Научный консультант –
доктор биологических наук,
профессор А.Т.МОКРОНОСОВ

Свердловск
1968

Академия наук СССР
Уральский филиал
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

М.Г. НИФОНТОВА

ФОТОСИНТЕЗ ЛИШАЙНИКОВ
(ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель -
доктор биологических наук,
профессор П.Л. ГОРЧАКОВСКИЙ

Научный консультант -
доктор биологических наук,
профессор А.Т. МОКРОНОСОВ

Свердловск
1968

Работа выполнена в лаборатории экологии растений и геоботаники Института экологии растений и животных УФАН СССР в период с 1963 по 1966 год.

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ: доктор биологических наук, профессор И.А.ТАРЧЕВСКИЙ, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Н.В.Куликов.

Диссертация изложена на 110 страницах машинописного текста и состоит из введения, раздела о материале и методике исследования, трех глав, посвященных результатам экспериментальных исследований, и выводов. Список литературы включает 184 источника, из них 96 на русском и 88 на иностранном языках. Текст иллюстрирован 10 таблицами и 30 рисунками.

Защита диссертации состоится 1968 г.
на заседании Объединенного Ученого Совета при Институте экологии
растений и животных Уральского филиала АН СССР.

Автореферат разослан 1968 г.

Отзывы и замечания просим направлять по адресу: г.Свердловск, ул. 8 Марта, 202, Институт экологии растений и животных. Ученому секретарю Объединенного Ученого Совета Г.С.ХРЕНОВОЙ.

Лишайники – один из наиболее интересных примеров симбиоза в растительном мире, поэтому изучение их физиологии и связей между компонентами представляет большой общебиологический интерес.

Встречаясь почти во всех биогеоценозах, поселяясь на самых различных субстратах, лишайники обладают, в отличие от большинства растений, высокой устойчивостью к внешним факторам – обезвоживанию, резким колебаниям температур, достигающих +60–70° и –183°С. Безусловно, в основе высокой резистентности к неблагоприятным факторам лежат особенности физиологии и обмена веществ лишайников.

В настоящее время накоплен довольно значительный материал по химическому составу лишайников, влиянию факторов внешней среды на их рост, получены сведения о высокой устойчивости лишайников к экстремальным факторам, начаты исследования особенностей газового обмена при фотосинтезе и дыхании. Однако вопросы биохимии и физиологии лишайников и взаимоотношения симбионтов при разных физиологических и экологических режимах изучены крайне слабо.

В связи с этим в нашей работе были поставлены следующие задачи: I. Изучить особенности фотосинтетического метabolизма углерода у лишайников, состав продуктов фотосинтеза и темновой фиксации CO_2 , кинетику реакций ассимиляции углекислоты при разных экологических условиях.

2. Дать характеристику фотосинтетической деятельности лишайников в природных условиях в годичном и суточном циклах.

3. Изучить восстановление фотосинтетического метabolизма после воздействия на лишайники экстремальными факторами (высокая температура в диапазоне от 50 до 100° и длительное обезвоживание слоевищ).

I. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И МЕТОДИКА

В работе использовались лишайники 6 родов, 11 видов: *Cladonia alpestris*, *C. amaurosticta*, *C. fimbriata*, *C. rangiferina*, *Cetraria islandica*, *Parmelia centrifuga*, *P. physodes*, *Peltigera aphthosa*, *P. canina*, *Umbilicaria pennsylvanica*, *Usnea dasypoga*.

Слоевища лишайников были собраны с гранитных валунов и скалистых останцев в лесу и на берегу озера Большое Миассово

(Ильменский заповедник), с поверхности почвы в сосняке и березняке разнотравных и с коры берез и сосны (*Betula pubescens*, *B. verrucosa*, *Pinus silvestris*).

При исследовании фотосинтеза и гетеротрофной фиксации CO_2 лишайниками использовался углерод-14 в форме углекислого газа по методике, разработанной в лаборатории фотосинтеза УрГУ (Мокроносов, 1966). При изучении фотосинтетического метаболизма лишайников навески слоевиц помещали в фотосинтетическую камеру в атмосферу C^{14}O_2 из расчета 5-30 мкюри C^{14} на 75 мл объема камеры. После экспонирования лишайники фиксировали кипячим этанолом, высушивали, растирали и подвергали радиохимическому анализу (Мокроносов, 1966). В образцах лишайников разных видов после поглощения C^{14}O_2 в течение 20-60 минут метка в лихенине, изоли-хенине и лишайниковых кислотах почти не обнаруживалась. Это позволило нам в работе не определять включение C^{14} в эти соединения, которые синтезируются, по-видимому, на поздних постфотосинтетических этапах метаболизма углерода. В необходимых случаях использовались методы инфильтрации в слоевища растворов глюкозы и сахарозы, меченых по углероду.

Большинство экспериментов проведено в летнее время при естественной освещенности и температуре воздуха. В необходимых случаях использовались источники искусственного освещения - лампы дневного света и лампы накаливания с водными фильтрами.

Опыты ставились в 4 повторностях, каждый эксперимент повторялся от 3 до 5 раз.

П. ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДА У ЛИШАЙНИКОВ РАЗНЫХ ВИДОВ

За последние 10-15 лет вскрыты общие для всех растений закономерности химизма фотосинтетической и нефотосинтетической ассимиляции CO_2 . С другой стороны, получены доказательства специфичности метаболических путей усвоения углерода у разных систематических групп растений (Доман, Хаджи-Мурат, Демина, 1958; Morris, Morris, Calvin . 1955). Поэтому изучение фотосинтетического метаболизма такой своеобразной в биохимическом и физиологическом отношении группы организмов, как лишайники, представляет особый интерес.

