

Экспериментальные подходы в лихенологии

Е.С.Лобакова

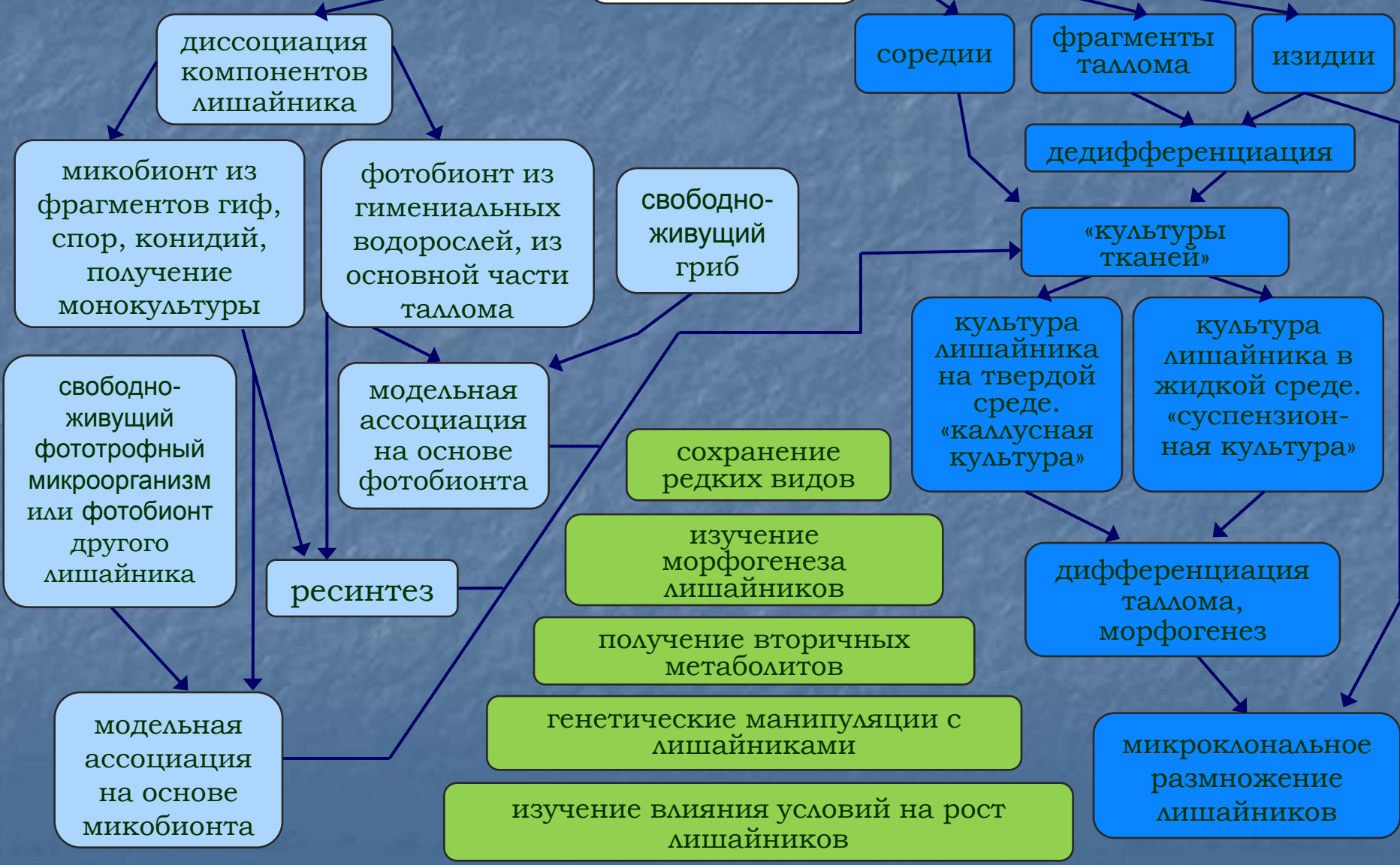
Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова

Экспериментальные подходы в лишенологии

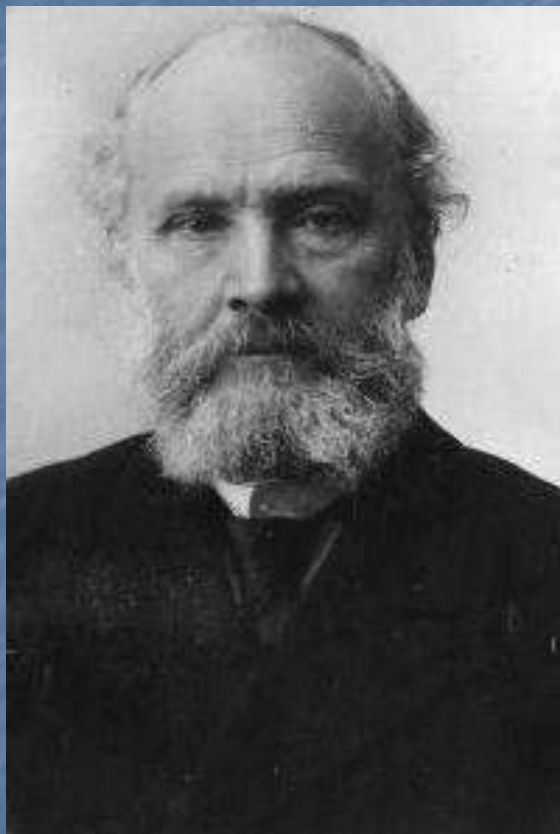
Реконструирование и моделирование лишайников

культивирование лишайников

целый лишайник



**Андрей Сергеевич
Фаминцын**

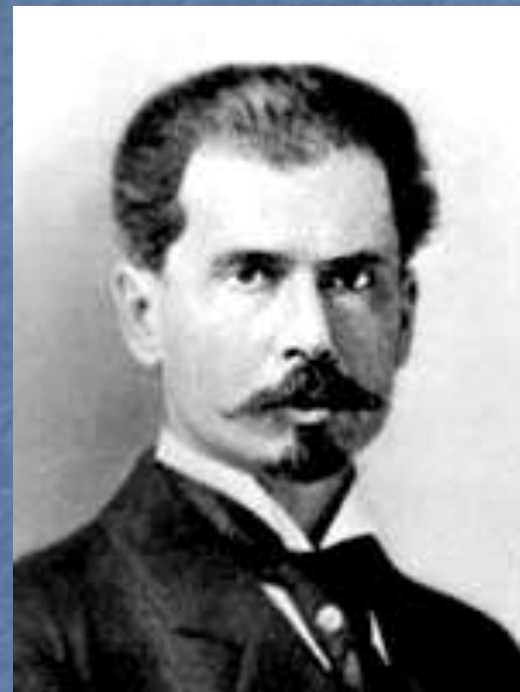


)

