

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
Биологический факультет
кафедра Микологии и альгологии

Микобиота красных водорослей *Odonthalia dentata* и *Phycodrys rubens* в Кандалакшском заливе Белого моря

Исполнитель:
Ермишина М.А.

Руководитель:
к. б. н., Бубнова Е.Н

Рецензент:
к.б.н. Георгиева М.Л.

Введение

- Грибы – это гетеротрофные организмы, обитающие практически повсеместно и являющиеся важным компонентом любой экосистемы. Достаточно большое их количество обитает в морской среде.
- Водоросли-макрофиты – важнейший компонент прибрежных морских экосистем: первичные продуценты, пища и убежище для многочисленных гидробионтов, источник органического вещества в океане.
- Для морских грибов водоросли - макрофиты – один из важнейших субстратов, с которыми они могут быть связаны разнообразными типами связей.

Актуальность

- Красные водоросли – одна из важнейших групп макроводорослей в мировом океане.
- Микобиота, ассоциированная с водорослями, представлена одноклеточными (в т.ч. дрожжевыми) или мицелиальными организмами, которые демонстрируют широкий спектр различных жизненных стратегий. Потенциально они довольно многочисленны и разнообразны, однако недостаточно исследованы.
- В области изучения взаимодействий грибов с морскими макрофитами ещё очень большие перспективы исследований, особенно исследования их активных метаболитов, в плане обнаружения веществ для медицины и биотехнологии.

Цель работы

- Изучение состава и структуры микобиоты красных водорослей *Odonthalia dentata* и *Phycodryis rubens* в Белом море с последующим скринингом грибных изолятов на антибактериальную активность.



Odonthalia dentata

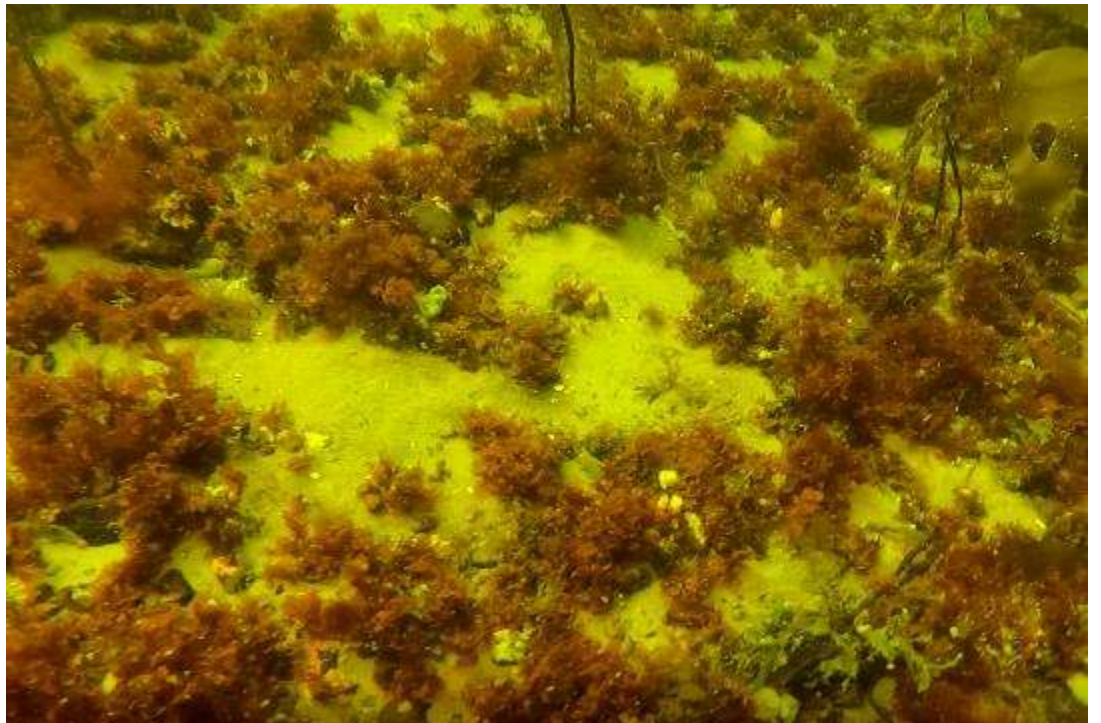


Phycodryis rubens

Задачи работы

1. Выделить культуры грибов с талломов *Odonthalia dentata* и *Phycodrys rubens* из двух географических точек.
2. Идентифицировать выделенные культуры с помощью культуральных и молекулярных методов.
3. Сравнить видовой состав грибов, выделенных с талломов разных видов из разных точек.
4. Проверить антибактериальную активность выделенных культур грибов

Материалы и методы



O. dentata и *P. rubens* в исследованных точках пояса багрянок Белого моря

Отбор образцов

- Сбор материала проводили в двух точках в окрестностях ББС в начале июля 2022 года на глубине 9,5-10 м.
- В каждой точке было собрано по 5 талломов каждого вида, а также по 1 пробе воды и грунта в качестве контролей.