Химизм фотосинтеза лишайников изучен слабо. Почти нет работ, посвященных непосредственно этому вопросу. Однако имеются косвенные доказательства образования гомидиальными клетками лишайников в процессе фотосинтеза углеводов и некоторых аминокислот (Риую, 1960; Smith, 1962; Ramakrishnan, Subramanian, Sankara, 1965). Показано образование в процессе фотосинтеза лишайников некоторых сахароспиртов — маннитола и пентитола, а в процессе темновой фиксации — цитрата, аспартата, малата, глутамата и аланина (Bednar, Smith, 1966).

I. Продукты фотосинтеза лишайников

При исследовании 20-минутного фотосинтеза лишайников *Cladonia amaurocraea*, *C. rangiferina*, *C. alpestris*, *C. firm Briata*, *Umbilicaria rensylvanica*, *Peltigera canina*, *Ramaria physodes*, *P. centrifuga*, *Usnea dasypoga*.

было установлено образование фосфоглицериновой кислоты (ФГК), фосфорных эфиров гексоз, глюкозы, фруктозы, сахарозы, маннита, аланина, серина, аспартата, глутамата, глутамина, малата, цитрата и нескольких неидентифицированных соединений, одно из которых по λ_f близко к λ -кетоглутарату.

Состав ассимилятов фотосинтеза идентичен у лишайников разных видов, хотя видовая специфичность обмена веществ накладывает определенный отпечаток на количественные соотношения отдельных соединений.

Сравнение основных продуктов фотосинтеза лишайников и высших растений показывает, что набор ассимилятов в обоих случаях качественно одинаков. Количественные соотношения метаболитов, образующихся при фотосинтезе лишайников, характеризуются рядом особенностей:

а) Наибольшая доля активности приходится у всех видов на маннит и сахарозу. За 20 минут фотосинтеза в эти соединения включается от 21 до 54% углерода- 14 , причем в некоторых случаях радиоактивность маннита превышает радиоактивность сахарозы. Для некоторых высших растений также характерно образование маннита путем восстановления продуктов фотосинтеза далее стадии сахаров до стадии сахароспиртов (Quillet, 1958). Тесная зависимость углеводного и спиртового обмена у лишайников дает основание предполагать возможность подобной редукции продуктов фотосинтеза до

маннита у лишайников.

б) Лишайники при длительных экспозициях фотосинтеза накапливают значительное количество свободных гексоз и 3-углеродных кислот (в сумме в них включается от 4 до 34%). Менее интенсивно углерод-14 включается в 4-углеродные кислоты (от 7 до 13%). У высших растений, например картофеля, в 4-углеродные кислоты включается до 35% радиоактивности (Мокроносов, 1962). Напротив, в Δ -кетоглутарат, глутамат, глутамин включается в сумме до 30% радиоактивности.

2. Кинетика реакций фотосинтетического метаболизма

Последовательность превращения продуктов фотосинтеза лишайников изучалась методом нарастающих экспозиций слоевищ в атмосфере $C^{14}O_2$ (от 20 секунд до 20 минут) и в кинетических опытах, при которых увлажненные слоевища получали "глоток" $C^{14}O_2$ в течение 20 секунд и далее выдерживались от 1 до 150 минут на свету в обычной атмосфере.

Для лишайников *Umbilicaria pennsylvanica*, *Usnea dasypoga*, *Cladonia alpestris* показано, что за 20 секунд до 30% радиоактивности включено в ФГК. С увеличением экспозиции слоевищ в $C^{14}O_2$, а также при выдерживании их на свету в обычной атмосфере наблюдается постепенное уменьшение радиоактивности ФГК и фосфорных эфиров с одновременным, но неравномерным увеличением ее количества в остальных соединениях. При этом для лишайников характерно, что

а) фосфогексозы используются не только на синтез сахарозы, но восстанавливаются до уровня сахароспиртов;

б) значительное количество метки сосредоточивается в кетоглутарате, глутамате, глутамине. Это свидетельствует о функционировании на свету цикла Кребса, что, видимо, связано с метabolизмом не водорослевого, а грибного компонента лишайников.

3. Продукты темновой фиксации

Интенсивность темновой фиксации CO_2 лишайниками, определяемая по радиоактивности поглощенного $C^{14}O_2$, составляет не более 10% от интенсивности фотосинтетической ассимиляции $C^{14}O_2$. Это

связано, по-видимому, с возможностью участия в процессах фиксации CO_2 не только водорослевых, но и грибных клеток.

Типичными продуктами темновой фиксации лишайников являются: аспартат, глутамат, малат и цитрат; кроме того, следы радиоактивности обнаруживаются в сахарозе, манните, аланине, серине, фосфорных эфирах и ряде неидентифицированных соединений. Набор метаболитов темновой фиксации лишайников существенно не отличается от продуктов гетеротрофной ассимиляции CO_2 у высших растений. Это позволяет предполагать, что в основе темновой фиксации CO_2 лишайников, как и у высших растений, лежит реакция карбоксилирования пирувата или ФЭП с последующим превращением образовавшегося оксалацетата.

Интенсивность темновой фиксации при предшествующем освещении слоевищ увеличивается в 1,5 раза. При этом значительный процент радиоактивности (в сумме до 6-30%) сосредоточивается в сахарозе, фосфорных эфирах, аланине, манните. Это показывает, что у лишайников отчетливо проявляется характерное для высших растений явление "остаточного фотосинтеза", связанное с сохранением продуктов фотофосфорилирования и фотосинтетического акцептора.

III. БИОСИНТЕЗ МАННИТА У ЛИШАЙНИКОВ

Исследования последних лет показали, что сахароспирты, и в частности маннит, широко распространены у целого ряда высших и низших растений.