дипломники



**Осип Васильевич
Баранецкий**

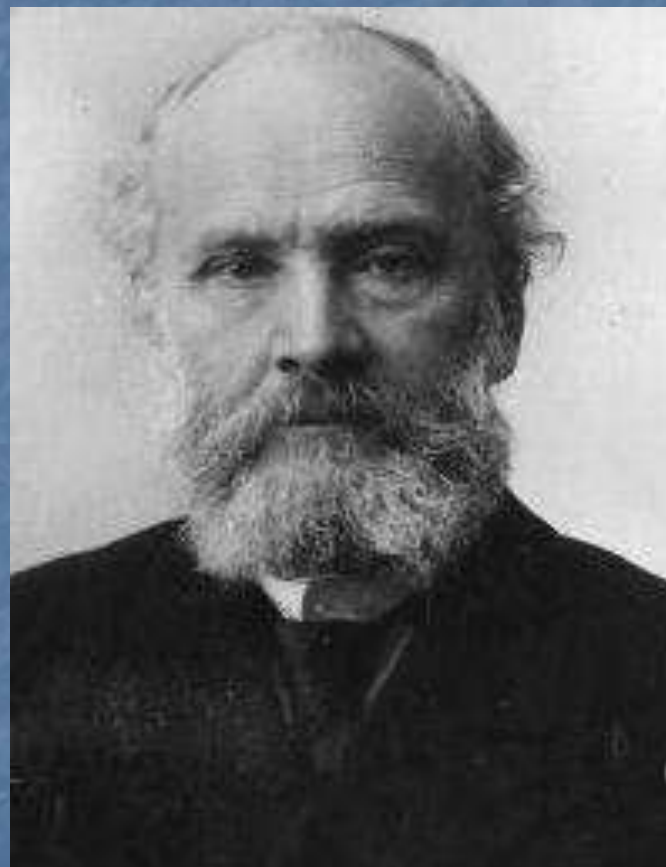


**Сергей Николаевич
Виноградский**

Основоположники теории симбиогенеза

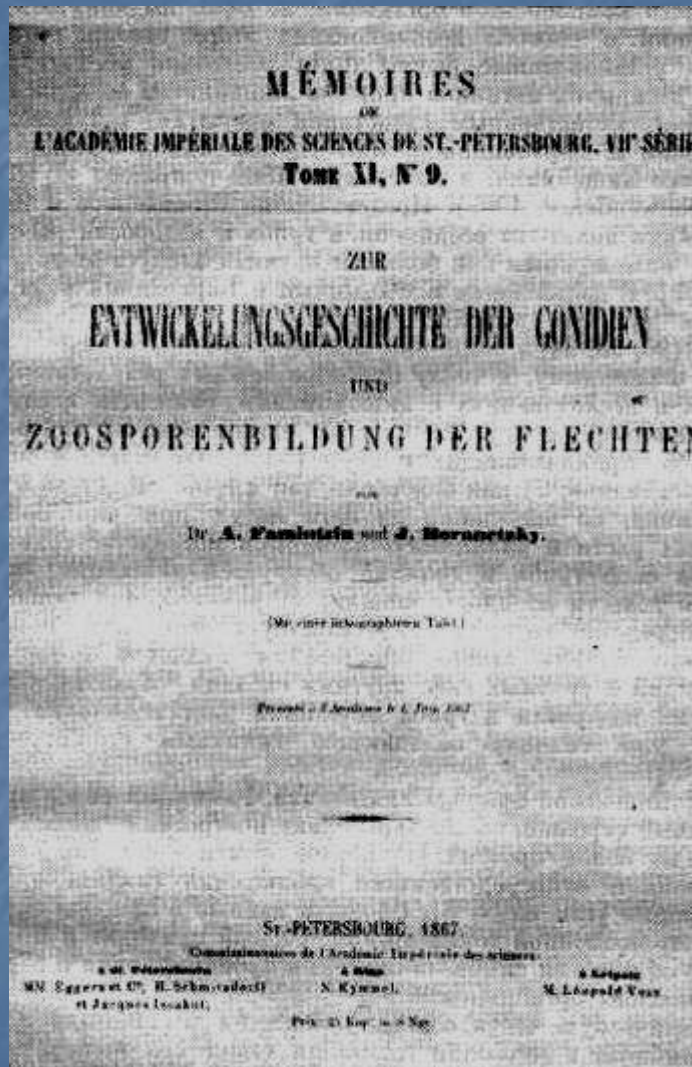


К.С. Мережковский

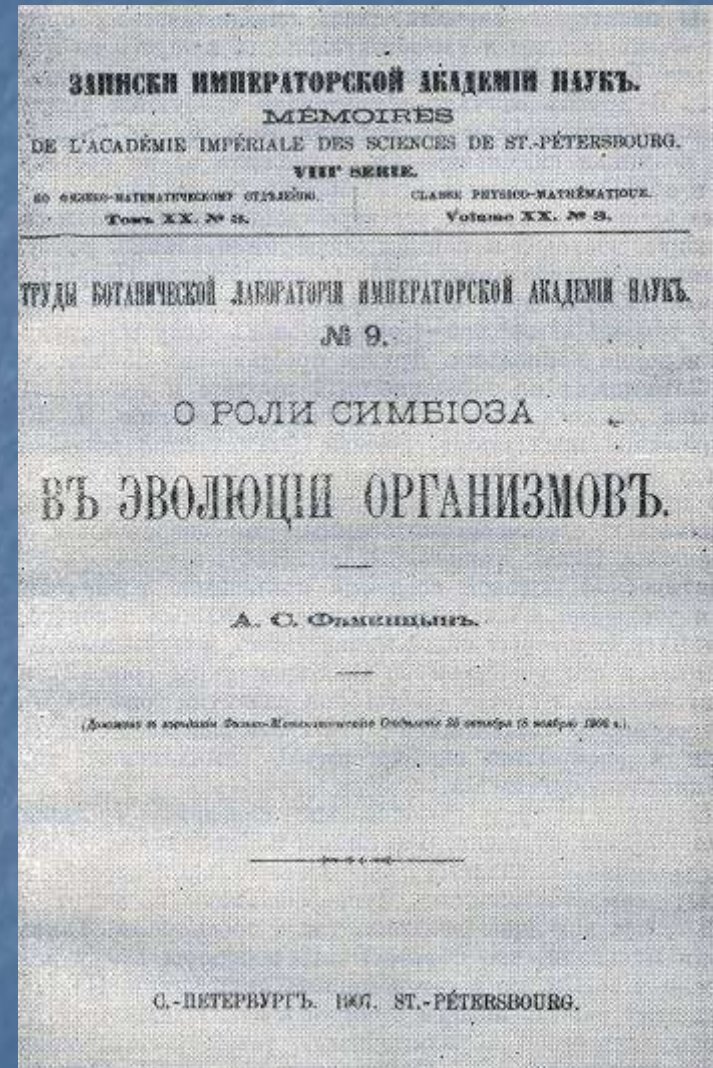


А.С. Фаминцын

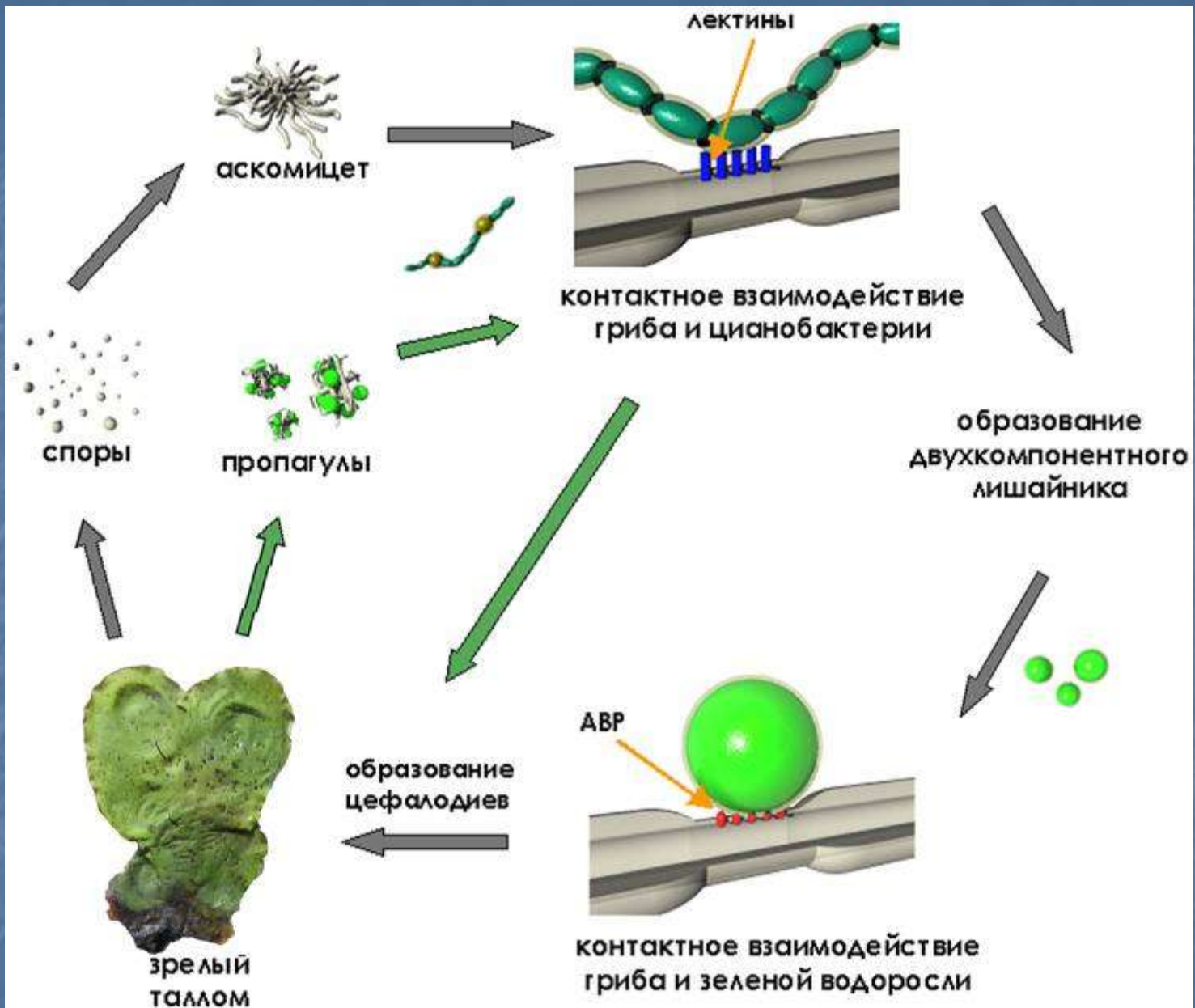
Андрей Сергеевич Фаминцын



Титульный лист работы А.С. Фаминцына и О.В. Баранецкого «К истории развития гонидий и зооспор у лишайников»

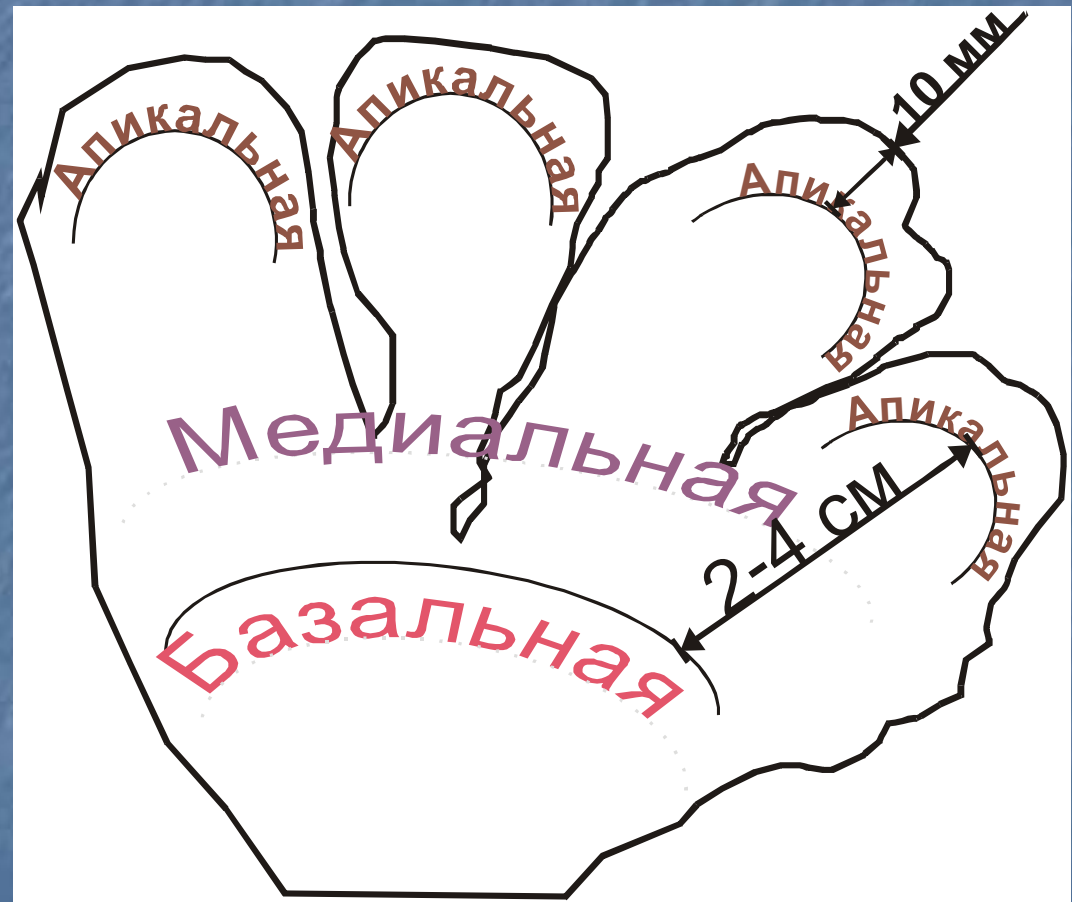


Титульный лист работы А.С. Фаминцына «О роли симбиоза в эволюции организмов» 1907

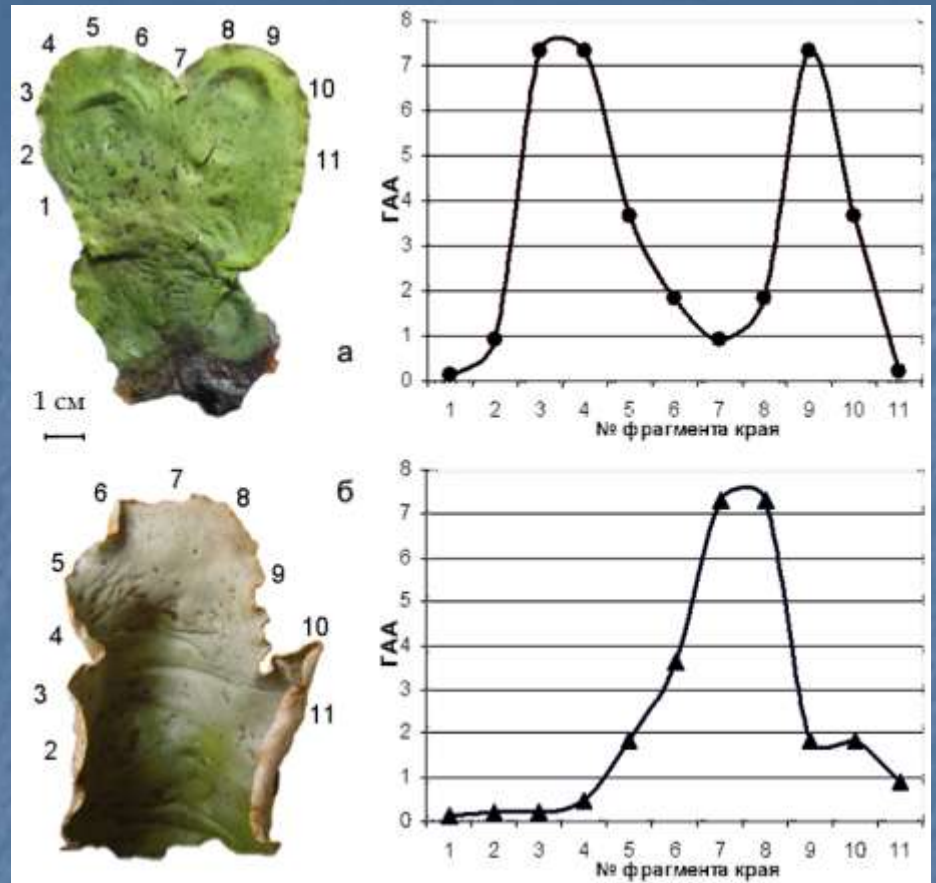
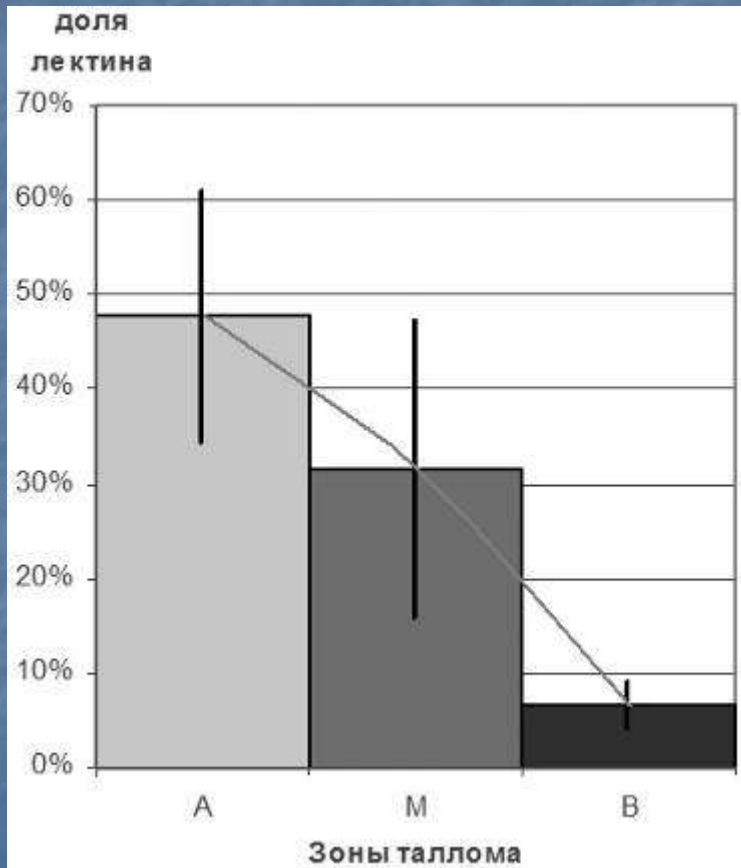