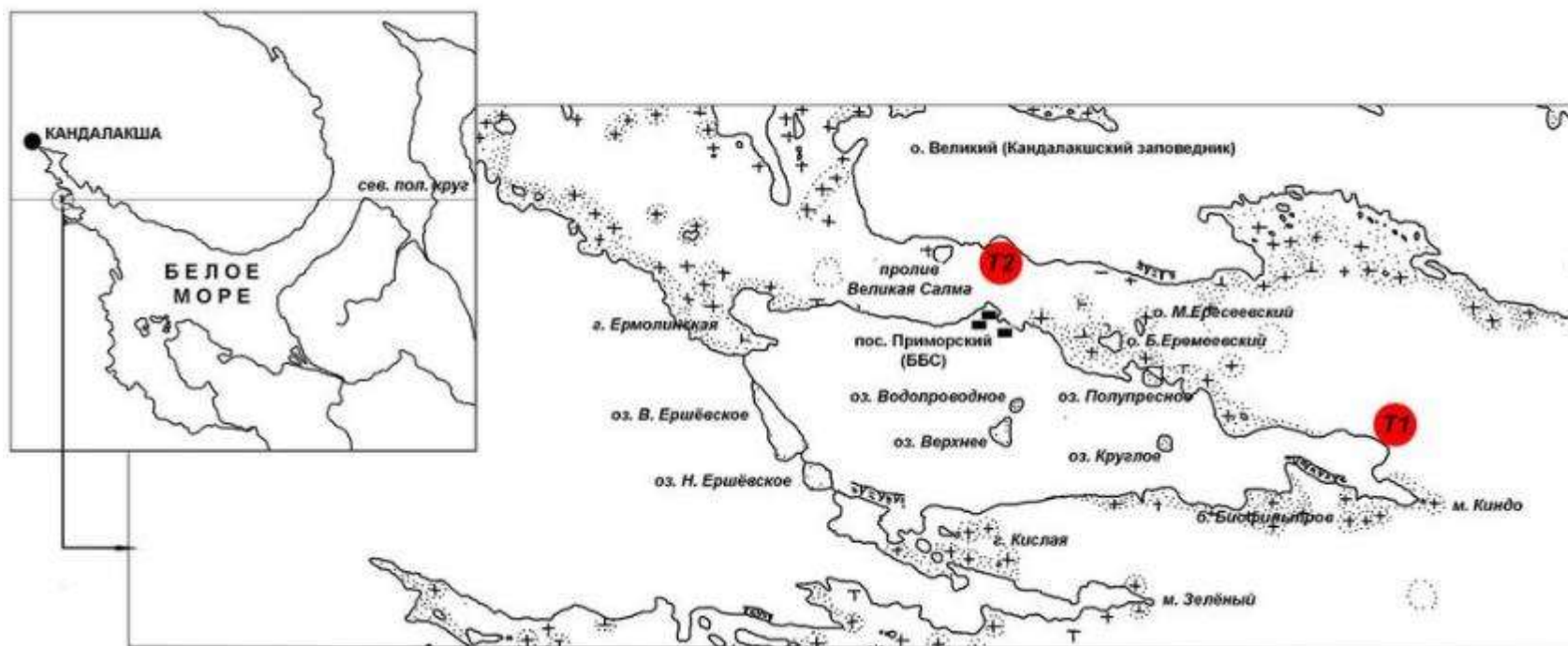


Схема окрестностей ББС с расположением точек отбора образцов

Выделение чистых культур

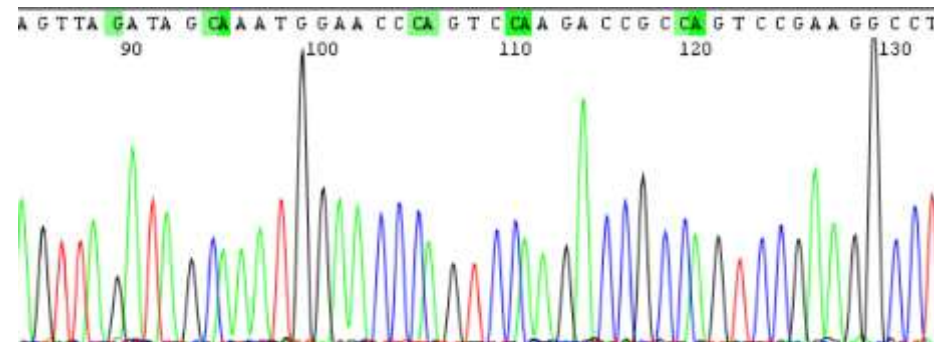
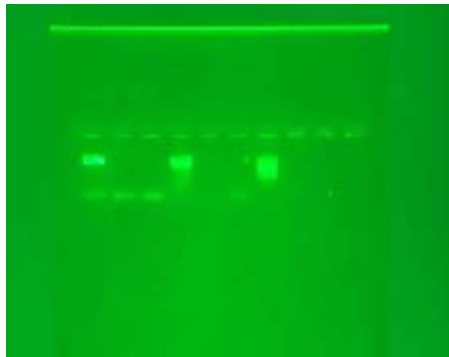
- Для первичного выделения грибов использовали две среды: среду на основе экстракта смеси талломов *Odonthalia* и *Phycodryis* (БА – багрянковый агар) и модифицированный сусло-агар (САМ). Обе среды готовили на природной беломорской воде солёностью 24 ‰.
- Один фрагмент от каждого таллома отпечатывали на среде БА, второй – на среде САМ. Контрольные посевы осуществляли на 2 чашки с БА и 2 чашки с САМ.