Сахароспирты (маннит, волемит, дульцит, пентитол и другие) найдены почти у всех изученных в настоящее время видов лишайников. Можно предполагать, что предшественниками маннита являются фосфорные эфиры гексоз, сахароза, гексозы. Подтверждением этого могут служить данные об образовании маннита- C^{14} при инфильтрации в слоевища глюкозы- C^{14} (Smith, 1960); кроме того, выделен фермент маннитол-фосфат-дегидрогеназа, контролирующий превращение маннита во фруктозу (Рюэо, 1960). Таким образом, маннит может синтезироваться из фосфогексоз, гексоз и сахарозы. Обнаруженная нами зависимость образования маннита от освещенности (эти опыты будут описаны в главе IV) вызвана, вероятно, необходи-

мостью света для образования гексоз (или фосфогексоз) или для реакции гексоза — маннит, сахароза — маннит. Принимая во внимание существование в клетке наряду с фотохимическими восстановителями восстановителей дыхательного происхождения, можно предположить возможность участия последних в образовании маннита и этим объяснить независимость его синтеза от освещения. Для доказательства этого предположения была проведена последующая серия экспериментов.

1. Равномерно меченая по углероду сахароза инфильтровалась в полусухие слоевища лишайников *Ramalina physodes*. Слоевища экспонировали 3 часа на свету и в темноте при температуре 20–25°C. После фиксации кипящим этанолом проводился радиохимический анализ материала. Результаты опыта показали почти полное превращение инфильтрованной сахарозы-С¹⁴ в маннит и на свету и в темноте с накоплением незначительного количества меченой фруктозы.

2. Аналогично описанному проводился эксперимент по инфильтрации меченой по углероду глюкозы в слоевища *Umbilicaria pennsylvanica* на свету и в темноте. Глюкоза-С¹⁴ независимо от освещения превращается в маннит, при этом часть углерода, так же как и в предыдущем опыте, сосредоточивается во фруктозе.

3. В специальных опытах изучалось влияние дыхательных ингибиторов на синтез маннита в лишайниках из инфильтрованной глюкозы-С¹⁴. Инфильтрация проводилась в течение 10 часов на свету и в темноте в слоевища лишайников *Peltigera canina* и *Cladonia alpestris* по следующей схеме:

раствором глюкозы-С¹⁴ (контроль)
раствором глюкозы-С¹⁴ + NaF 0,2 М
раствором глюкозы-С¹⁴ + ДНФ 10⁻³ М.

Глюкоза-С¹⁴ и на свету и в темноте превращается в маннит. Введение NaF (ингибитора энолаз) резко тормозит использование глюкозы-С¹⁴ на образование маннита, сахарозы и полисахаридов. Динитрофенол, разобщающий дыхание и фосфорилирование, также несколько тормозит образование маннита, что может быть

связано с участием гексоз в синтезе маннита в фосфорилированном виде.

4. Слоевища лишайника *Parmelia physodes* экспонировали 5 минут на свету в C^{14}O_2 , затем помещали в обычную атмосферу в темноту на 20 и 60 минут. Результаты показывают, что после выключения света метка в манните нарастает (в процентном отношении и в удельной активности) с соответствующим уменьшением радиоактивности углеводов. Таким образом эндогенные углеводы фотосинтетического происхождения восстанавливались в маннит в темноте.

5. Инфильтрация глюкозы- C^{14} в листья сирени (образующей маннит в процессе фотосинтеза) на свету и в темноте также показала возможность синтеза маннита у высших растений за счет редуцентов дыхательного происхождения.

6. Во всех описанных нами экспериментах лишайники рассматривались как единый организм, соединяющий в себе клетки фикобионтного и микробионтного компонентов. Мы попытались установить также место синтеза маннита в слоевице. Для этого из лишайников двух видов *Cladonia alpestris* и *Peltigera canina* были выделены и культивированы в сосудах ИФРа водорослевые клетки. Изучение продуктов их фотосинтеза показало, что в процессе ассимиляции CO_2 маннит в гонидиальных клетках лишайников не образуется.

Таким образом, исходя из результатов проведенных нами экспериментов, можно утверждать, что в лишайниках образование маннита происходит в клетках грибного компонента за счет редуцентов дыхательного происхождения на основе углеводов, образуемых гонидиальными клетками в процессе фотосинтеза (рис. I.).

ГУ. ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОТОСИНТЕЗ ЛИШАЙНИКОВ

Для высших растений многими исследователями показано, что состав и количественные соотношения продуктов фотосинтеза меняются в зависимости от типа и физиологического состояния растений, от условий минерального питания, водного режима и ряда других факторов.

В связи с этим нам представлялось интересным проследить влияние на фотосинтез лишайников некоторых условий внешней среды (температуры воздуха, времени суток и года), а также влажности слоевищ.

I. Фотосинтез при разном уровне влажности слоевищ

Особенности водного режима лишайников позволяют отнести их к группе гомогидратных растений. Фотосинтез лишайников увеличивается пропорционально увеличению влажности слоевищ, но до определенных пределов, зависящих от строения слоевища и влажности окружающего воздуха (Курсанов, Комарницкий, 1945; Stocker , 1927; Jumelle , 1927; Smith , 1934; Ried , 1960 и др.).

Собран многочисленный материал, освещающий удивительную способность лишайников переносить длительные периоды обезвоживания без ущерба для дальнейшей жизнедеятельности при нормализации условий (Rueyo , 1960, 1964-65; Ried , 1960). Однако изучение механизмов этого явления только начинается.

Для изучения влияния кратковременного обезвоживания на фотосинтез лишайников, слоевища хорошо увлажнялись водой и раскладывались на солнце или в эксикаторах над концентрированной серной кислотой. 20-минутные определения фотосинтеза проводились при естественной освещенности и температуре воздуха сразу после смачивания слоевищ и через 1, 5, 30, 60, 120 минут.

