

УДК 577.34

ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫЙ КОМПЛЕКС В КЛЕТОЧНЫХ СТЕНКАХ ЛИШАЙНИКА *Peltigera aphthosa*

© 2012 г. Н. Р. Мейчик, Д. В. Воробьёв

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991;
e-mail: meychik@mail.ru

Поступила в редакцию 5.07.2011 г.

Исследовали клеточные стенки и хитин-глюкановые комплексы, изолированные из разновозрастных частей таллома лишайника *Peltigera aphthosa*. С возрастом увеличивалась массовая доля клеточной стенки и хитин-глюкановых комплексов, но уменьшалось содержание азота в этих структурах. Наибольшей массовой долей хитин-глюканового комплекса от сухой массы таллома характеризовалась базальная зона таллома, апикальная — наибольшей массовой долей хитина в комплексе. Показано, что у *P. aphthosa* степень деацетилирования хитина в комплексе в зависимости от возраста составляла 33 и 54% в апикальной и базальной зонах соответственно. Предложенная методика функционального анализа хитин-глюкановых комплексов на присутствие в них свободных аминогрупп может быть применена при исследовании других лишайнизированных грибов.

Хитин-глюкановые комплексы — основные структурные полисахариды клеточных стенок грибов — привлекают внимание ученых и технологов как экологически безопасные природные полимеры, получаемые из возобновляемых источников. Их высокая биологическая активность и отсутствие токсичности препаратов на их основе определяют перспективы их использования в медицине, биотехнологиях, косметической, пищевой, текстильной и других отраслях промышленности [1]. Особенно широко хитин-глюкановые комплексы используются в лечебно-профилактических целях как пищевые добавки, т.к. обладают высокой адсорбционной способностью по отношению к ионам тяжелых металлов [2–4] и являются эффективными энтеросорбентами [5].

Грибы, как сырье для получения хитин-глюкановых комплексов, имеют преимущество по сравнению с другими организмами, продуцирующими хитинсодержащие соединения, главные из которых — их высокая скорость роста и низкое содержание в них минеральных веществ [6]. Известно, что хитин-глюкановый комплекс грибов состоит из хитина, глюканов и содержит следовые количества белка [7], при этом структура комплекса существенно зависит от состава среды, температуры и других факторов [1, 7–10].

Хитин является неоднородным полисахаридом, т.к. в его структуре имеются звенья со свободными аминогруппами в составе D-глюкозамина [1, 11–15]. В клеточной стенке грибов хитин связан с глюканами β -1,3- и β -1,6-гликозидными связями [16, 17], а с белками — пептидной связью, образованной деацетилированными аминогруппами и диаминомонокарбоновыми аминокисло-

тами неароматического строения [1, 18]. Установлено, что в хитин-глюкановых комплексах ковалентно связанные пептидные цепочки выполняют связующую роль между цепями хитина и глюкана [19].

Содержание хитина в хитин-глюкановом комплексе зависит от вида гриба и возраста таллома. Показано, что у *Armillariella mellea* (класс Basidiomycetes) содержание хитина в комплексе составляло 70%, а у *Morchella esculenta* (класс Ascomycetes) — 50% [20]. У мицелиального гриба *Coprinus sterquilinus* содержание хитина в хитин-глюкановом комплексе было 1.54 и 5.85% в апексе и во вторичной клеточной стенке соответственно [21].

В талломах симбиотических организмов — лишайников, сформированных гифами гриба, клетками микроводорослей и (или) цианобактерий, клеточные стенки грибного компонента составляют основную долю (90–98%) клеточных стенок таллома [22, 23]. В этой связи последние могут рассматриваться, как альтернативные источники для получения хитин-глюкановых комплексов. В клеточных стенках грибов хитин-глюкановый комплекс участвует в формировании лишайникового симбиоза, а также играет важную роль в процессах поступления и накопления минеральных веществ из атмосферных осадков [9]. Его состав (соотношение компонентов) свидетельствует о важнейших структурных изменениях в составе клеточных стенок с возрастом таллома.

Таким образом, у лишайников хитин-глюкановый комплекс является важным структурным компонентом клеточной стенки, которая выполняет разнообразные физиологические функции в клетках этих симбиотических организмов [23–

26]. Однако до настоящего времени данных о биохимическом составе хитин-глюкановых комплексов в клеточной стенке лишайников, изменении его содержания в оболочке и зависимости биохимических показателей от возраста таллома получено не было.