Последовательность отпечатков таллома *Phycodryis rubens*, отобранного на Т2

Идентификация

- Сортировку и первичную идентификацию изолятов проводили по морфолого- культуральным признакам.
- Для уточнения таксономического положения культур мицелиальных грибов использовали молекулярное штрихкодирование участка ядерной рибосомальной ДНК ITS1-5,8S-ITS2.
- Использованные праймеры: ITS1F_basidio и ITS4_r, ITS4_r и ITS5B



Результаты ПЦР

Скрининговое исследование

- Было проведено 3 раунда тестирования, включающих выращивание культур при трёх градациях температуры: +13°C, +21°C, +37°C
- Для оценки антибактериальной активности были использованы два штамма условно-патогенных бактерий: G+ *Micrococcus luteus* КМ МГУ No. 128 и G- *Escherichia coli* КМ МГУ No. 85.



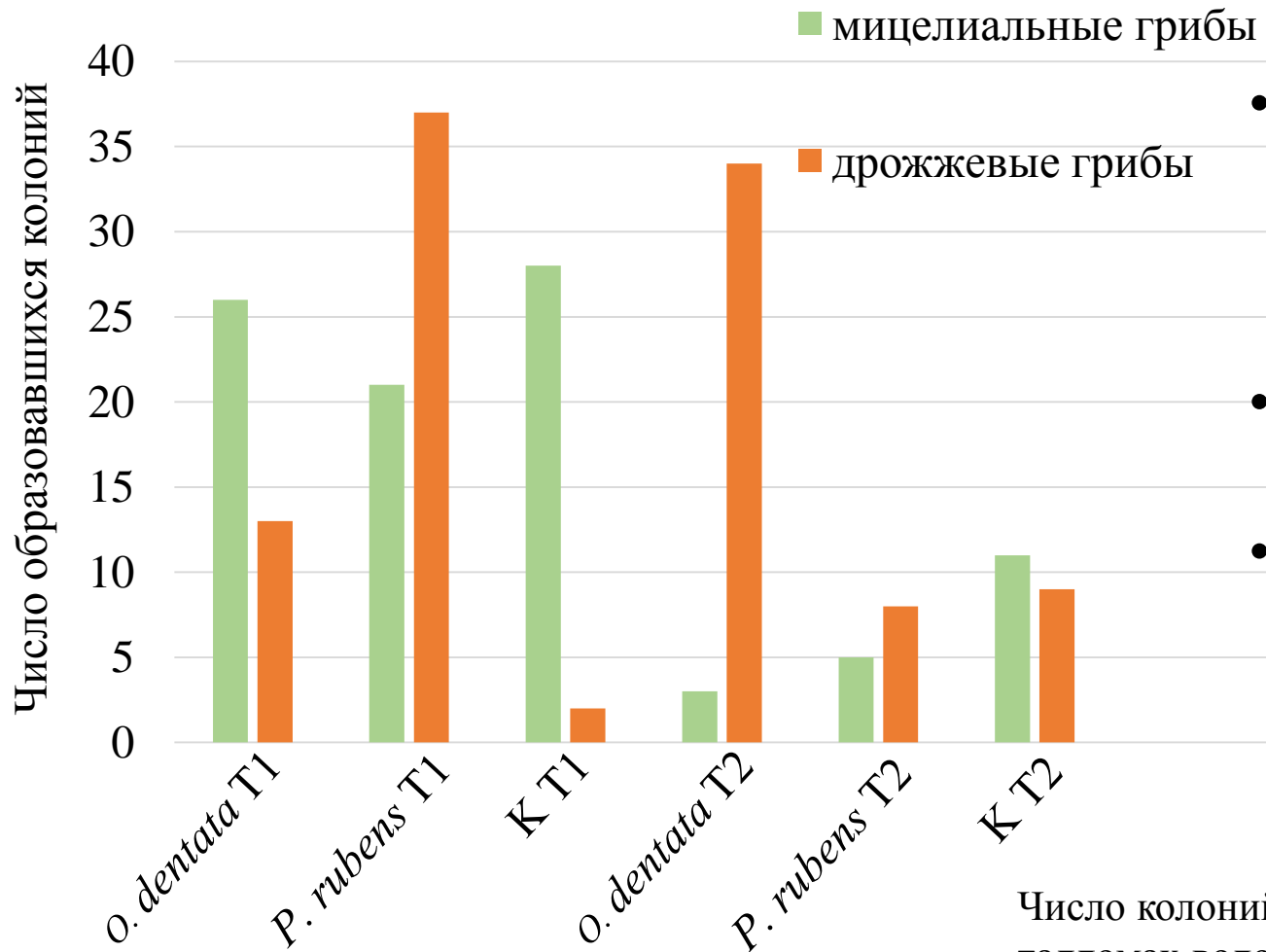
Оценка антибактериальной активности грибных изолятов по отношению к тест-культурам *E. coli* и *M. luteus*

Результаты



Культуры мицелиальных грибов, дрожжей и бактерий, образовавшиеся в посевах талломов исследованных водорослей