Этапы формирования трехкомпонентного лишайника

Схема трех зон таллома лишайника *P. arphthosa*

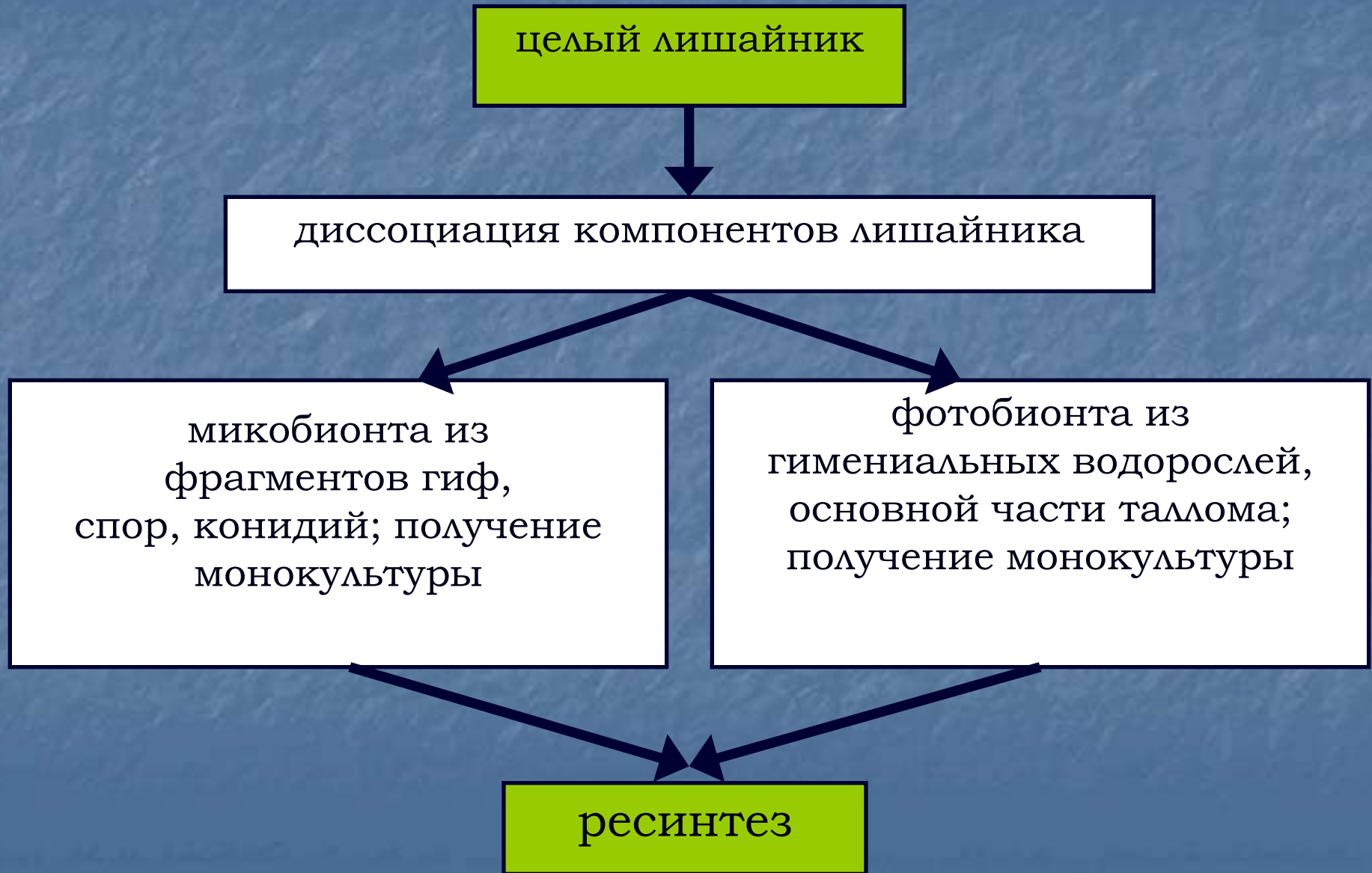


Доля лектина от общего белка в апикальной (А), медиальной (М) и базальной (В) зоне таллома лишайника *P. aphthosa*



Диаграммы гетерогенности гемагглютинирующей активности на апикальном краю таллома лишайника *P. aphthosa*: а – двулопастной, б – однолопастной участок таллома

Реконструирование лишайников

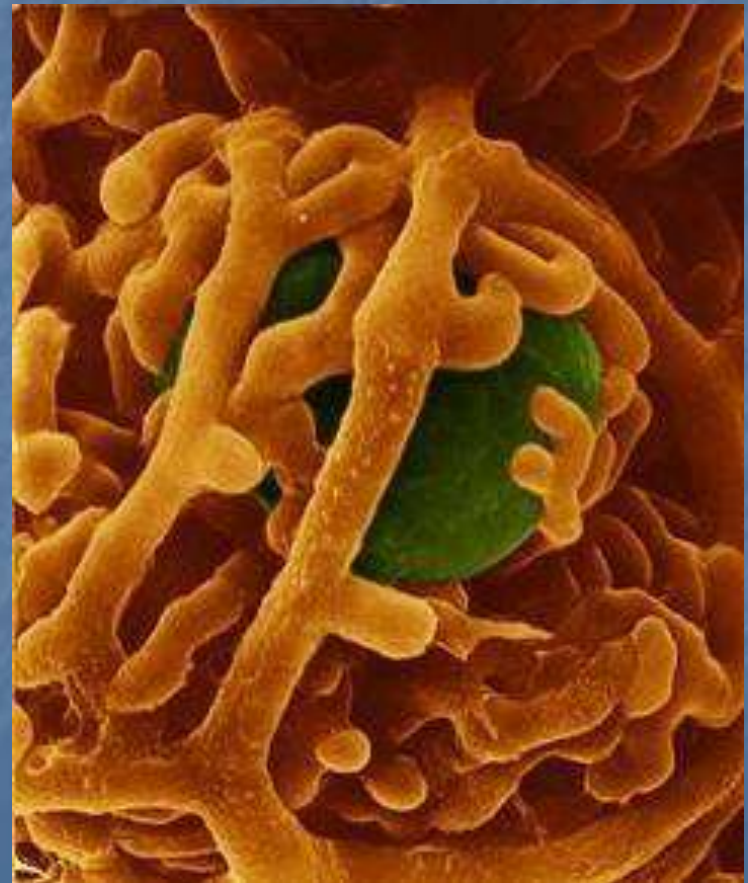


Реконструирование лишайников

1. Изучение морфогенеза лишайников

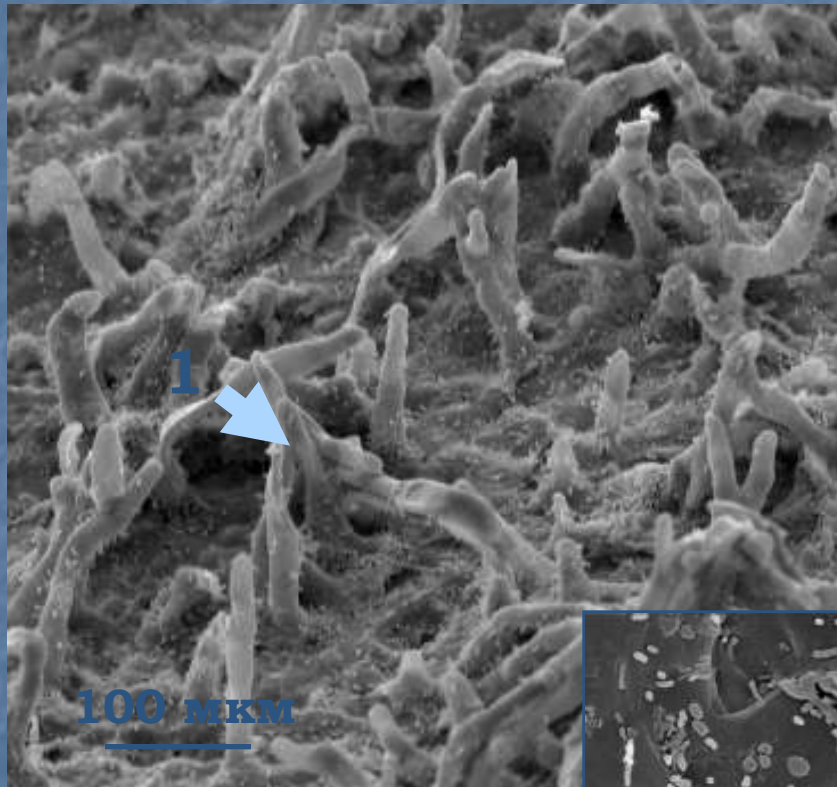
2. Выявлять специфичность и селективность взаимодействия симбионтов, их влияние друг на друга

3. Определять число симбионтов, образующих лишайник.

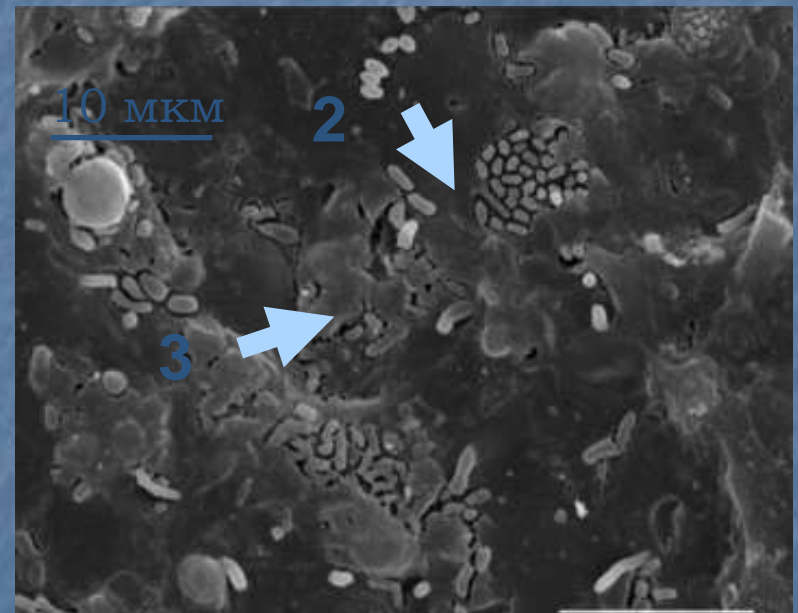


Особенности локализации микроорганизмов на поверхности талломов лишайников

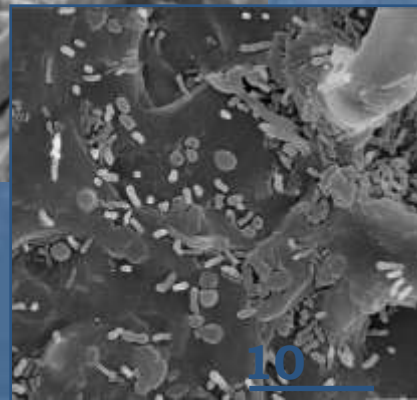
Поверхность апикальной части таллома *P. aphthosa*