Цель работы – выделение и анализ состава хитин-глюкановых комплексов из частей таллома *P. aphthosa* разного возраста.

МЕТОДИКА

Объект, исследования. В работе использовали трехкомпонентный листоватый лишайник *Peltigera aphthosa* (L.) Willd, который распространен по всему миру в арктических, северных и умеренных зонах и, в частности, в лесах и на лугах по всей России. Сбор материала проводили в окрестностях Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, расположенной в Ружозерской губе Кандалакшского залива Белого моря. Выбор этого вида обусловлен тем, что для лишайника *P. aphthosa* характерны поверхностные цефалодии – специализированные структуры, в которых локализованы цианобактерии (цианобионт), – которые возможно отделить от поверхности таллома, что позволяло получать из трехкомпонентной системы двухкомпонентную систему. Талломы лишайника предварительно очищали от частичек почвы, отделяли цефалодии (цианобионт) от поверхности таллома и последний разделяли на три зоны: апикальную (1 см от края лопасти), медиальную (2–4 см до конца лопасти, исключая апикальную зону) и базальную (основная масса слоевища).

Выделение хитин-глюканового комплекса. Хитин-глюкановый комплекс выделяли, как описано [27]. Навеску воздушно сухого таллома (5 г) гомогенизировали в ступке, помещали в круглодонную колбу, добавляли 200 мл дистиллированной воды и нагревали на кипящей водяной бане в 1 ч. Затем осадок многократно промывали дистиллированной водой на фильтре и выдерживали в 0.1%-ном растворе Na-ДДС в течение 1.5 ч при нагревании (40°C) в колбе. Реакционную смесь охлаждали, фильтровали, а осадок промывали до нейтрального pH, переносили в коническую колбу с 1%-ным раствором NaOH и перемешивали при комнатной температуре. Через 30 мин колбу с реакционной смесью нагревали и выдерживали на кипящей водяной бане в течение 2 ч, постоянно перемешивая раствор. Полученный осадок помещали на фильтр, промывали водой до нейтрального pH, переносили в круглодонную колбу и заливали 2%-ной HCl. Смесью нагревали на кипящей водяной бане 1.5 ч, после чего осадок промывали водой до нейтрального pH, добавляли к нему 3%-ный раствор NaOH и снова нагревали на

кипящей водяной бане 2.5 ч. Конечный продукт промывали водой до нейтрального pH, а затем спиртом и водно-спиртовыми растворами понижающейся концентрации (96, 70, 50, 35%).

Выделение клеточной стенки. В описанную ранее для корней высших растений методику [28, 29] внесли некоторые изменения. Высушенный материал (~4 г) помещали в стеклянную ионообменную колонку (~200 мл), промывали последовательно 1%-ным раствором NaOH (~0.5 л), дистиллированной H₂O (~2 л), 1%-ным раствором HCl (~0.5 л), далее дистиллированной водой до отсутствия ионов Cl⁻ в промывных водах. Определение хлорид-иона проводили титрометрическим методом с азотнокислой ртутью [30]. На конечной стадии препараты обрабатывали спиртом и ацетоном для удаления лишайниковых веществ, а затем высушивали в термостате с CaCl₂ до постоянной массы при 55–60°C. Оценку степени очистки изолированных клеточных стенок от внутриклеточных структур проводили описанным ранее способом [29, 31], используя флуоресцентную микроскопию (микроскоп AxioPlan 2 imaging MOT, “Carl Zeiss”, Германия). В выделенных клеточных стенках отсутствовали внутриклеточные структуры, а в препаратах полностью сохранялась архитектура клеток таллома.

Содержание аминокрупп. Количество аминокрупп в полимерном матриксе клеточных стенок определяли методом неводного титрования в уксусной кислоте [32]. Навеску сухого растертого препарата клеточных стенок (20 мг) заливали 7 мл 10 мМ раствора хлорной кислоты в ледяной уксусной кислоте. По истечении 2 сут образцы отделяли от раствора. До и после контакта с клеточными стенками раствор титровали 10 мМ раствором бифталата калия в ледяной уксусной кислоте в присутствии индикатора кристаллического фиолетового. Содержание свободных аминокрупп (N_{NH_2}) определяли по формуле [32]:

$$N_{NH_2} = \frac{(V_{исх} - V_{кон})KV_{общ}}{V_a g}, \quad (1)$$

где $V_{исх}$ и $V_{кон}$ – количество бифталата калия, пошедшее на титрование исходного и конечного (после контакта с препаратами) раствора, мл; K – нормальность бифталата калия, мМ; V_a – количество раствора, взятого для титрования, мл; $V_{общ}$ – общий объем раствора, которым заливали навеску образца, мл; g – навеска образца, г.