Наибольшая интенсивность фотосинтеза *Umbilicaria pennsylvanica* соответствует влажности слоевищ в 90%, у *Peltigera canina* - 100% (от максимального насыщения водой). Увеличение интенсивности фиксации CO_2 при некотором обезвоживании тканей (так называемый "феномен Бриллиант") отмечен и для высших растений. Одним из возможных объяснений его является предположение о том, что степень оводненности ряда клеточных структур определяет направленность ферментативных процессов. Разная степень оводненности слоевищ не приводит к изменению качественного набора соединений, обрезающихся в процессе фотосинтеза. Однако с уменьшением оводненности слоевищ увеличивается включение C^{14} в сахарозу (с 3 до 13% у *Peltigera*

canina и с 4 до 35% у *Umbilicaria pennsylvanica*), аланин (с 1,0 до 8% у *Peltigera canina* и с 5 до 9% у *Umbilicaria pennsylvanica*), глутамат (соответственно с 4,0 до 13% и с 3,0 до 12%), аспартат (соответственно с 2 до 12% и с 2,0 до 17%), малат и пират. Отмеченные изменения в направленности фотосинтетических процессов аналогичны тем, которые происходят при атмосферной и почвенной засухе (Тарчевский, 1964). Обезвоживание слоевиц вызывает резкое снижение синтеза маннита (активность его падает у *Peltigera canina* с 12 до 0,1%, у *Umbilicaria pennsylvanica* с 14 до 0,1%). Это может быть связано с нарушением при обезвоживании дыхательного метаболизма, приводящего к уменьшению поступления дыхательных редукторов, необходимых для протекания реакции фруктоза — маннит.

Опыты по влиянию длительного обезвоживания на фотосинтез лишайников были поставлены на следующих видах *Cladonia alpestris*, *Cladonia amaurocraea*, *Parmelia physodes*, *Umbilicaria pennsylvanica*, *Cetraria pinastri*.

Слоевица лишайников закладывали в эксикатор над хлористым кальцием и выдерживали при комнатной температуре в естественном освещении. Определения фотосинтеза (в атмосфере C^{14}O_2) были проведены через II и 22 месяца после начала опыта. Предшествующее обезвоживание вызывает значительную депрессию фотосинтеза у лишайников. После II-месячного обезвоживания интенсивность фотосинтеза снизилась до 15–50% от контроля (в зависимости от вида), после 22 месяцев обезвоживания – до 2,5–20%.

Анализ продуктов 60-минутного фотосинтеза обезвоженных и контрольных лишайников показал, что у лишайников, перенесших обезвоживание, наблюдается торможение образования основного продукта фотосинтеза – маннита. В то же время у этих растений накапливается значительное количество фруктозы. У лишайников, перенесших обезвоживание, подавлена в целом редукция CO_2 до уровня сахаров и сахароспиртов. У опытных лишайников соответственно увеличена в составе продуктов фотосинтеза доля оксикислот и аминокислот (табл. I).

Влияние предшествующего обезвоживания на фотосинтез лишайников соответствует литературным сведениям об изменениях фотосинтетического метаболизма под влиянием засухи, которые обычно связывают с дефицитом АТФ, возникающим при подавлении фотофосфорилирования в условиях засухи (Тарчевский, 1964). Специфика лишайников заключается в том, что, в отличие от большинства других фотосинтетиков, лишайники способны восстанавливать нормальный фотосинтез после длительного, почти полного обезвоживания тканей, что позволяет предполагать наличие особой организации ламеллярных структур фотосинтетического аппарата у водорослей лишайников. Эта организация позволяет на длительное время "консервировать" работу фотосинтетического аппарата лишайников при засухе, что ведет к сохранению жизнеспособности лишайников. Ранее нами было отмечено, что восстановление углеводов до маннита не зависит от света и осуществляется, по-видимому, за счет редупментов дыхательного происхождения. Описанное выше угнетение превращения фруктозы в маннит после обезвоживания указывает на значительное нарушение дыхательного метаболизма грибов лишайника под влиянием засухи.

Особенности водного режима лишайников и устойчивость их к обезвоживанию имеют определенное эколого-географическое значение в распространении этих растений. Хотя лишайники могут выдерживать обезвоживание лишь до определенных пределов, их устойчивость к высыханию и приспособленность к быстрым изменениям содержания воды в слоевище настолько высоки, что сравнительно короткие периоды засухи в естественных местообитаниях не могут вызвать непосредственного повреждения и ограничить распространение исследованных нами видов лишайников в природе.

2. Последействие высоких температур на фотосинтез лишайников

Лишайники являются одним из немногих объектов, приспособленных к перенесению довольно высоких температур окружающей среды (Lange, 1953, 1956, 1965).

В наших исследованиях мы остановились на проблеме влияния последействия температур на фотосинтетический метаболизм ли-

лишайников.

В опытах, посвященных этому вопросу, на ветви лишайников *Cladonia alpestris* и *C. amaurosticta* в воздушно-сухом состоянии подвергали в течение 4,5 часов воздействию температур от 25 до 100⁰С (25, 50, 80, 100⁰) в темноте в сильном шкафу. Сразу же после термической обработки лишайники хорошо увлажняли водой в течение 15–20 минут. Для определения фотосинтеза увлажненные слоевища экспонировали в фотосинтетической камере 20 минут в атмосфере С¹⁴С₂ при естественной освещенности и температуре воздуха 22–25⁰С.

Было обнаружено, что с увеличением температур прогревания уменьшается последующая способность лишайников фиксировать С¹⁴О₂ (при 50⁰ до 25–30%, при 80⁰ до 3,5–6,4% от контроля). Интересным представляется тот факт, что лишайники, выдержанные 4,5 часа в воздушно-сухом состоянии при температуре 100⁰, сохраняют способность после увлажнения частично восстанавливать фотосинтетическую деятельность.