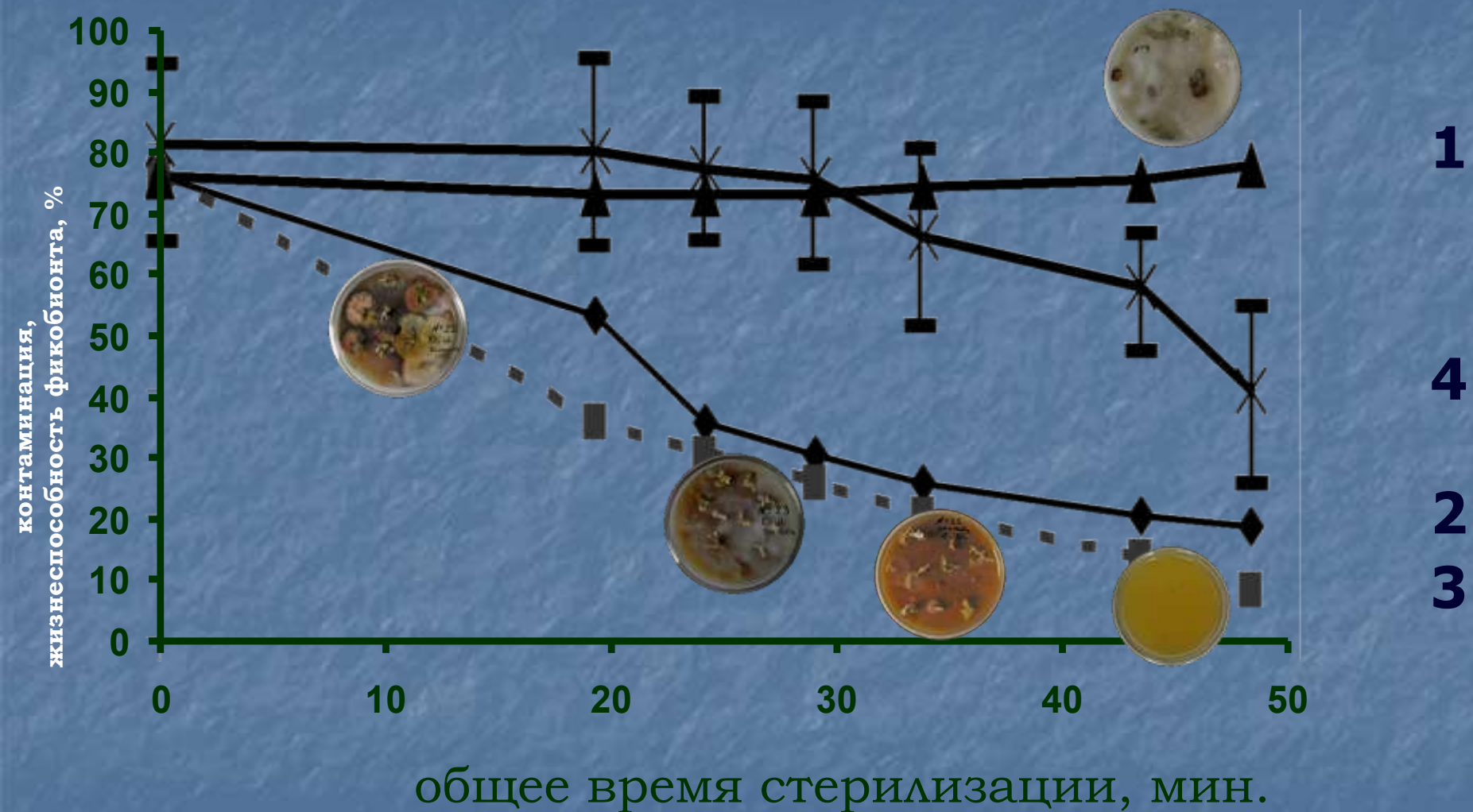
1 — гифы микобионта,
2 — микроколонии бактерий,
3 — слизистый матрикс.



Поверхность медиальной части таллома *P. aphthosa*

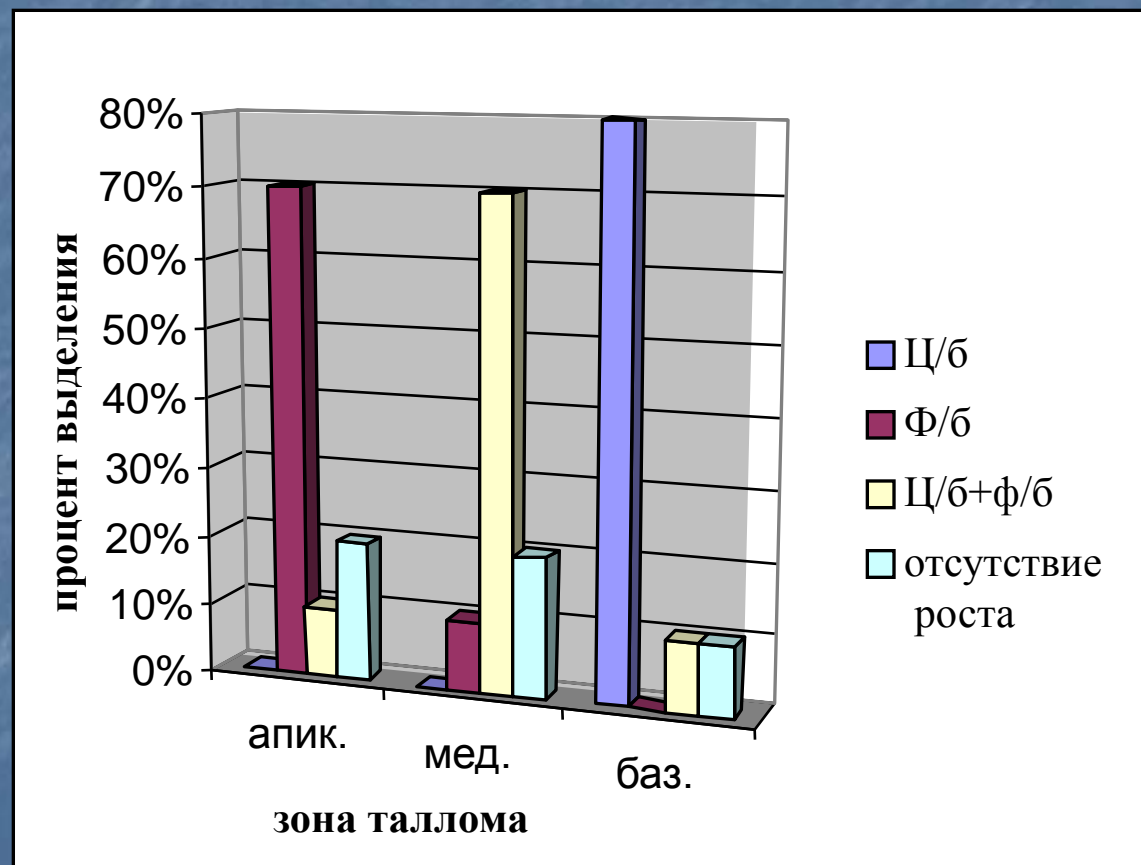


Результаты обработки «эксплантов» лишайника *C. islandica* стерилизующими агентами



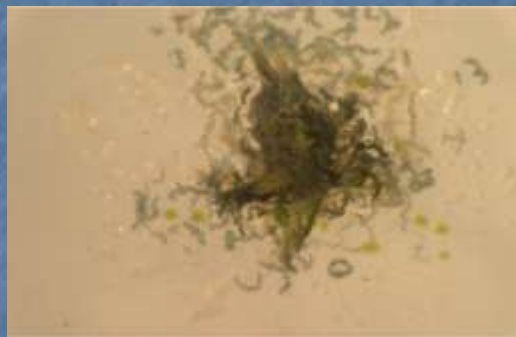
1 — стерилизация этанолом (96%), 2 — стерилизация H₂O₂ (3%),
3 — стерилизация этанол (96%) + H₂O₂ (3%), 4 — жизнеспособность фикобионта
(при варианте стерилизации 3)

Выделение циано- и фикобионта из апикальной, медиальной и базальной зон таллома лишайника *P. arphthosa*

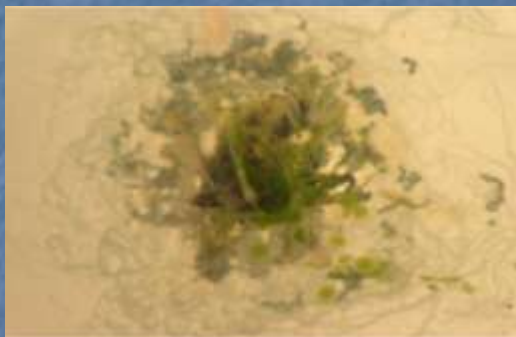


Прорастание фотобионтов лишайника из изолированного цефалодия (А), участка таллома с цефалодием (Б) и гомогенизированной проб из апикальной (1), медиальной (2) и базальной зон лишайника *P. aphthosa*.

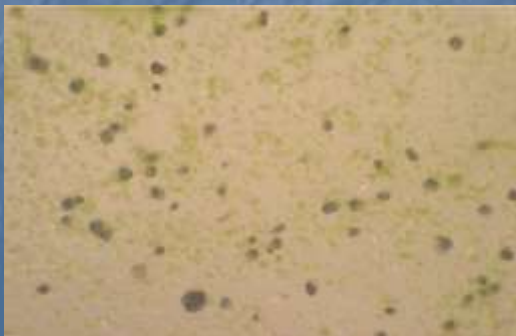
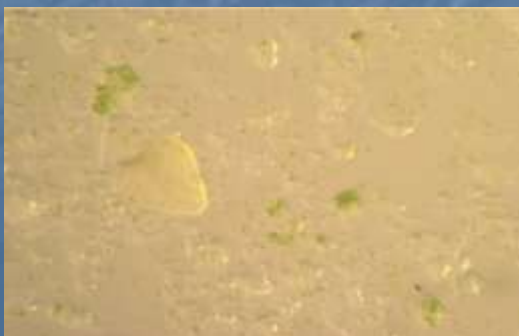
А



Б



В



1

2

3

Выделение фотобионтов

Первичный рост фико- и цианобионтов на искусственных средах

P. aphthosa

апикальная зона



базальная зона



1 — колонии фикобионта *Соссотуха* с. f. *peltegerinae*, 2 – трихомы цианобионта предположительно *Nostoc* sp.

N. arcticum

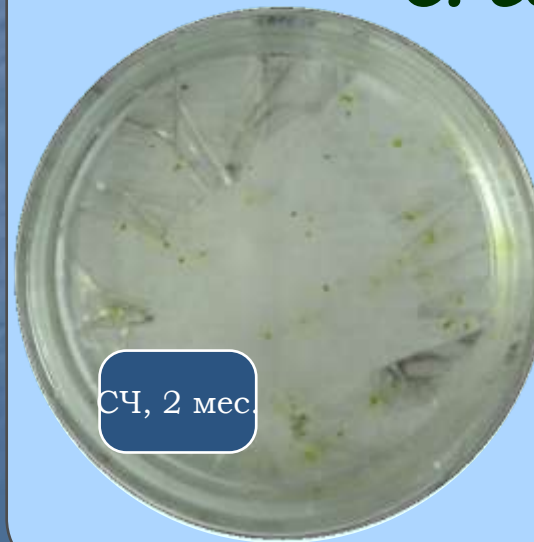
Первичный изолят
Соссотуха с. f.
peltegerinae



BG-11, 2 мес.