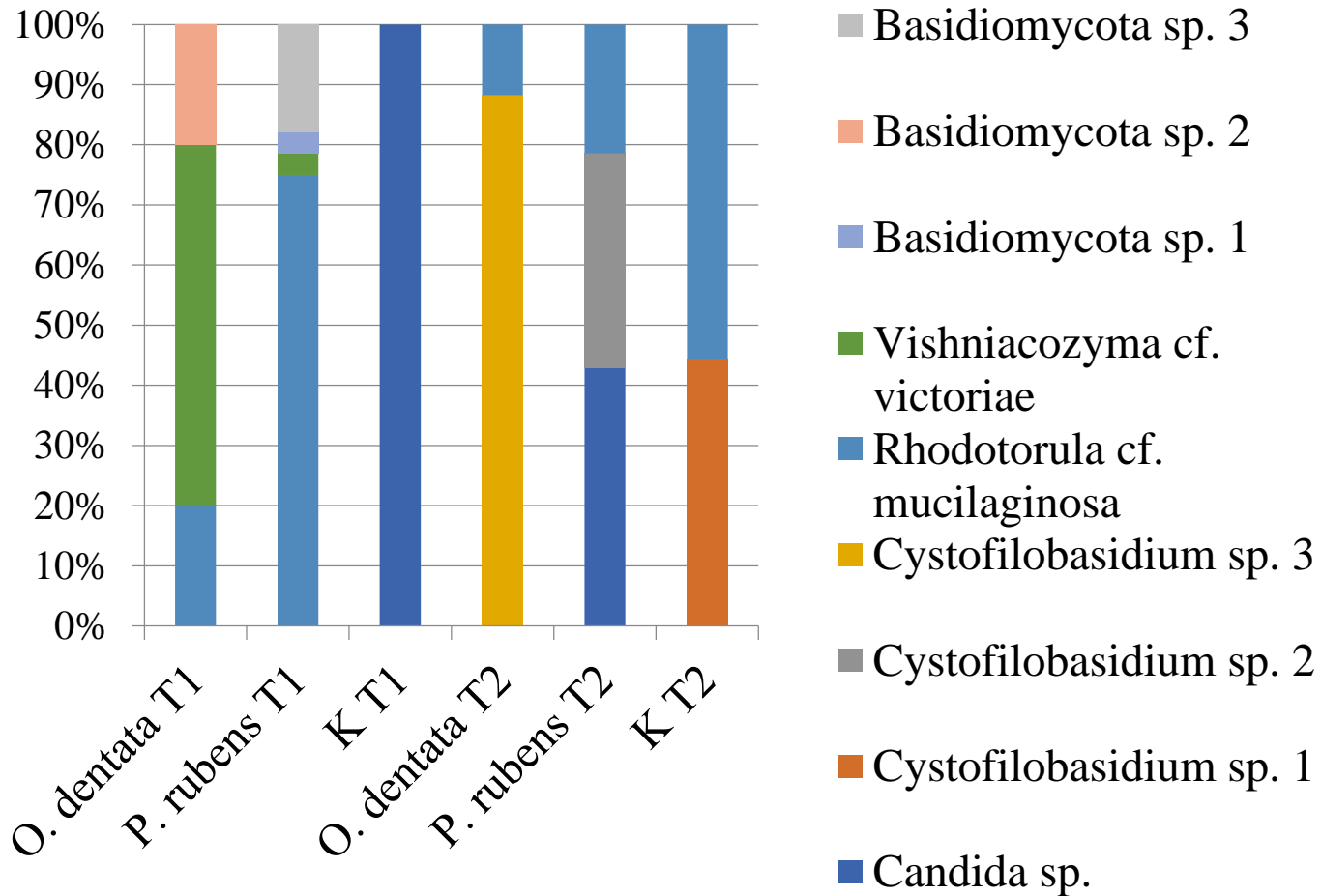
Численность выделенных грибов



- На большинстве талломов исследованных водорослей присутствовали мицелиальные и (или) дрожжевые грибы.
- Численность грибов была невысокой.
- Общая численность дрожжей превышала численность мицелиальных грибов.

Число колоний дрожжей и мицелиальных грибов, образовавшихся на талломах водорослей и в контрольных посевах