Безусловно, результат температурного воздействия зависит от продолжительности выдерживания слоевищ при тех или иных температурах и от состояния самого растения. Как уже указывалось выше, лишайники разных видов проявляют разную степень теплоустойчивости в зависимости от оводненности слоевищ. Необходимо отметить, что понижение фотосинтетической деятельности у разных лишайников начинается при разной температуре и устойчивость к высушиванию связана с экологической характеристикой лишайника. В связи с этим можно предположить, что способность слоевищ лишайников быстро терять воду и переходить в воздушно-сухое состояние является одним из решающих факторов, определяющих их высокую теплоустойчивость.

После воздействия на лишайники высоких температур в 80–100⁰ углерод-14 в процессе фотосинтеза включается в типичные метаболиты: ФГК, сахарозу, маннит, аланин, цитрат, малат, глутамат, аспартат и другие. С повышением температуры уменьшается включение углерода-14 в сахарозу и маннит, причем угнетение синтеза маннита происходит сильнее, чем сахарозы. Одновременно при этих же условиях увеличивается доля С¹⁴.

в составе аланина, глутамина, глутамата, аспартата, малата (рис. 2). Подобное же изменение в распределении углерода-14 среди фотосинтетических метаболитов после предварительного воздействия на организм высоких температур отмечено на ряде объектов многими авторами (Заленский, Глаголева, Мамушина, 1965; Тарчевский, 1964; Quillet, 1951). Специфичное для лишайников более сильное угнетение синтеза маннита по сравнению с сахарозой связано с нарушением дыхательного метabolизма, поставляющего свободный водород, необходимый для восстановления фруктозы до маннита. Более устойчивыми являются системы, обеспечивающие синтез амино- и органических кислот. Устойчивость фотосинтетического аппарата лишайников к воздействию температур на границе физиологических условий, видимо, связана со спецификой субклеточной организации пластидных структур лишайников, так как это один из немногих объектов, способных сохранить в активном состоянии фотосинтетический аппарат после воздействия на него экстремальных температур.

3. Суточный цикл фотосинтеза лишайников

Суточный цикл углеродного питания растений обладает определенным внутренним ритмом, сложившимся исторически под воздействием метеорологических факторов и закрепленным наследственно.

Выше было отмечено, что соотношение фотосинтетической и гетеротрофной фиксации углекислоты лишайниками несколько отличается от соотношения этих же процессов у высших растений. Поэтому нам представлялось интересным проследить сопряженность обоих процессов фиксации CO_2 слоевищами лишайников в суточном цикле.

20-минутные определения ассимиляции CO_2 проводили на навесках слоевиц лишайника *Cladonia alpestris* в атмосфере C^{14}O_2 через каждые 3 часа (9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6 часов) в течение суток. Одновременно измеряли освещенность и температуру воздуха.

В естественных суточных циклах при постепенной смене

дня и ночи через сумерки и рассвет световая и темновая ассимиляция CO_2 выступают как сопряженные процессы. Кривая фотосинтеза лишайников носит типичный характер одновершинной кривой. Усиление ночью темновой ассимиляции CO_2 у лишайников происходит, по-видимому, за счет участия в этом процессе не только фикобионтного, но и микобионтного компонентов. Возможность фиксации углекислоты свободноживущими грибами показана в некоторых работах, затрагивающих вопросы физиологии грибов (Ячевский, 1933; Беккер, 1963).

Ассимиляция CO_2 слоевищами лишайников изменяется пропорционально изменению освещенности. С повышением освещенности в ранние утренние часы интенсивность фотосинтеза лишайников возрастает и достигает максимума к 13-15 часам; к 21 часу она составляет 15% от максимума. Темновая фиксация углекислоты слоевищами лишайников составляет вочные часы до 10% от максимальной интенсивности фотосинтеза.

Основными продуктами дневной ассимиляции углекислоты являются: ФКГ, сахароза, маннит, аланин, синтез которых возрастает в утренние часы и продолжается до 17-18 часов. Самый высокий процент включения углерода- 14 в фотосинтетические метаболиты наблюдается к моменту наибольшей интенсивности фотосинтеза. По мере снижения освещенности и интенсивности фотосинтеза снижается радиоактивность сахарозы, маннита, аланина, но одновременно увеличивается доля C^{14} , включающегося в глутаминовую и аспарагиновую кислоты (рис. 3). Эти кислоты являются основными продуктами темновой фиксации CO_2 . Наличие их говорит о том, что фиксация углекислоты лишайниками вочные часы происходит путем карбоксилирования ФЭП.

Периоды сумерек и рассвета характеризуются переходными состояниями между фотосинтетическим и темновым типами ассимиляции CO_2 . В ранние утренние часы постепенно восстанавливается синтез типичных фотосинтетических продуктов. Характерно, что синтез маннита восстанавливается значительно быстрее, чем синтез сахарозы. В 6 часов утра при довольно слабом еще фотосинтезе 20-25% углерода- 14 уже обнаруживается в манните,

хотя включение C^{14} в сахарозу не превышает еще 5-7%. Можно предположить в связи с этим, что сахароза и гексозы в этот период быстро вовлекаются в синтез маннита. То обстоятельство, что доля маннита среди ассимилятов в вечерние и утренние часы, т.е. при слабом освещении, довольно значительна, позволило нам предположить, как уже указывалось в главе II, что восстановление сахаров в маннит может осуществляться не только за счет фотохимических восстановителей, но и за счет редуциентов дыхательного происхождения.

4. Сезонные особенности ассимиляции $C^{14}O_2$ лишайниками. Фотосинтез в зимнее время

Как и другие многолетние растения, лишайники обнаруживают сезонные вариации некоторых физиологических свойств. Для лишайников показано изменение по сезонам интенсивности фотосинтетической ассимиляции CO_2 , содержания хлорофилла, общего количества углеводов, соотношения синтеза маннита и углеводов.