C. coniosraea

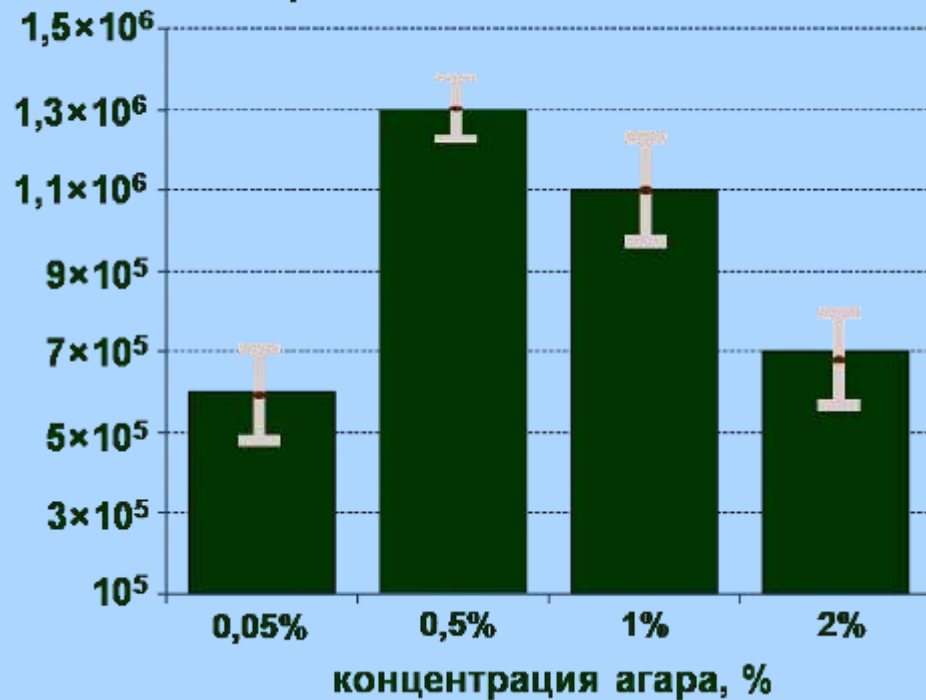
Культура
фикобионта
Trebouxia с. f.
cladonii
из соредий



СЧ, 2 мес.

Особенности роста изолятов фикобионтов

Число клеток фикобионта / 1 мл



Влияние концентрации агара в среде культивирования на скорость роста фикобионта *Trebouxia s. f. cladonii*

Рост изолята *Trebouxia s. f. cladonii* в среде с клеточно-структурированным материалом (КСМ) *Lemna minuscula*

(3 недели культивирования, среда BG-11)



Изучение особенностей дистантного и контактного взаимодействия симбионтов

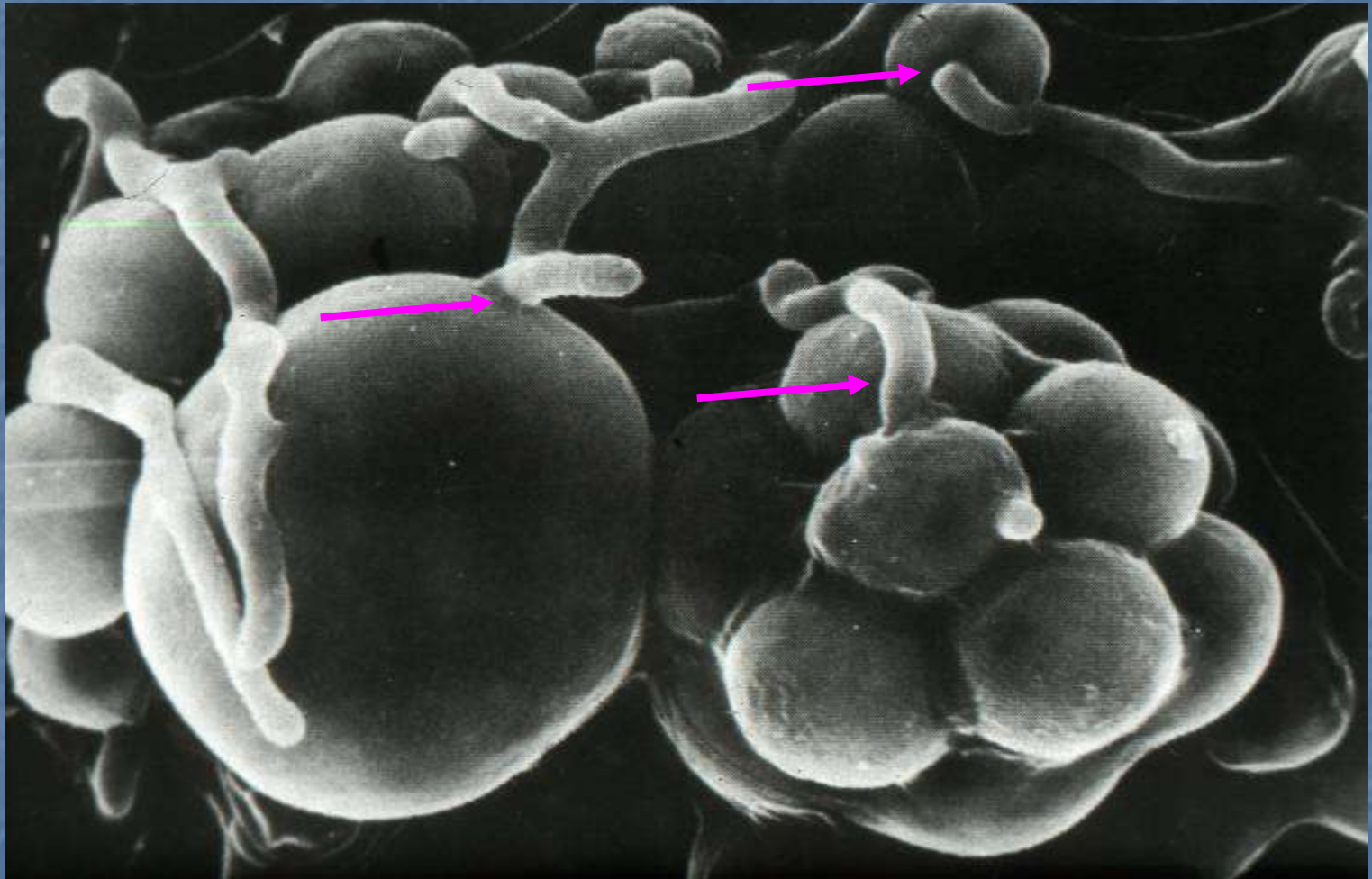
Cladonia cristatella



Специфичность и селективность взаимодействия партнеров в лишайниковом симбиозе

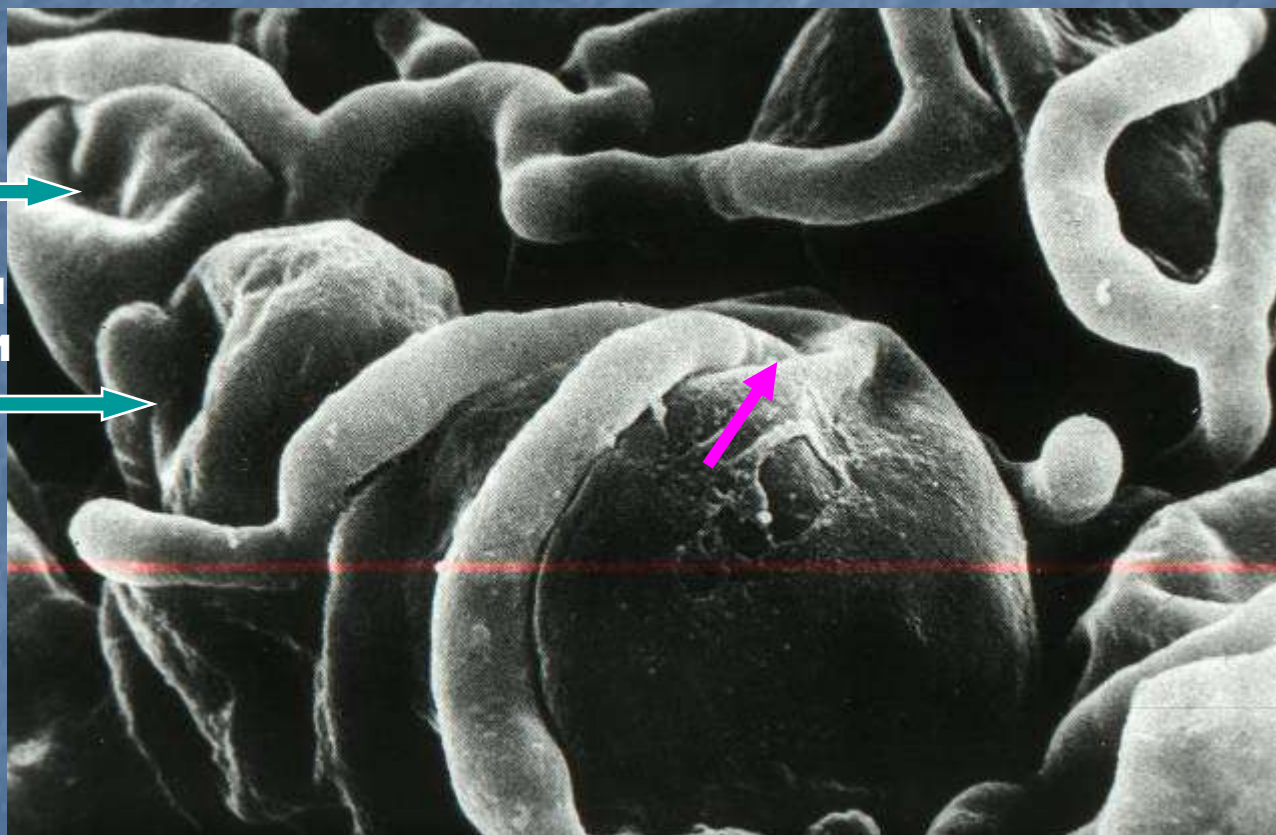
Фикобионт	вид лишайника	микобионт	результат
1. Nostoc	<i>Peltigera polydactyla</i>	<i>Cladonia cristatella</i>	-
2. Trebouxia	Cladoniaceae	- " -	+
3. Trebouxia	<i>Xanthoria parietina</i>	- " -	±
4. Pseudotrebouxia	<i>Xanthoria parietina</i>	- " -	-
5. Trebouxia	<i>Xanthoria aureola</i>	- " -	-
6. Pleurastrum terrestre	СИМБИОНТ ЛИШ.	- " -	-
7. Trebouxia gelatinosa	<i>Parmelia caperata</i>	- " -	-
8. Friedmannia israeliensis	свободноживущая водоросль	- " -	±

Контактное взаимодействие Взаимодействие гиф микобионта с компетентными штаммами микроводорослей



Контакт гиф потенциального микобионта с полисахаридным
внеклеточным матриксом компетентного фикобионта

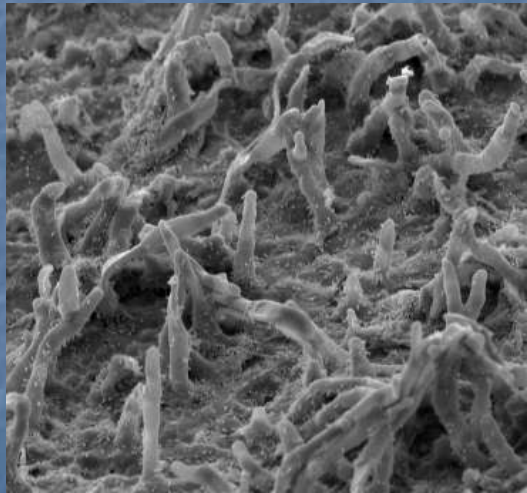
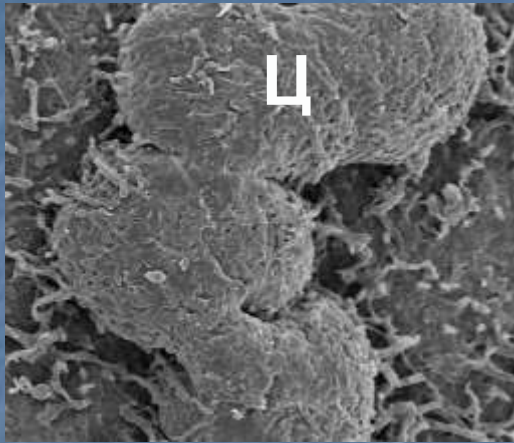
Особенности взаимодействия микобионта со свободноживущей водорослью *Friedmannia israeliensis*