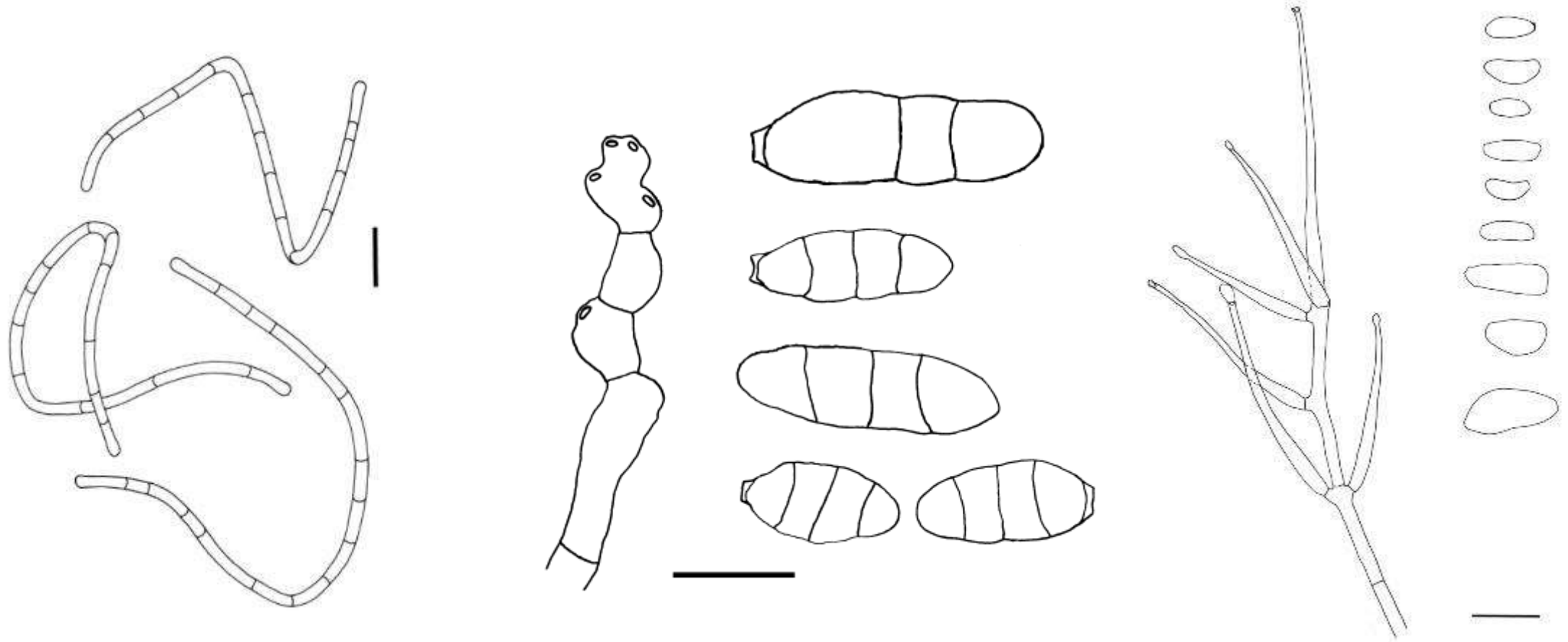
Разнообразие дрожжей



Соотношение морфотипов дрожжей на талломах водорослей и
в контрольных посевах

- Все выделенные дрожжи предварительно отнесены к 9 морфотипам. Большинство из них – базидиальные.
- Самый распространённый морфотип – *Rhodotorula* cf. *mucilaginosa*, обнаруженный на талломах обоих видов водорослей в T1 и T2.

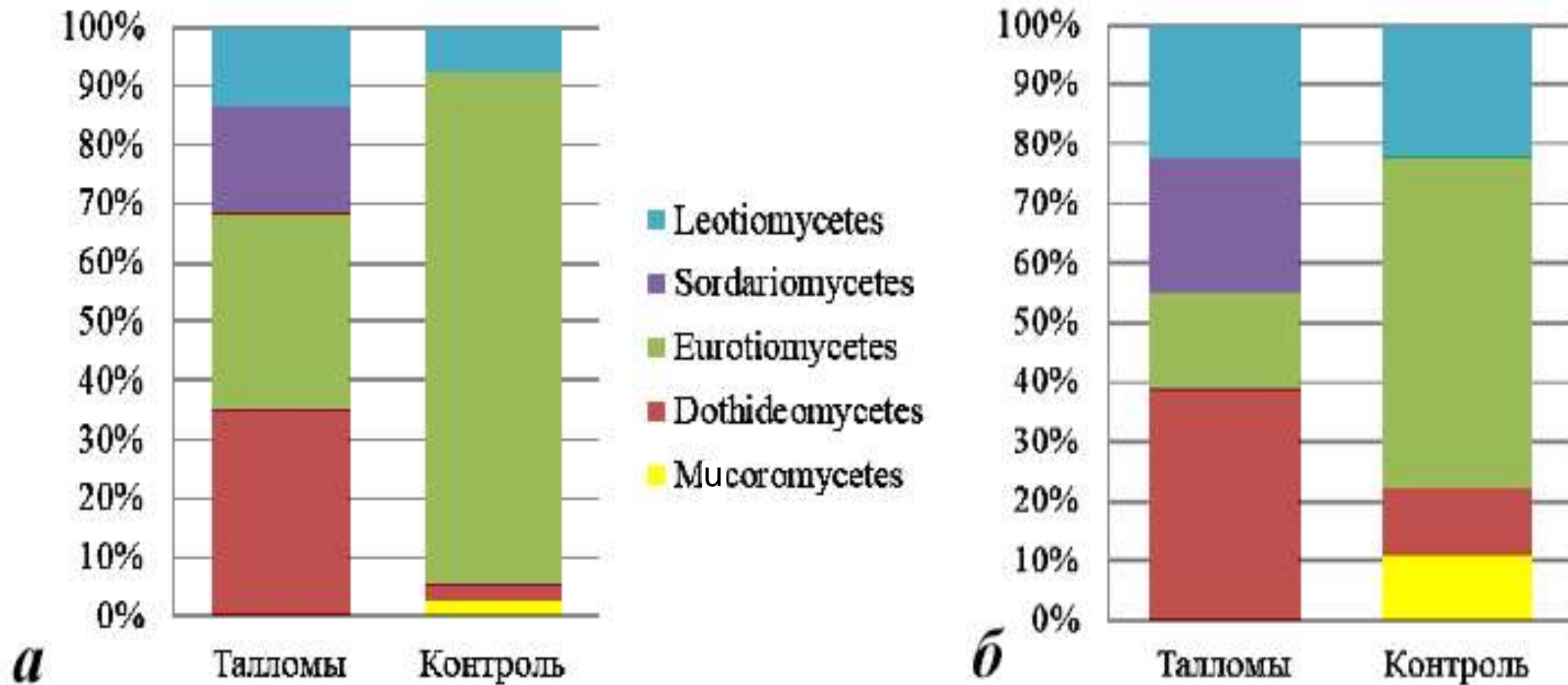
Разнообразие мицелиальных грибов



Спороношения облигатных морских грибов, обнаруженных на талломах исследованных водорослей.