Нами была предпринята попытка проследить изменение качественной направленности работы фотосинтетического аппарата лишайников в течение года. Мы обратили внимание не на сопоставление сезонных изменений интенсивности фотосинтеза (что хорошо известно из литературных данных), а на изучение особенностей состава продуктов фиксации $C^{14}O_2$.

В качестве объекта исследования был выбран один из наиболее распространенных на Урале видов лишайников — *Parmelia physodes*. Слоевища лишайника, прорастающего на сосне (*Pinus sylvestris*), собирали каждый месяц в течение года. После хорошего увлажнения лишайники получали недельную экспозицию в камере с $C^{14}O_2$ при естественной температуре воздуха и освещенности.

Результаты опытов показали, что фиксация углекислоты лишайниками продолжается в течение всего года, не прекращаясь даже зимой при температурах -20 - (-25°) С.

Набор меченых метаболитов ассимиляции CO_2 качественно одинаков во все сезоны, но изменяется количественное соотно-

шение отдельных соединений. Максимум синтеза соединений высокополимерной фракции приходится на летние месяцы (включается до 40% всей радиоактивности) и снижается в зимний период до 15%. В июне–июле значительная доля меченого углерода включается в процессе ассимиляции CO_2 в углеводы (до 28%), органические кислоты (до 5%) и аминокислоты (до 7%). Синтез этих соединений уменьшается к осени параллельно снижению общего количества ассимилированного углерода.

Включение меченого углерода в маннит меняется следующим образом в течение года: максимум синтеза маннита приходится на ноябрь–декабрь месяцы, метка в манните составляет в этот период до 80% всей радиоактивности; в летние месяцы радиоактивность маннита снижается до 20%.

Представляет интерес значительное накопление маннита в осенне–зимний период при довольно низких значениях температуры воздуха и низкой ассимиляции CO_2 . Усиление в зимние месяцы синтеза маннита, свидетельствующее о сохранении активности соответствующих биохимических систем, может быть связано с рядом причин, одной из которых является возможность образования маннита за счет редупентов дыхательного происхождения. Это приводит к тому, что снижение освещенности и общей ассимиляции CO_2 не оказывает неблагоприятного влияния на синтез маннита. Накопление же в зимний период маннита, являющегося высоковосстановленным и осмотически активным веществом, может играть большую роль в энергетическом обмене и проницаемости клеток симбионтов лишайников.

Одной из основных тенденций современной биологии является выделение отдельных сторон сложных природных процессов и явлений и анализ их в условиях эксперимента. В настоящее время очевидна необходимость такого подхода к вопросам экологии лишайников. Одним из направлений должно явиться изучение физиологических и биохимических механизмов, определяющих эколого–географическое распространение лишайников, способность к заселению малопригодных для высших растений субстратов, высокую резистентность к неблагоприятным условиям внеш-

ней среды и т.д. В последние годы рядом авторов предпринята попытка связать экологические характеристики лишайников с особенностями их местообитания (Lange, 1963-1965; Ried, 1960, и другие). Однако такие работы пока немногочисленны.

Полученные нами экспериментальные данные могут быть использованы для объяснения поведения лишайников в природных биогеоценозах. Эта возможность подтверждается существованием положительной корреляции между приуроченностью лишайников к различным местообитаниям и характером их реакции на экстремальные воздействия в лабораторных условиях. Выше было показано, что фотосинтетический аппарат фикобионтного компонента лишайников сохраняет свою жизнеспособность после продолжительного и сильного обезвоживания и при воздействии высоких температур. Эта резистентность фотосинтетического аппарата лишайников к экстремальным условиям может являться одним из основных факторов, определяющих способность лишайников в целом к перенесению крайне неблагоприятных условий среды, поскольку процесс ассимиляции углерода играет доминирующую роль в метabolизме зеленых растений. Поэтому очевидна необходимость углубленного и расширенного изучения взаимосвязей между ассимиляцией CO_2 лишайниками и их экологическими характеристиками.

ВЫВОДЫ

На основании изучения продуктов фотосинтетической и темновой фиксации CO_2 лишайниками и изменения фотосинтетического метabolизма под влиянием эколого-физиологических факторов можно сделать следующие выводы:

I. Сравнение основных продуктов фотосинтеза лишайников разных видов и высших растений показывает, что набор ассимилятов в обоих случаях идентичен. Таким образом, у лишайников, как и у высших растений, основное количество фиксированного в процессе фотосинтеза углерода проходит через ФК, путем ее восстановления или аминирования и карбоксилирования через ФЭП.

2. В отличие от большинства высших растений у лишайников фосфогексозы, образуемые при фотосинтезе, используются не только на синтез сахарозы, но восстанавливаются до сахароспиртов, обычно - маннита.

3. Для фотосинтетического метаболизма лишайников характерно вовлечение значительной доли CO_2 в путь Δ -кетоглутарат - глутамат - глутамин. Это свидетельствует об активном функционировании цикла Кребса на свету у лишайников.

4. В основе темновой фиксации углерода лишайниками, как и у высших растений, лежит реакция карбоксилирования пирувата или ФЭП с последующим превращением оксалоacetата в аспартат, малат и глутамат.

5. Для лишайников характерно хорошо изученное на высших растениях явление "остаточного фотосинтеза", связанное с сохранением после выключения света продуктов фосфорилирования и фотосинтетического акцептора РидФ.

6. Образование в слоевицах изученных видов лишайников маннита происходит на основе фосфорных эфиров, гексоз и сахарозы. Непосредственным "предшественником" маннита является фруктоза.