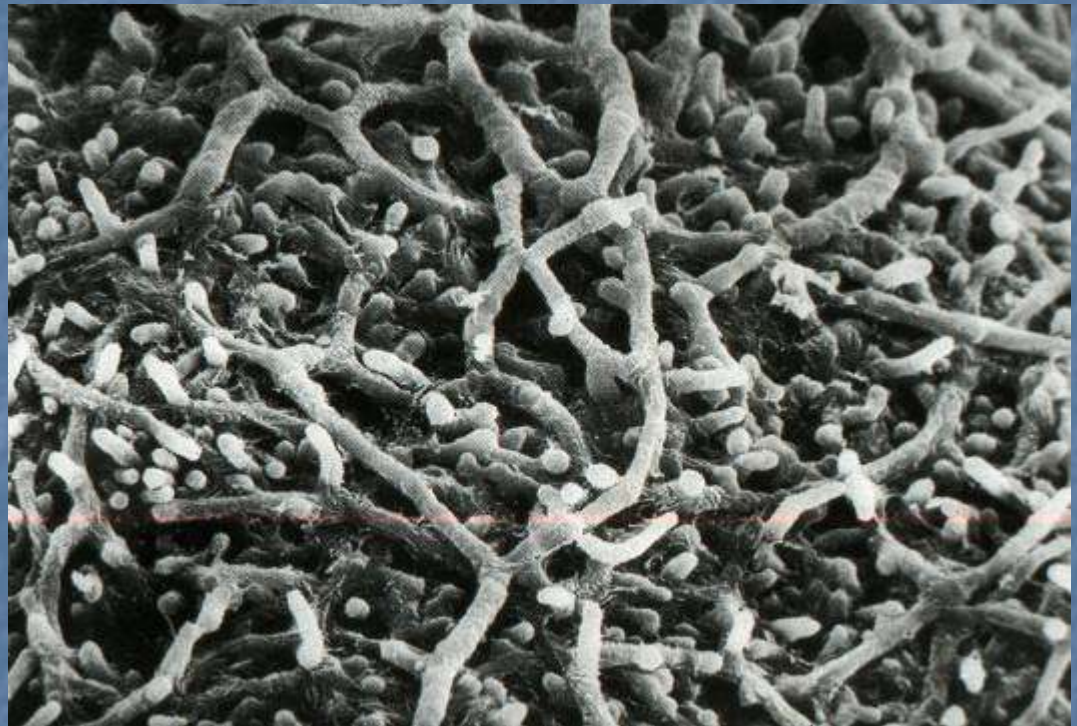
Мертвые клетки
микроводоросли

Отмирание и разрушение клеток микроводоросли, паразитизм микобионта

Стадии формирования симбиоза



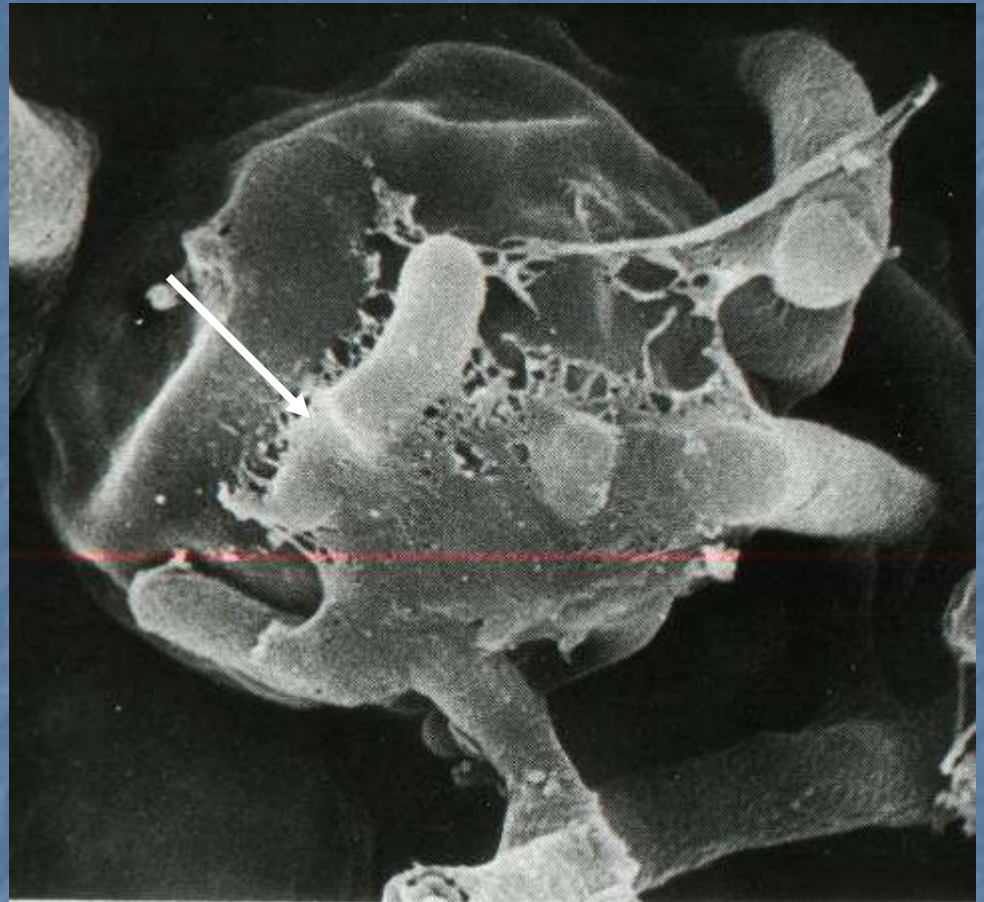
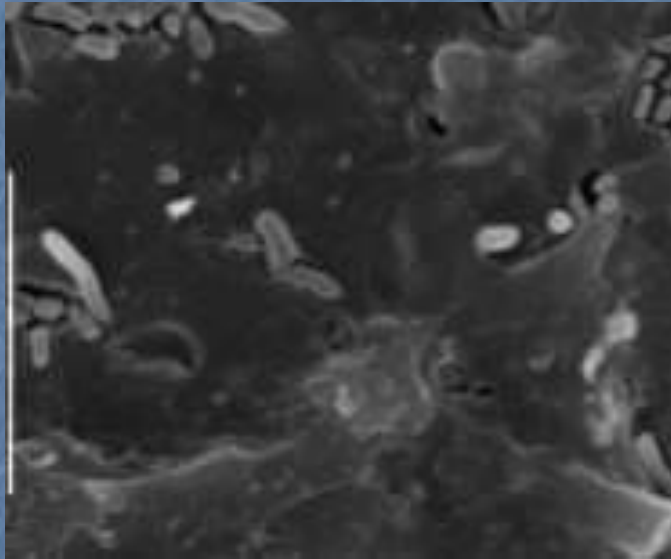
Ищущие гифы на
поверхности таллома
P. aphyta



Образование ищущих гиф на
поверхности слюды

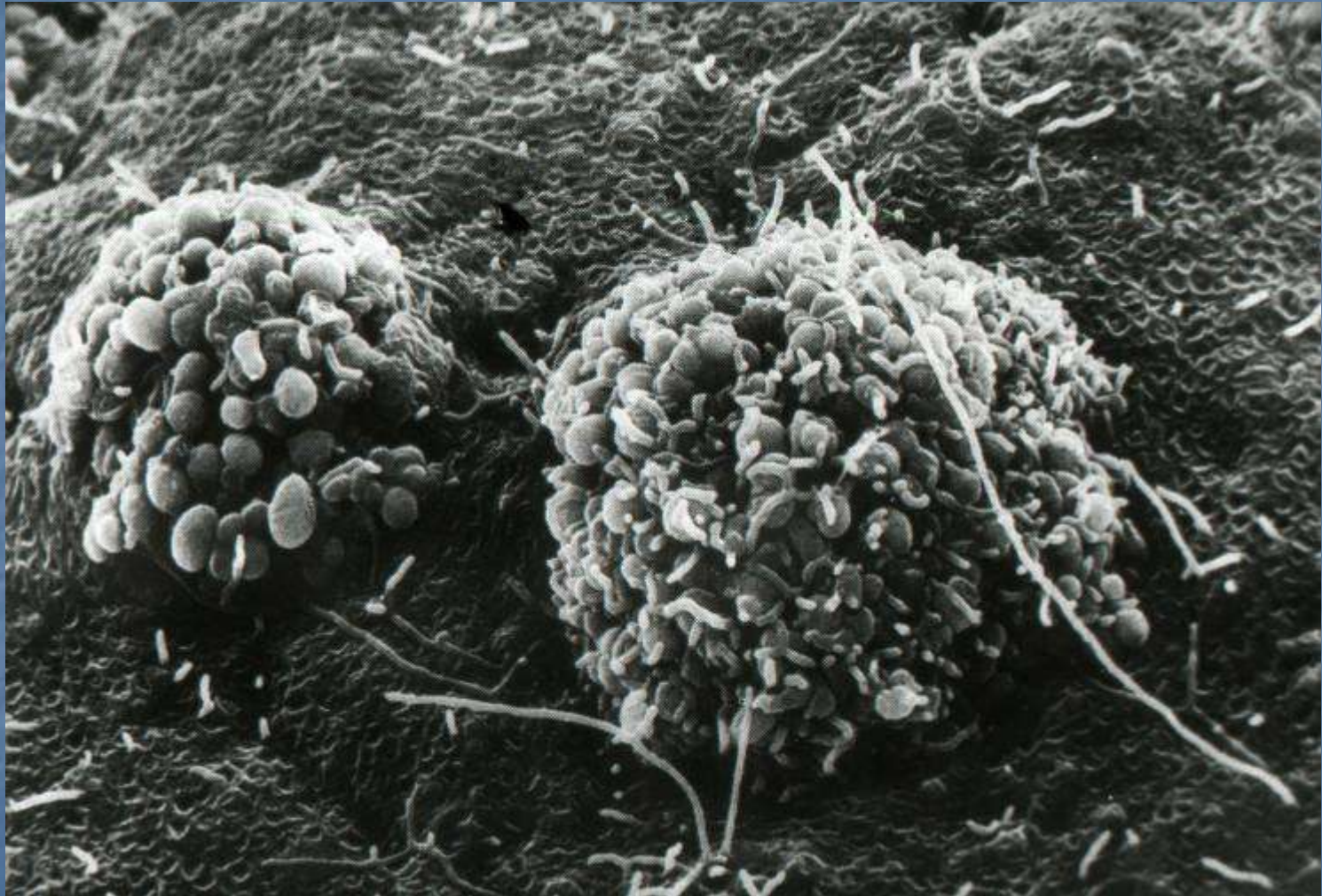
Стадии формирования симбиоза

Слизистый матрикс
на поверхности
таллома лишайника



Контакт гиф потенциального микобионта с
полисахаридным
внеклеточным матриксом фикобионта