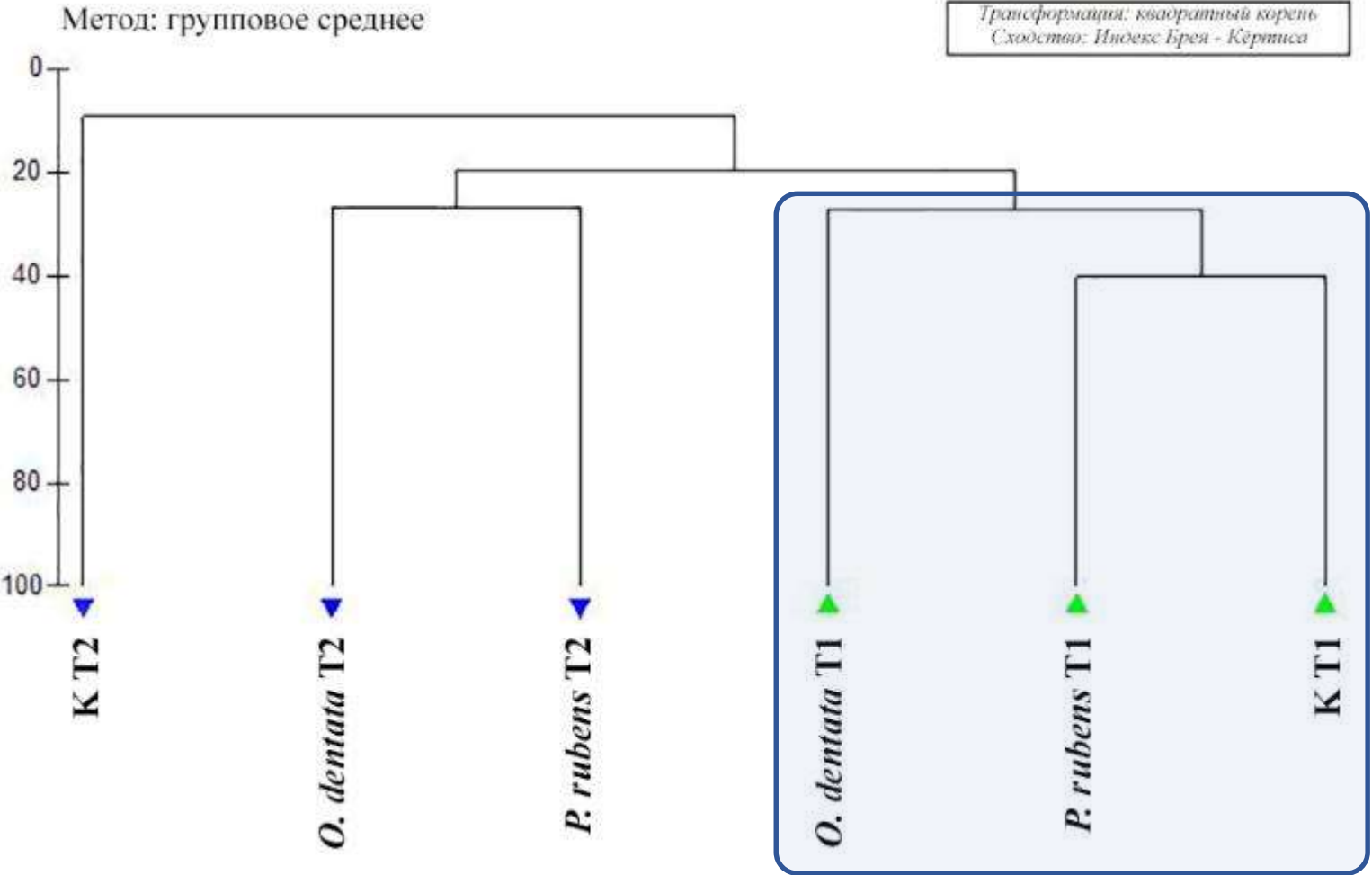
Слева направо: *Linrda obtusa* (из Nakagiri, Tubaki, 1983), *Paradendryphiella salina*, *Acremonium fuci*.