7. Образование маннита из сахарозы- C^{14} и глюкозы- C^{14} не зависит от освещения и полностью подавляется при ингибиции дыхания фторидом натрия. Эндогенные углеводы, образовавшиеся при кратковременном фотосинтезе в C^{14}O_2 , также восстанавливаются в маннит при выключении света. Из этого следует, что восстановление фосфогексоз до уровня сахароспиртов происходит за счет редуциента дыхательного происхождения.

8. Восстановление углеводов до маннита происходит у лишайников в клетках грибного компонента за счет первичных гексоз, синтезируемых в процессе фотосинтеза клетками водорослей лишайников. В культурах водорослей, выделенных из двух видов лишайников, не обнаружено образование маннита при фиксации C^{14}O на свету.

9. Кратковременное и длительное (до 2 лет) обезвоживание слоевищ вызывает снижение интенсивности фотосинтеза до 3%.

При этом в процессе фотосинтеза (после увлажнения обезвоженных слоевиц) наблюдается подавление системы синтеза углеводов, особенно медленно восстанавливается реакция фруктоза маннит, вследствие чего в слоевицах накапливается меченая фруктоза.

IO. Обнаружена высокая термостабильность фотосинтетического аппарата лишайников. При нарастании температур прежде всего угнетается синтез маннита, затем сахарозы; соответственно возрастает доля синтезируемых амино- и органических кислот. Наиболее чувствительным звеном метаболизма является синтез маннита, связанный с нарушением дыхательного метаболизма, и сахарозы; более устойчивой является система карбоксилирования. Сухие слоевица, подвергнутые 4,5-часовому прогреванию при 100^0 , обнаружают после увлажнения способность фиксировать $C^{14}O_2$ с включением метки в маннит и углеводы.

II. В суточном цикле фотосинтеза лишайников при естественном освещении происходит постепенная смена фотосинтетической ассимиляции на темновую; на протяжении дня метка в манните включается сильнее, чем в сахарозу. В вечерние часы маннит продолжает образовываться при значительном уменьшении освещенности благодаря использованию восстановителей дыхательного происхождения.

I2. Изучение сезонных изменений фотосинтетического метаболизма показывает, что у лишайников возможна круглогодичная ассимиляция CO_2 . При идентичности качественного состава метаболитов изменяется по сезонам количественное соотношение образуемых в процессе фотосинтеза соединений. Восстановление $C^{14}O_2$ до уровня углеводов и сахароспиртов обнаружено в зимние месяцы при температурах до $-15 - (-20^0)$ С.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

1. Нифонтова М.Г. Последействие обезвоживания и высоких температур на фотосинтез лишайников. Изв. Сиб. отд. АН СССР, 2, 10, 1967.
2. Мокроносов А.Т., Нифонтова М.Г. Продукты фотосинтеза лишайников в суточном цикле. Бот. журн., 53, 10, 1968.
3. Нифонтова М.Г. О методике изучения фотосинтеза эпилитовых лишайников. Материалы III Закавказской конференции по споровым растениям, Тбилиси (в печати).
4. Нифонтова М.Г. Сезонная динамика фотосинтеза лишайника *Ramalina physodes* (L.) Ach. Материалы отчета сессии Ин-та экологии раст. и животных (ботаника), Изд. УФАН СССР , 1968.
5. Нифонтова М.Г. Возрастные изменения фотосинтеза лишайников. Материалы отчета сессии Ин-та экологии раст. и животных (ботаника), Изд. УФАН СССР , 1968.

Таблица I

Влияние длительного обезвоживания на включение углерода-14 в отдельные фракции и соединения 60-минутного фотосинтеза в $C^{14}O_2$ лишайников разных видов после увлажнения слоевиц. Слоевица лишайников выдерживались II и 22 месяца в экскаторах над хлористым кальцием при естественном освещении и температуре 20–22° С.

Соединения	Обезвоживание II месяцев				Обезвоживание 22 месяца			
	Контроль		Опыт		Контроль		Опыт	
	<i>Cladonia alpestris</i>	<i>Parmelia physodes</i>						
В процентах к исходной активности материала								
Сахароза	15,5	34,4	10,2	19,5	9,8	40,7	5,0	28,4
Маннит	58,5	47,0	12,9	15,1	42,0	10,8	14,8	0,9
Фруктоза	1,8	0,7	16,1	20,2	2,1	0,04	6,5	8,2
Фосфорные эфиры	1,9	1,4	6,2	7,4	—	—	—	—
Аланин	1,0	0,6	7,8	8,2	1,0	1,7	0,5	2,5
Аспартат	0,7	1,6	7,1	3,2	0,7	1,9	10,7	8,6
Глутамат	0,2	0,4	18,8	9,0	5,2	2,2	15,1	0,3
Малат	0,4	0,5	7,8	1,9	5,1	6,3	7,3	12,8
Цитрат	+	0,4	2,3	1,5	6,0	8,2	8,1	10,7
Высокополимерная фракция	6,9	5,9	9,5	15,9	23,2	16,5	9,5	10,9
Сумма углеводов	76,1	83,5	39,2	54,8	53,9	51,5	26,3	38,2