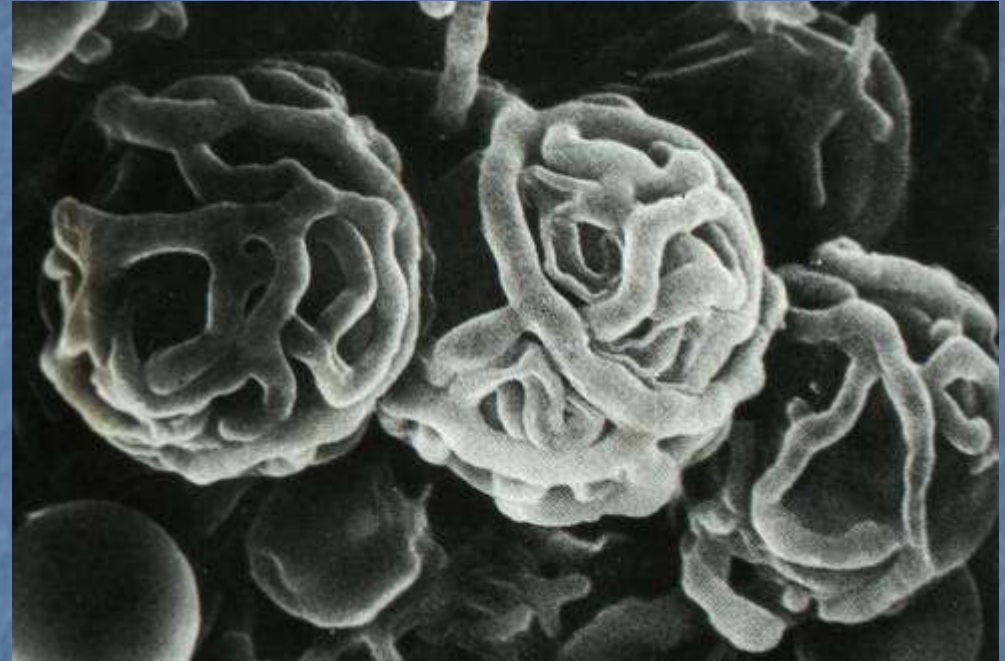
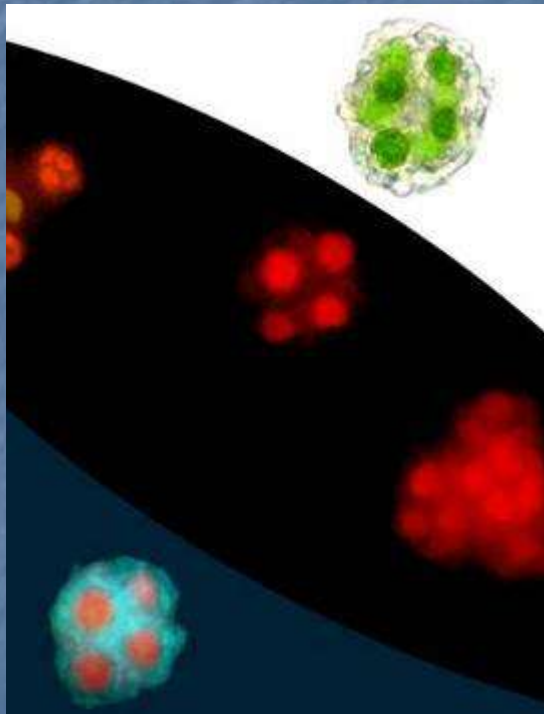
Стадии формирования симбиоза



Обрастание гифами гриба клеток микроводорослей

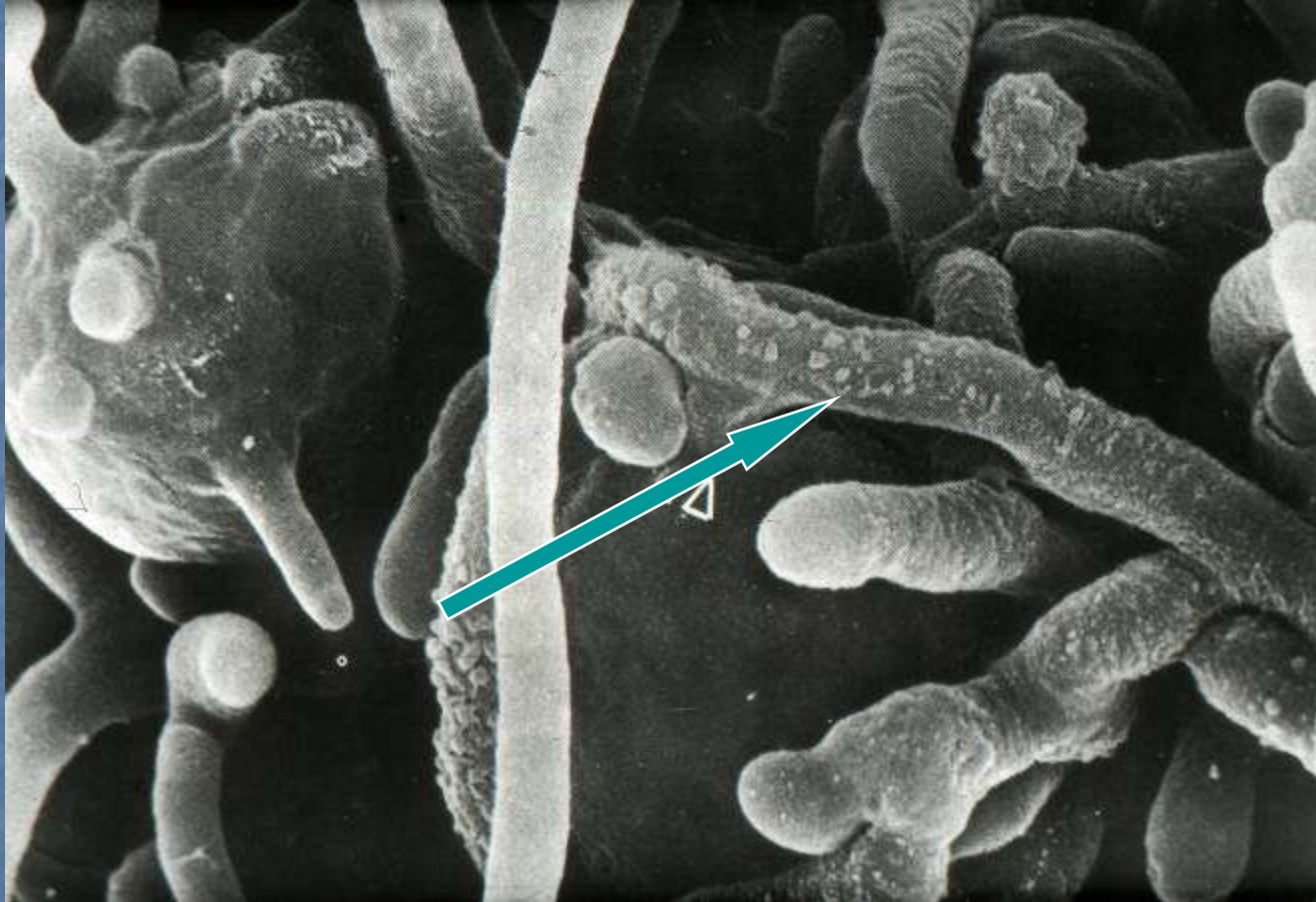
Стадии формирования симбиоза

Соредии лишайников



Оплетение гифами микобионта
клеток микроводорослей
и образование структур по типу
соредий

Стадии формирования симбиоза



Различные типы клеточных контактов в модельных ассоциациях
На гифах гриба отложение кристаллов лишайниковых веществ

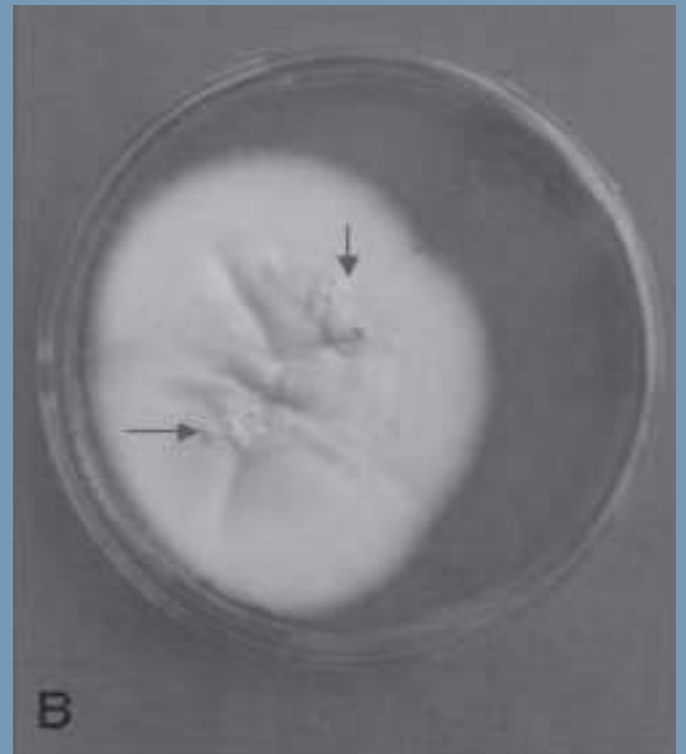
Культивирование лишайников

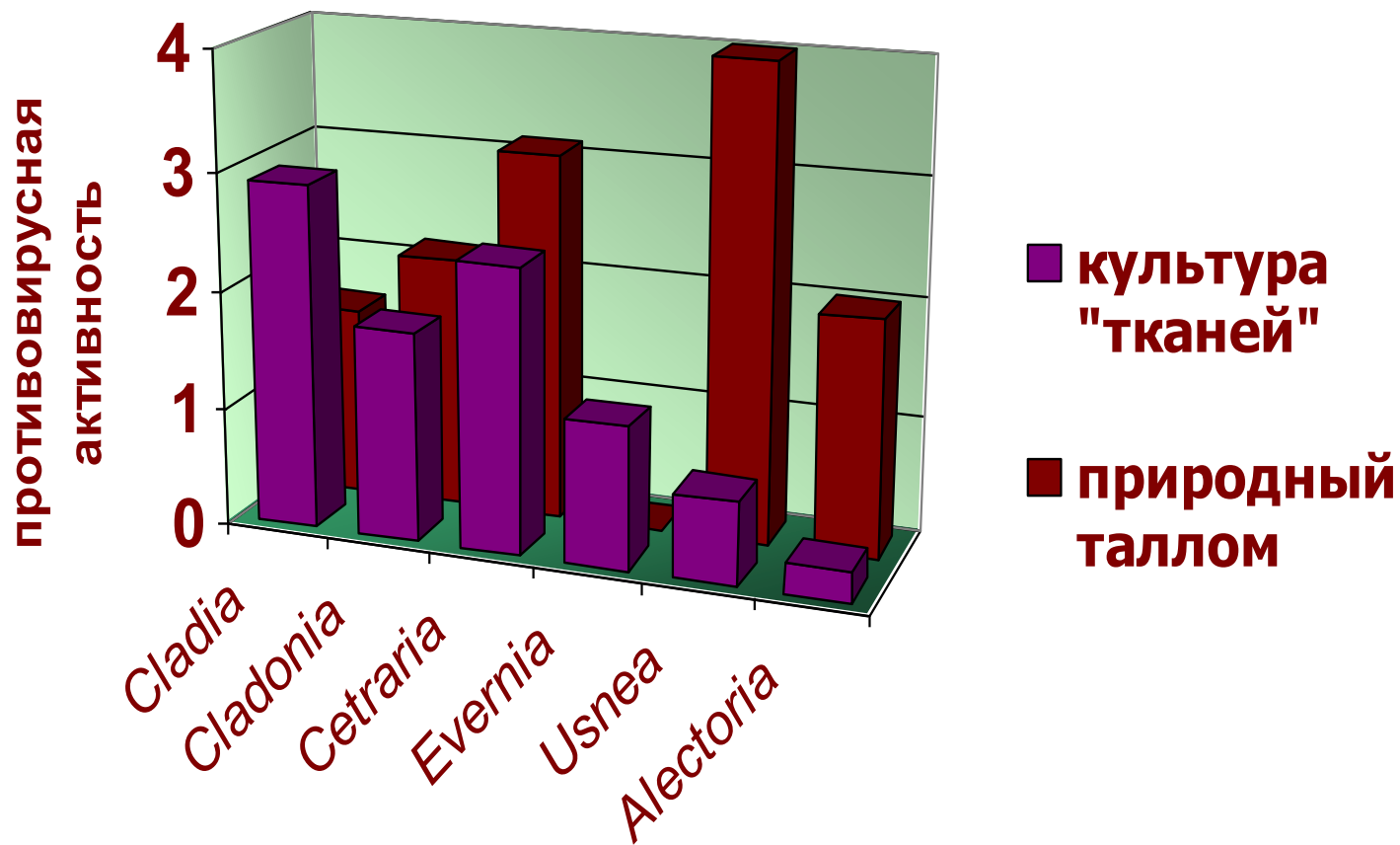


Культивирование лишайников

ПОЗВОЛЯЕТ:

1. Получать вторичные метаболиты,
2. Изучать морфогенез лишайников,
3. Проводить генетические манипуляции с лишайниками,
4. Исследовать влияние условий на рост лишайников,
5. Сохранять редкие виды.





Противовирусная активность экстрактов из талломов и «культур тканей» лишайников при использовании EBV-тест системы.