Масштаб – 10 мкм



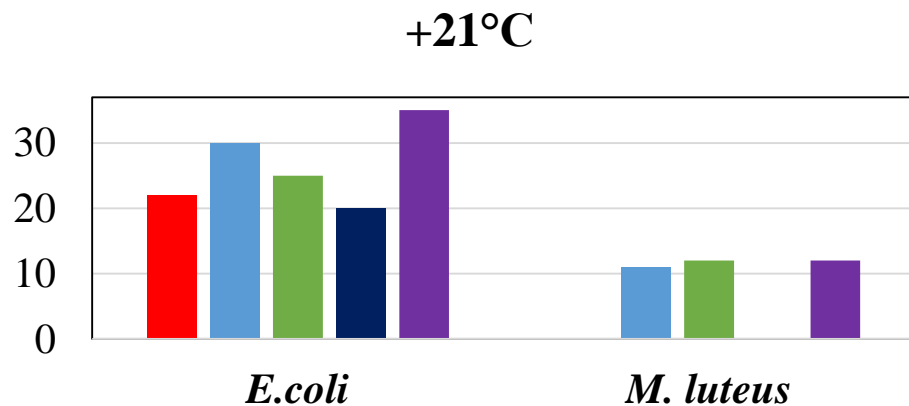
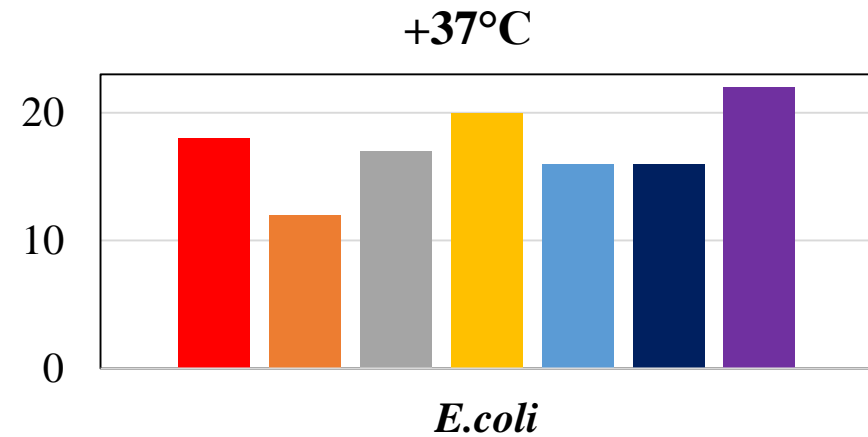
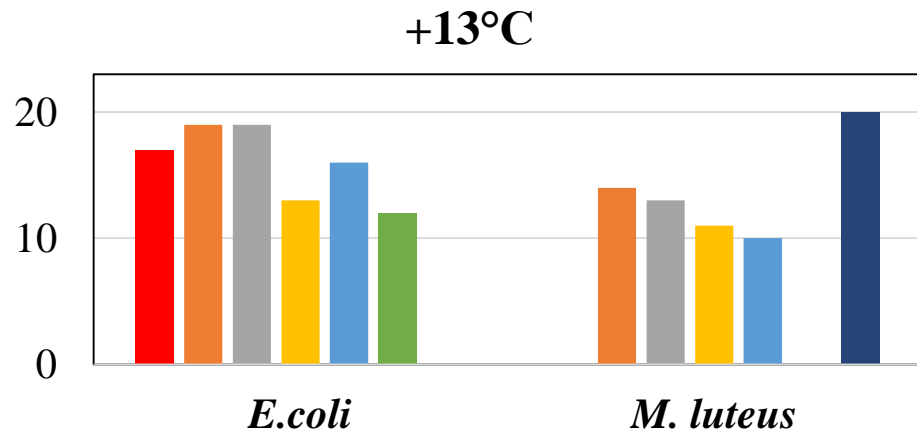
Соотношение числа колоний (а) и количества морфотипов (б), принадлежащих разным таксономическим группам мицелиальных грибов на талломах водорослей и в контроле

Особенности микобиоты в зависимости от вида водоросли и географической точки



Дендрограмма сходства микобиоты талломов водорослей и контролей в различных географических точках

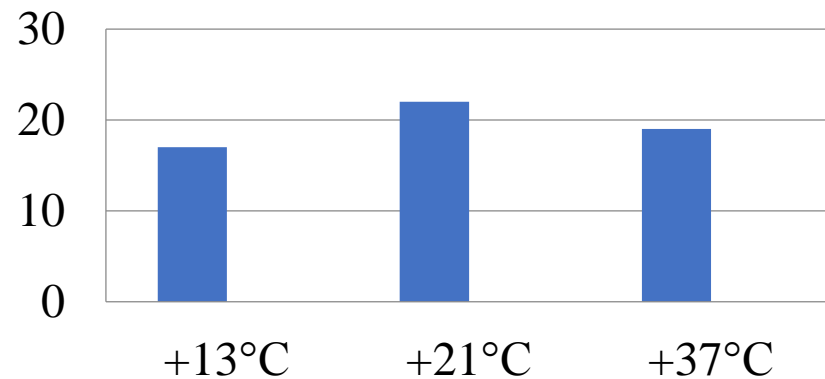
Результаты скринингового исследования



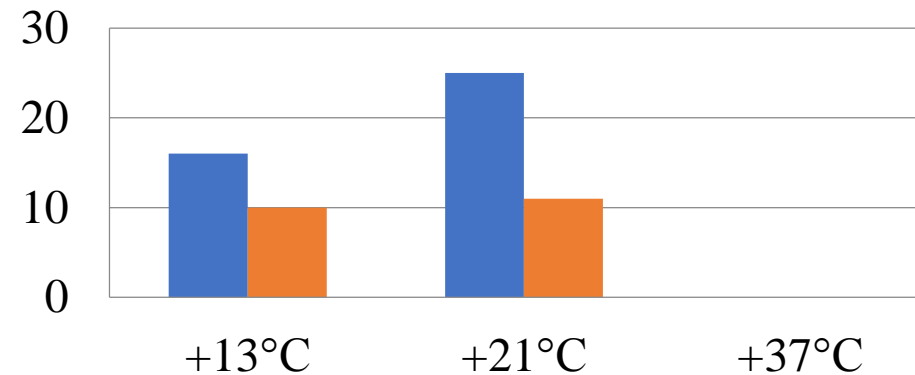
- Acremonium fuci
- Lindra obtusa
- Mucor hiemalis
- Paradendryphiella salina
- Periconia sp.
- Pyrenopeziza sp.
- Tolypocladium cylindrosporium
- Trichoderma polysporum

Размеры зоны подавления в культурах *Escherichia coli* и *Micrococcus luteus* наиболее активными из тестированных изолятов, выращенных при различных температурах