Определение элементов. Элементный анализ таллома лишайника и выделенных из него клеточных стенок и хитин-глюкановых комплексов определяли на полуавтоматическом CHNS анализаторе (“Perkin Elmer” Швейцария).

Таблица 1. Массовая доля клеточной стенки (КС, %) и хитин-глюкановых комплексов (ХГК, %) в различных зонах таллома лишайника *P. aphthosa**

Зона таллома	КС, %	ХГК, %
Апикальная	44 ± 1	4.3 ± 0.1
Медиальная	49 ± 11	6.8 ± 0.6
Базальная	55 ± 2	15.1 ± 1.7

* Расчеты проведены на единицу сухой массы таллома.

Таблица 2. Общее содержание азота (%) в разных частях таллома *P. aphthosa* (Т) и изолированных из него препаратах клеточных стенок (КС) и хитин-глюкановых комплексов (ХГК)*

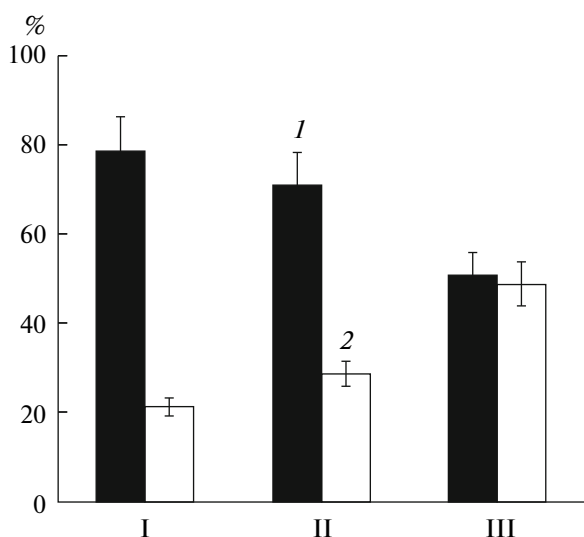
Зона таллома	Т	КС	ХГК
Апикальная	3.31 ± 0.3	3.43 ± 0.3	5.4 ± 0.1
Медиальная	3.03 ± 0.4	3.29 ± 0.1	4.9 ± 0.4
Базальная	2.81 ± 0.3	2.92 ± 0.2	3.5 ± 0.2

* Приведены средние значения 5 повторностей и их стандартные отклонения.

Статистическая обработка. Использовали редактор Excel 7.0. Приведены средние значения из 3–5 повторностей и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Лишайник *P. aphthosa* имеет толстую клеточную стенку, так как ее доля от сухой массы таллома составляет от 44 до 55% при переходе от апи-



Содержание (%) хитина (1) и глюкана (2) в хитин-глюкановых комплексах, выделенных из разных зон таллома (I–III) лишайника *P. aphthosa*. I – апикальная, II – медиальная, III – базальная.

кальной зоны к базальной (табл. 1). С возрастом увеличивалась и доля хитин-глюканового комплекса в клеточных стенках: в базальной зоне значение этого показателя более чем в 2 и 3 раза выше по сравнению с медиальной и апикальной зоной соответственно (табл. 1). Возрастное содержание хитин-глюканового комплекса от апикальной к базальной зоне у *P. aphthosa* может быть связано с функционированием цефалодиев, участвующих в азотном обмене лишайников [22, 33].

В клеточных стенках и хитин-глюкановых комплексах лишайника содержание азота зависит от возраста таллома (табл. 2). Однако в базальной и апикальной зонах клеточных стенок различие в этом показателе не превышает 5–15%, тогда как в этих же зонах хитин-глюкановых комплексов достигает 65%. Разное содержание азота в комплексах разновозрастных частей таллома указывает на различное соотношение в них хитина и глюканов. Расчеты показывают, что наибольшей массовой долей хитина характеризуется хитин-глюкановый комплекс апикальной зоны, где этот показатель достигал 70% (рисунок). В базальной зоне содержание хитина было почти вдвое меньше, чем в молодых частях таллома. Таким образом, у *P. aphthosa* с возрастом в хитин-глюкановом комплексе клеточной стенки массовая доля хитина уменьшалась, а глюканов увеличивалась. Следует отметить, что у *P. aphthosa* во всех частях таллома содержание хитина в комплексе более чем в 10 раз выше, чем у мицелиального гриба *Coprinus sterquilinus* [21] и приблизительно соответствует таковому у *Armillariella mellea* (класс Basidiomycetes) и у *Morchella esculenta* (класс Ascomycetes) [20].