Характер взаимодействия базидиальных грибов и цианобактерии *Anabaena variabilis* в смешанных культурах

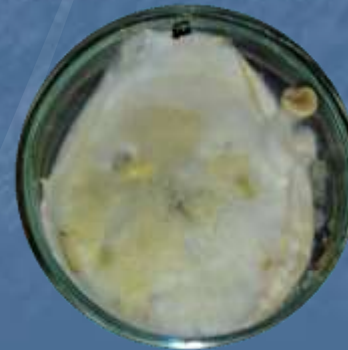
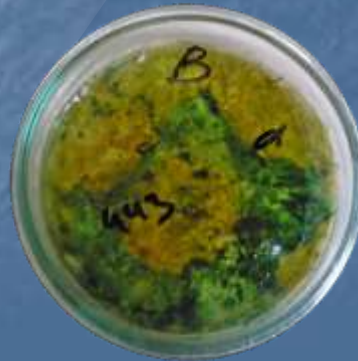
потенциальный и фотобионт	потенциальный микобионт				
	<i>Pleurotus citrino- pileatus</i>	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	<i>Pleurotus djamor</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i> (все штаммы)	<i>Agaricus bisporus</i> (все штаммы)
<i>Anabaena variabilis</i> ATCC 29413	- / - -	0 / 0	+ / 0	+ + / +	- - / - -

- - / - - — слева от косой черты
указано воздействие на грибной
компонент, справа – на
фототрофный компонент
- - - сильное негативное
воздействие (лизис культуры)
- - слабое негативное воздействие
(угнетение роста)
0 — отсутствие влияния
+ - слабое положительное
воздействие (индукция роста)
+ + - сильное положительное
воздействие (индукция
образования плодовых тел,
примордиев и др.)

препятствие
возрастному
лизису

образование
плодовых
тел

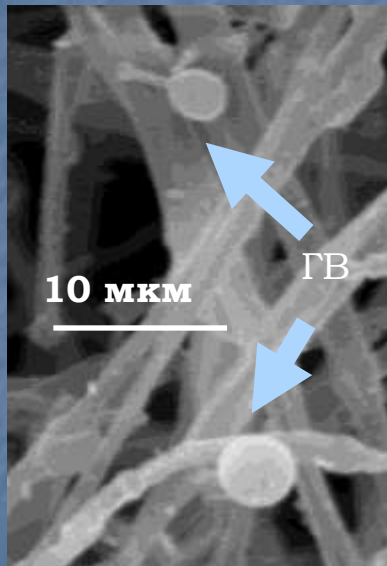
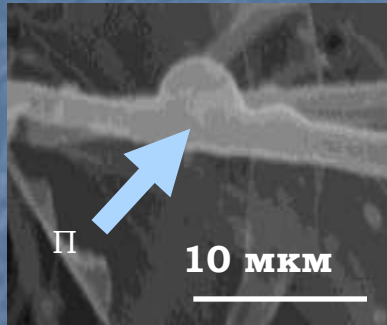
лизис
культуры



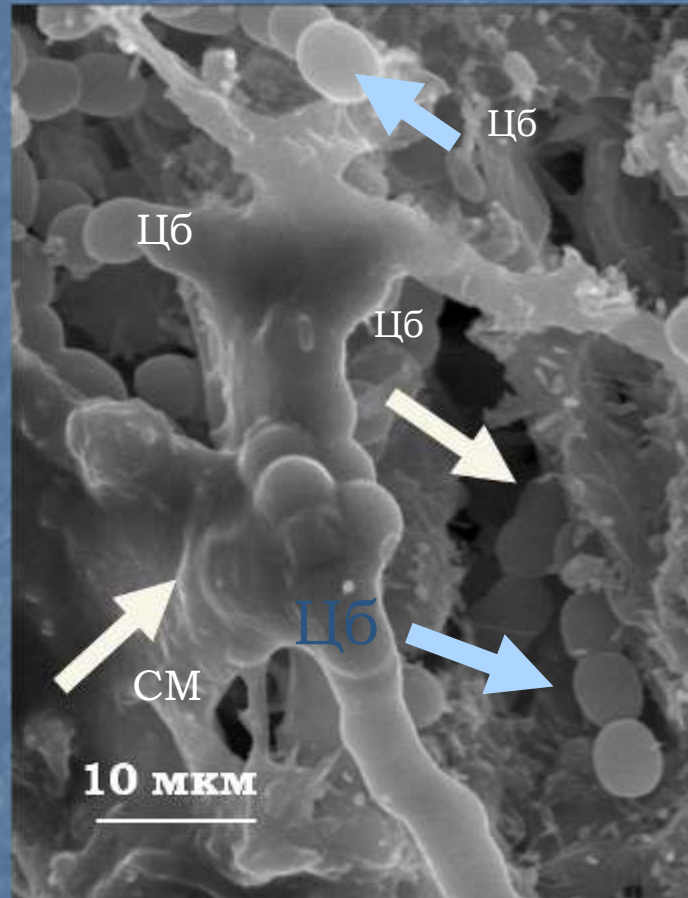
Культивирование 2 – 6 недель

Последовательные стадии развития модельной ассоциации *P. ostreatus* НК-35 и *A. variabilis*

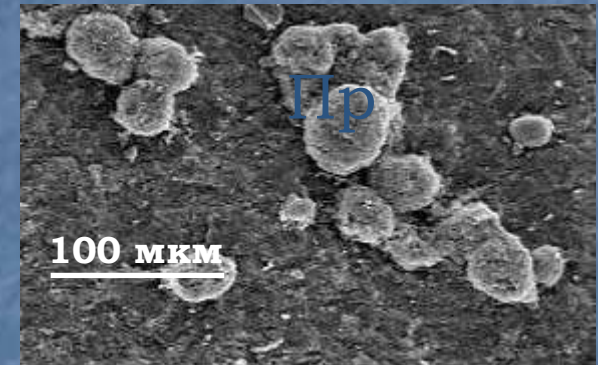
I



II



III



I – начальный этап развития ассоциации
II – формирование интегральной системы
III – образование примордиев

П – пряжки, ГВ – головчатые выросты,
Цб – трихомы цианобактерий,
СМ – слизистый матрикс, Пр – примордии

**Среднее число примордиев на чашку Петри
в модельных ассоциациях
Pleurotus spp.– *Trebouxia* sp.**

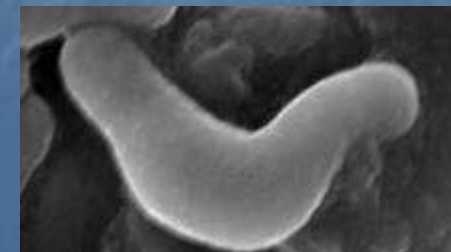
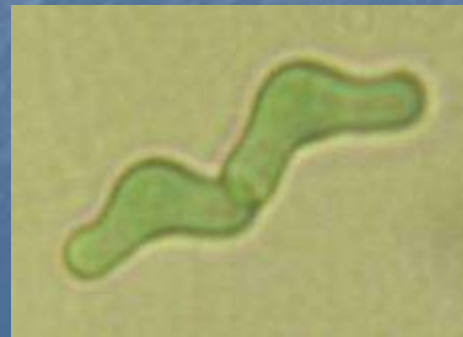
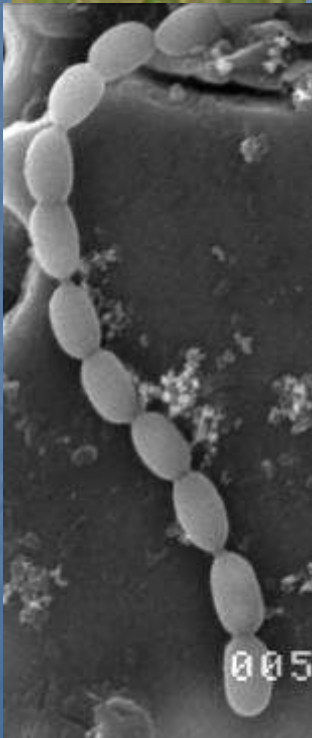
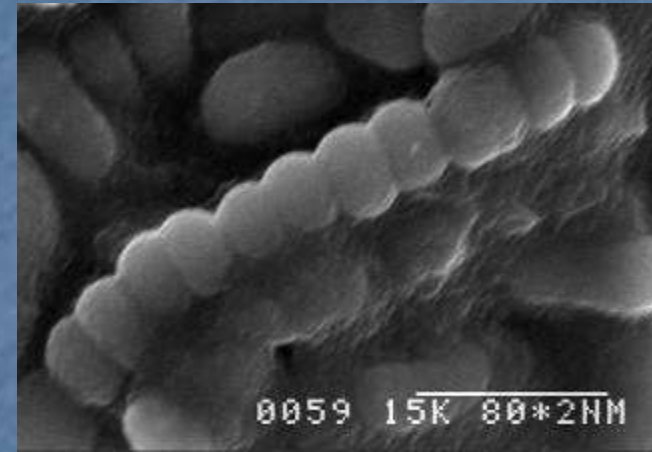
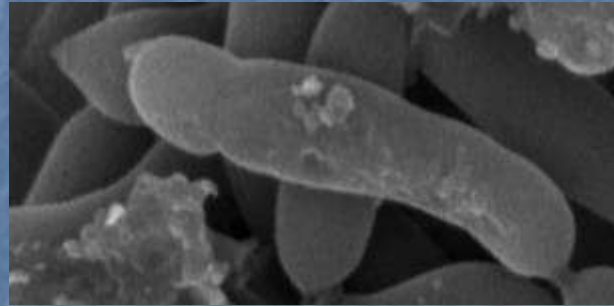
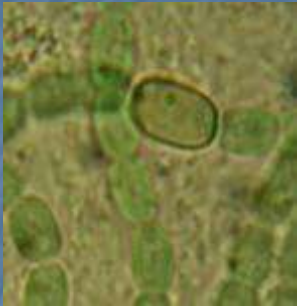
ВИД	параметр	К1	О
<i>P. ostreatus</i>	Зачатки примордиев	3,5±1,2	7,5±2,1
	Зрелые примордии	1±0,4	5±1,3
<i>P. pulmonarius</i>	Зачатки примордиев	5±2,3	15±3
	Зрелые примордии	5±1,6	15±2,8

СА, 50 мл/л, повторность 10-кратная. К1 – монокультура гриба О – опыт (добавлен 1 мл культуры *Trebouxia* sp., выращенной на среде BG-11).

Критерии ассоциативного взаимодействия актиномицетов и цианобактерий в экспериментальных системах

1. Наличие стимуляции роста стрептомицетов и цианобактерий в ассоциации по сравнению с монокультурами
2. Изменение физиологических свойств компонентов в ассоциации - усиление интенсивности накопления пигментов и увеличение азотфиксирующей активности цианобактерий в ассоциациях со стрептомицетами по сравнению с монокультурами
3. Изменение морфологических характеристик цианобактерий в ассоциациях со стрептомицетами
4. Изменение антимикробных свойств ассоциации по сравнению с составляющими ее компонентами - монокультурами стрептомицетов и цианобактерий

Морфологические формы клеток цианобактерии *A. variabilis* в ассоциации со стрептомицетами *S. rubiginosohelvolus* и *S. pluricoloescens*



в монокультуре

Антимикробные свойства монокультур стрептомицета *S. odorifer*, цианобактерии *O. terebriformis* и циано-актиномицетной ассоциации (радиус зоны лизиса тест-культуры, мм)

Тест-культуры	Стрептомицет	Цианобактерия	Ассоциация стрептомицета и цианобактерии
<i>Bacillus cereus</i>	5,5	0	8,5
<i>B. subtilis</i>	0	0	9
<i>Micrococcus agilis</i>	4,2	0	15,0
<i>M. luteus</i>	2	0	2,5
<i>Arthrobacter globiformis</i>	4,5	0	17,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	6,5
<i>Streptomyces prunicolor</i>	0	3,9	17,5
<i>S. xanthocidicus</i>	0	0	10
<i>Streptomyces sp.</i>	0	4,5	7,5
<i>Pseudomonas sp.</i>	0	0	2,5
<i>Spirillum sp.</i>	0	0	3
<i>E. coli</i>	9	3	8
<i>Fusarium sporotrichiella</i>	2,5	13	6,5
<i>F. oxysporum</i>	0	0	8
<i>F. graminearum</i>	2	0	3
<i>Rhodotorula sp.</i>	1,5	0	12,5

Спасибо за внимание

объекты реконструирования