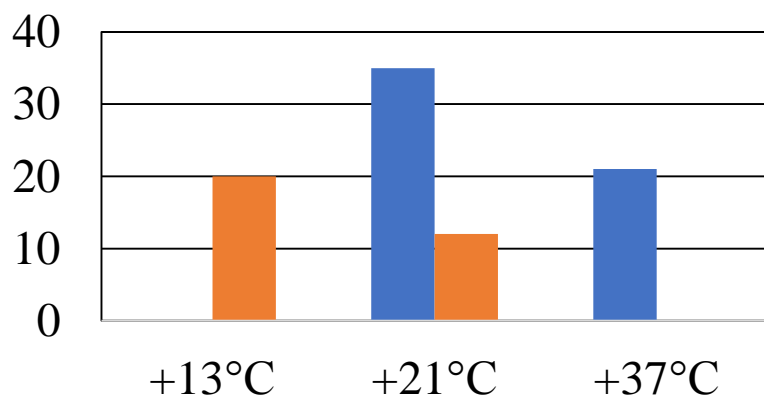
Acremonium fuci



Pyrenopeziza sp.



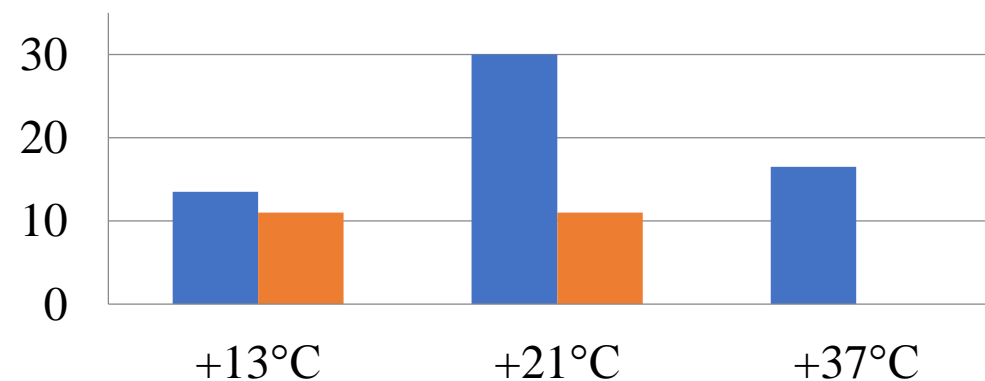
Trichoderma polysporum



■ *E. coli*

■ *M. luteus*

Periconia sp.



Средний диаметр зоны подавления роста тест-культур при разных температурах у наиболее активных исследованных штаммов

Заключение

- В ходе данной работы мы впервые изучили микобиоту, ассоциированную с водорослями, доминирующими в поясе багрянок холодноводного Белого моря.
- Были обнаружены мицелиальные и дрожжевые грибы, общее разнообразие которых довольно высоко.
- Среди всего разнообразия выделенной нами микобиоты к облигатно морским грибам были отнесены три вида - *Acremonium fuci*, *Lindra obtusa* и *Paradendryphiella salina*, причём *Lindra obtusa* была впервые обнаружена в арктических морях.

Выводы

- На талломах исследованных водорослей обнаружены дрожжевые и мицелиальные грибы. Численность дрожжей была выше численности мицелиальных грибов.
- На талломах *O. dentata* и *P. rubens* обнаружены представители 19 видов и 6 идентифицированных до рода морфотипов мицелиальных грибов и 7 морфотипов дрожжей. Все мицелиальные и один дрожжевой морфотип относятся к отделу *Ascomycota*, большинство дрожжевых – к отделу *Basidiomycota*.
- Было обнаружено три вида облигатных морских грибов и пять видов новых для морей Арктики.
- Во всех случаях состав и структура микобиоты отличалась от состава и структуры микобиоты окружающей среды.

- Видовые составы мицелиальных грибов разных локаций и видов водорослей заметно различался между собой. Основным фактором, влияющим на численность и разнообразие микобиоты, видимо, является интенсивность приливно-отливных течений.
- Абсолютное большинство протестированных изолятов показало наличие активности в отношении *E. coli*. Активность в отношении *M. luteus* характерна для незначительного числа изолятов.
- Выявлен ряд изолятов, обладающих высокой активностью или активностью в отношении обоих тест-организмов, перспективных для дальнейшего изучения.

A serene sunset scene over a calm body of water. The sky is filled with soft, wispy clouds in shades of pink, purple, and blue. The sun is low on the horizon, casting a bright, golden glow that reflects on the water's surface. In the distance, a dark silhouette of a forested shoreline is visible against the bright sky.

Спасибо за внимание!

Благодарности

- Выражаю глубокую благодарность своей научной руководительнице – Бубновой Екатерине Николаевне – за неоценимую помощь и всестороннюю поддержку на всех этапах выполнения работы.
- Выражаю благодарность – Максимовой Ирине Аркадьевне (кафедра биологии почв ф-та Почвоведения МГУ) – за содействие в идентификации дрожжей
- Выражаю благодарность – Симаковой Ульяне Вадимовне (Институт Океанологии РАН) – за помощь в освоение молекулярных методов и ценные советы.
- Выражаю благодарность – Чердынцевой Татьяне Андреевне и Гавириной Лилии Андреевне (кафедра микробиологии Биологического ф-та МГУ) – за помощь в постановке скрининговых экспериментов.