Преобладание хитина в составе хитин-глюканового комплекса апикальной зоны *P. aphthosa*, возможно, связано с процессами роста и формирования структуры таллома, ведущую роль в которых играет жесткость первичных клеточных стенок, напрямую зависящая от содержания в них хитина [1]. Большое содержание глюкана в хитин-глюкановом комплексе базальной зоны, где преобладают процессы структурной деградации таллома, может свидетельствовать о разрыхлении вторичной клеточной стенки и об ослаблении ее структурных функций. Можно предположить, что уменьшение доли хитина и увеличение доли глюкана в хитин-глюкановом комплексе приводит к формированию в базальной зоне более массивной клеточной стенки.

Важной характеристикой хитин-глюканового комплекса является количество деацетилированных аминогрупп. Ранее для их определения использовали ИК-спектроскопию [34], результаты которой в значительной мере зависят от подготовки пробы. Нами разработана методика функционального анализа хитин-глюкановых комплексов на присутствие в них свободных аминогрупп, ос-

Таблица 3. Содержание свободных аминогрупп (N_{NH_2}), общего азота (N) и доля свободных аминогрупп ($\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$) в хитине, хитозане и альбумине*

Образец	N_{NH_2}	N	$\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$
Хитин	1295 ± 84	5057 ± 50	27
Хитозан	680 ± 33	650 ± 25	104
Альбумин	1330 ± 100	11 500	11

* N_{NH_2} и N выражены в микромолях азота на 1 г сухой массы образца, $\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$, %. N – рассчитано по данным элементного анализа в соответствии с формулой $N = \frac{N(\%)}{1.4}$. Приведены средние значения трех независимых опытов и их стандартные отклонения.

нованная на методе неводного титрования, принцип которого для низкомолекулярных соединений описан в работе [35].

Отработку методики с целью ее применения к полученным высокомолекулярным препаратам проводили на образцах хитина (“ICN”, США) и хитозана (“ICN”) с известным содержанием азота и свободных аминогрупп (табл. 3), а также альбумина. Контрольные измерения количества аминогрупп в образцах показали, что избранный ме-

тод анализа может быть применен к шитым структурам. Для хитозана данные, полученные методом неводного титрования, и результаты элементного анализа полностью согласуются между собой (табл. 3). Этот вывод также подтверждают данные анализа хитина и альбумина. Установлено, что доля свободных аминогрупп в первом составляет 27, а во втором – 11% (табл. 3). Результаты анализа хитина на содержание неацетилованных аминогрупп полностью соответствуют данным других исследователей [9], а результаты анализа альбумина – представлениям о содержании свободных аминогрупп в белках (~10%), которые принадлежат заряженным остаткам аргинина и лизина [36, 37].

Результаты неводного титрования препаратов клеточных стенок свидетельствуют о том, что они содержат от 0.36 до 0.66 мМ аминогрупп на 1 г сухой массы клеточных стенок в зависимости от зоны таллома, т.е. от 14 до 31% от общего количества азота в экстраклеточном компартменте ($\frac{N_{NH_2}}{N_{kc}} \times 100$, табл. 4) соответственно. Эти резуль-

таты показывают, что в полимерной структуре клеточной стенки *P. aphthosa*, помимо структурных белков, присутствуют и другие азотсодержащие полимеры, имеющие свободные аминогруппы. Известно, что содержание последних в белках растительных организмов составляет не более 10% [36, 37]. В соответствии с данными литературы о составе клеточной стенки лишайников и на основании полученных результатов можно пола-

Таблица 4. Содержание свободных аминогрупп (N_{NH_2}), общего азота (N) и доля свободных аминогрупп ($\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$) в препаратах клеточных стенок и хитин-глюкановых комплексов, выделенных из разных зон таллома *P. aphthosa**

Зона таллома	Клеточная стенка			Хитин-глюкановый комплекс		
	N_{NH_2}	N	$\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$	N_{NH_2}	N	$\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$
Апикальная	355 ± 76	2450	14	1266 ± 41	3857	33
Медиальная	406 ± 58	2350	17	1307 ± 10	3500	37
Базальная	655 ± 92	2086	31	1354 ± 31	2500	54

* N_{NH_2} и N выражены в микромолях азота на 1 г сухой массы образца, $\frac{N_{NH_2}}{N} \times 100$, %. N – рассчитано по данным элементного анализа в соответствии с формулой $N = \frac{N(\%)}{1.4}$. Приведены средние значения трех независимых опытов и их стандартные отклонения.