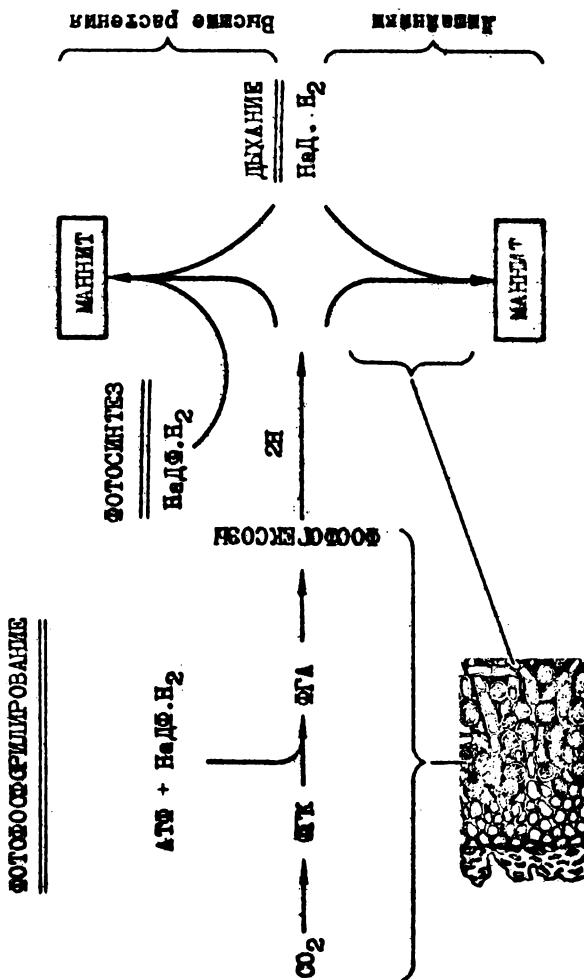


Рис.1. СХЕМА СИНТЕЗА МАГНИТА

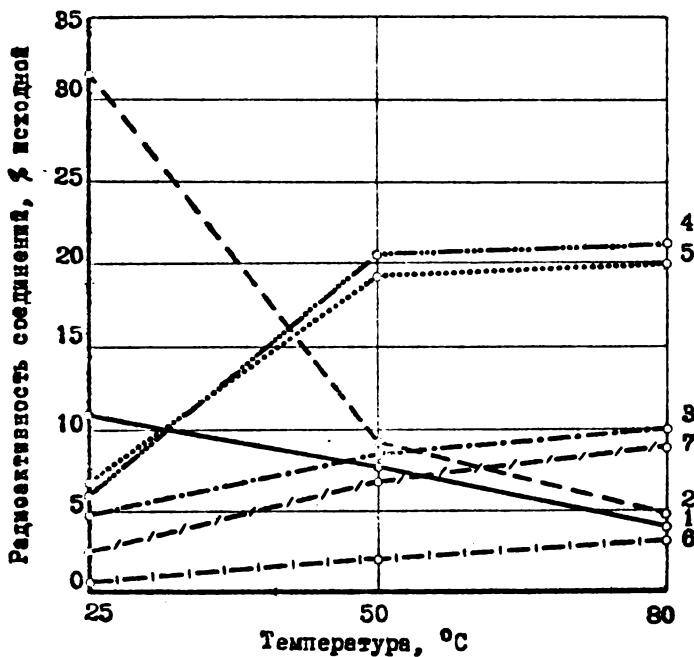


Рис.2. ВЛИЯНИЕ ПОСЛЕДЕЙСТВИЯ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА ВКЛЮЧЕНИЕ УГЛЕРОДА-14 В ПРОДУКТЫ 20-МИНУТНОГО ФОТОСИНТЕЗА ЛИШАЙНИКА *Cladonia alpestris*. ТЕМПЕРАТУРА ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ СЛОЕВИЩ В $C^{14}O_2$ - 25°C.

1- сахароза, 2- маннит, 3- аланин, 4- аспартат,
5- глутамат, 6- глутамин, 7- малат

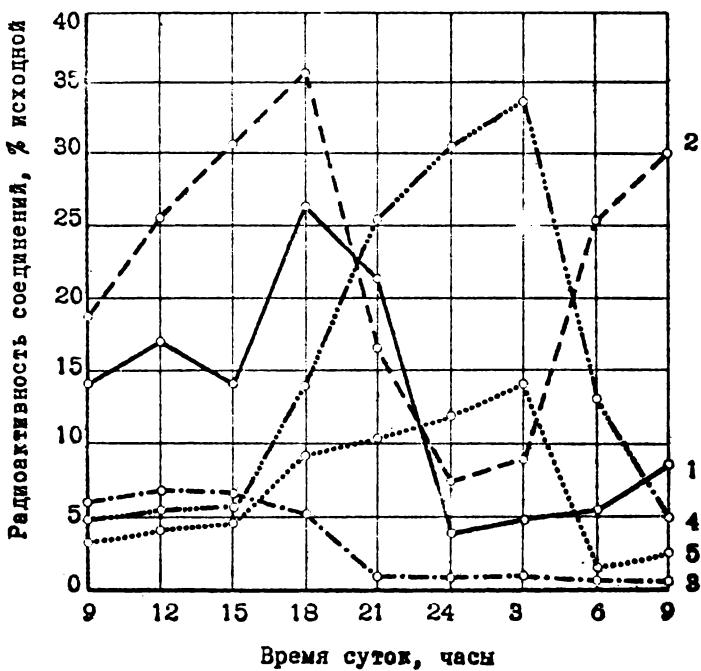


Рис.3. СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВКЛЮЧЕНИЯ УГЛЕРОДА-14 В ПРОДУКТЫ АССИМИЛЯЦИИ C^{14}O_2 ЛИШАЙНИКОМ *Cladonia alpestris*. ЭКСПОЗИЦИЯ РАВНОМЕРНО УВЛАЖНЕННЫХ СЛОЕВИЩ - 20 МИНУТ ПРИ ЕСТЕСТВЕННОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ И ТЕМПЕРАТУРЕ ВОЗДУХА.

1- сахароза, 2- маннит, 3- аланин, 4- аспартат,
5- глутамат

**НС 21474 19/Ш-68 г.
Формат 60x84 1/16**

**Объем 1,6 печ.л.
Тираж 200 Заказ 502**

**Цех № 4 объединения "Полиграфист".
Свердловск, Университетская пл., 9**