гать, что у *P. aphthosa* отличные от белков полимеры оболочки являются хитин-глюкановыми комплексами.

В изолированных из таллома *P. aphthosa* хитин-глюкановых комплексах содержание свободных аминокислот незначительно увеличивалось от апикальной к базальной зоне от 1.26 до 1.35 мМ на 1 г сухой массы хитин-глюканового комплекса соответственно, но степень деацетилирования этих комплексов резко различалась (табл. 4). В хитин-глюкановом комплексе апикальной зоны степень деацетилирования составляла 33%, тогда как комплекс базальной зоны содержал приблизительно равное количество свободных и ацетилированных аминокислот.

Предполагая, что изолированные хитин-глюкановые комплексы состоят только из хитина, хитозана и глюкана, используя данные табл. 4, рассчитано содержание углерода и водорода в них. Сопоставление расчетных данных (данные не приведены) с результатами элементного анализа показало, что показатели совпадают в пределах 3–8% относительной погрешности. Оценка дает основание предполагать, что в полученных препаратах отсутствует внутриклеточное содержимое и неструктурные компоненты клеточных стенок.

Таким образом, нами был выделен хитин-глюкановый комплекс из клеточных стенок лишайника *P. aphthosa*. Показано, что с возрастом доля хитин-глюканового комплекса в клеточных стенках увеличивалась, при этом массовая доля хитина больше в апикальной зоне, чем в базальной. Хитин-глюкановые комплексы из разных частей таллома отличались и по числу деацетилированных аминокислот. В базальной зоне их количество было почти в два раза больше, чем в апикальной. Рассмотренные методы выделения и анализа хитин-глюкановых комплексов могут быть использованы при изучении других лишайнизированных грибов для установления возможности их использования в качестве исходного сырья для получения хитинсодержащих комплексов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 04-04-49379-а и № 08-04-01398-а) и Федеральной целевой программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” по направлению “Клеточные технологии” (Государственный контракт №П-403).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варомова. М.: Наука, 2002. 368 с.
2. Нудьга Л.А., Ганичева С.И., Петрова В.А., Быстрова Е.С., Львова Е.Б., Галкин А.В., Петропавловский Г.А. // Журн. прикл. химии. 1997. Т. 70. № 2. С. 242–245.
3. Феофилова Е.П., Марьин А.П., Терешина В.М. // Прикл. биохимия и микробиология. 1994. Т. 30. № 1. С. 149–155.
4. Терешина В.М., Марьин А.И., Косяков В.Н., Козлов В.Н., Феофилова Е.П. // Прикл. биохимия и микробиология. 1999. Т. 35. № 4. С. 432–436.
5. Феофилова Е.П. // Микробиология. 1997. Т. 66. № 3. С. 302–309.
6. Ivshin V.P., Artamonova S.D., Ivshina T.N., Sharnina F.F. // Polymer Sci., Ser. B. 2007. V. 49. № 11–12. P. 305–310.
7. Феофилова Е.П. Клеточная стенка грибов. М.: Наука, 1983. 230 с.
8. Dahlman L., Näsholm T., Palmqvist K. // New Phytologist. 2002. V. 153. № 2. P. 307–315.
9. Ugrosov V.V., Artamonova S.D., Sharnina F.F., Ivshin V.P., Grunin L.Y., Kataeva L.I. // Colloid J. 2008. V. 70. № 6. P. 780–783.
10. Aguilar-Uscanga B., Francois J.M. // Lett. Appl. Microbiol. 2003. V. 37. № 3. P. 268–274.
11. Gooday G.W. The Growing Fungus. London: Chapman and Hall, 1995. P. 43–62.
12. Klis F.M., Boorsma A., De Grot P.W.J. // Yeast. 2006. V. 23. № 3. P. 185–202.
13. Гальбрайт Л.С. // Сорос. образоват. журн. 2001. № 1. С. 51–56.
14. Урьяш В.Ф., Кокурина Н.Ю. // Вестн. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. 2007. № 3. С. 98–104.
15. Дебриер Ж., Бабак В.Г. // Росс. хим. журн. 2008. № 1. С. 75–83.
16. Lipke P., Ovalle R. // J. Bacteriol. 1998. V. 180. № 15. P. 3735–3740.
17. Sietsma J.H., Wessels J.G.H. // J. Gen. Microbiol. 1981. V. 125. № 1. P. 209–212.
18. Leštan M., Pečavar A., Leštan D., Perdih A. // Amino Acids. 1993. V. 4. № 1–2. P. 169–176.
19. Шабрукова Н.В., Зябликова Т.А., Зайнетдинова Д.Р., Халитов Ф.Г., Гамаюрова В.С. // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. 2001. Т. 1. № 4. С. 1–4.
20. Ившина Т.Н., Артамонова С.Д., Ившин В.П., Шарнина Ф.Ф. // Прикл. биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 3. С. 348–353.
21. Koteček P., Raclavský V. // Folia Microbiol. 1999. V. 44. № 4. P. 397–400.
22. Palmqvist K. // New Phytologist. 2000. V. 148. P. 11–36.
23. Бязров Л.Г. Лишайники — индикаторы радиоактивного загрязнения. М.: КМК, 2005. 476 с.
24. Nieboer E., Richardson D.H.S., Tomassini F.D. // Bryologist. 1978. V. 81. № 2. P. 226–246.
25. Loppi S., Nelli L., Ancora S., Bargagli R. // Bryologist. 1997. V. 100. № 2. P. 251–253.

26. *Wösten H.A.B., Wessels J.G.H.* // *Mycoscience*. 1997. V. 38. P. 363–374.
27. *Феофилова Е.П., Терешина В.М., Меморская А.С.* // *Микробиология*. 1995. Т. 64. № 1. С. 27–31.
28. *Meuchik N.R., Yermakov I.P.* // *Plant and Soil*. 2001. V. 234. № 2. P. 181–193.
29. *Воробьев Д.С., Мейчик Н.Р., Лобакова Е.С., Матвеева Н.П., Ермаков И.П.* // *Микробиология*. 2009. Т. 78. № 5. С. 702–708.
30. Унифицированные методы анализа вод / Ред. Ю.Ю. Лурье. М.: Химия, 1973. 375 с.
31. *Meuchik N.R., Nikolaeva J.I., Yermakov I.P.* // *Plant and Soil*. 2005. V. 277. № 1–2. P. 163–174.
32. *Мейчик Н.Р., Николаева Ю.И., Ермаков И.П.* // *Биохимия*. 2009. Т. 74. № 8. С. 1145–1151.
33. *Schlarmann G., Peveling E., Tenberge K.* // *Bibliotheca Lichenologica*. 1990. V. 38. P. 395–409.
34. *Шарнина Ф.Ф., Ившина Т.Н., Ившин В.П.* // *Структура и динамика молекулярных систем*. 2003. Т. 10. № 2. С. 274–277.
35. *Черонис Н.Д., Ма Т.С.* *Микро- и полумикрометоды органического функционального анализа*. М.: Химия, 1973. 576 с.
36. *Gassab G.I.* // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1998. V. 49. P. 281–309.
37. *Gassab G.I., Varner J.E.* // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1988. V. 39. P. 321–353.

Chitin–Glucan Complex in Cell Walls of the *Peltigera aphthosa* Lichen

N. R. Meichik and D. V. Vorob'ev

Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

e-mail: meychik@mail.ru

Received July 5, 2011

Abstract—Cell walls and chitin–glucan complexes isolated from uneven-aged components of the thallus of the *Peltigera aphthosa* lichen were studied. The mass fraction of the cell wall and chitin–glucan complexes increased with age, but the content of nitrogen in these structures decreased with age. The basal area of the thallus was characterized by the largest mass fraction of the chitin–glucan complex from the dry mass of the thallus; the apical area, by the largest mass fraction of chitin in the complex. It was demonstrated that in *P. aphthosa*, the degree of deacetylation of chitin in the complex (depending on the age) was 33 and 54% in the apical and basal areas, respectively. The suggested method of functional analysis of chitin–glucan complexes for the presence of free amino groups in them can be used for studying other lichenified fungi.