

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МОРСКИХ ГРИБОВ

Выполнил:

Фадеев А.Ю.

Научные руководители:

к.б.н., н.с. Бубнова Е.Н.

к.б.н., с.н.с Георгиева М.Л.

ОБЩИЕ ДАННЫЕ О МОРСКИХ ГРИБАХ

- Впервые в морских экотопах описаны в 1848 году.
- В экосистеме выполняют те же функции, что и наземные грибы.
- Преобладание аскомицетов.
- Обитают на большом количестве различных субстратов.
- По некоторым оценкам известно лишь 10% видового разнообразия.

Разнообразие морских грибов sensu stricto



МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Культивирование на питательных средах

Микроскопия

Молекулярные методы

Биохимические исследования

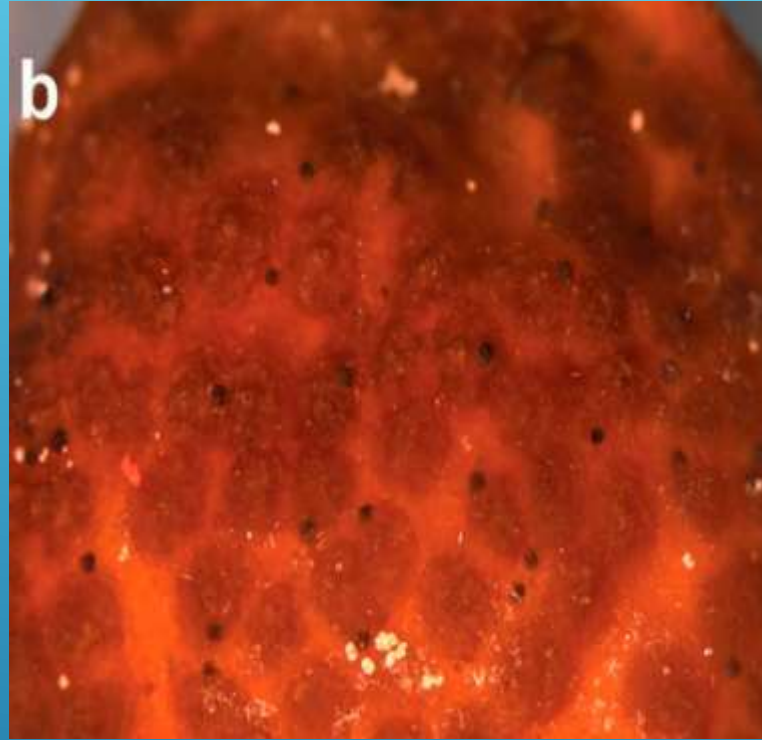
МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

Естественные субстраты

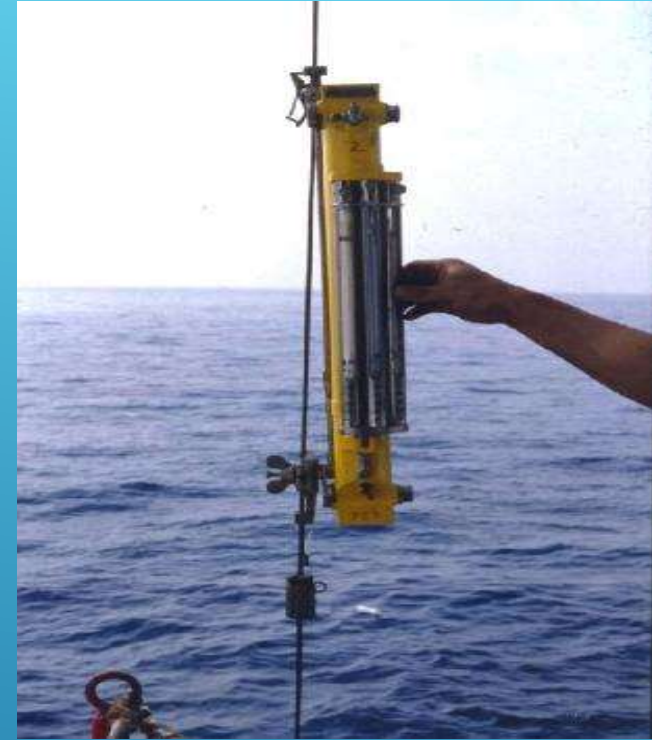
- Вода
- Донные грунты
- Древесные субстраты
- Водоросли
- И т.д.

Внесенные субстраты

- Тестовые панели
- Litter-bags



Плодовые тела *Stigmatidium ascophyllii*
(Cotton) Arptroot на рецептакулах
Ascophyllum nodosum (L.) Le Jolis
(Overy et al., 2019)



Батометр Нансена
(<http://test.oceanographers.ru/>)

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

- Морская микология использует общемикологические среды с различными модификациями (использование морской воды, водорослевого экстракта).
- Подбор среды зависит от изучаемого объекта. Видовое разнообразие и численность выделяемых организмов зависит от использованной среды.
- Существует множество различных способов хранения культур. Исходить следует из доступных исследователю средств и объекта.



Внешний вид колоний *Cadophora luteo-olivaceae* (J.F.H. Веума) T.C. Harr. & McNew на средах картофельно-морковный агар (А), сусло-агар (Б), аскофиллум-агар (В) (Коновалова, 2012)



Внешний вид колонии *Phaeosphaeria spartinae* (Ellis & Everh.) Shoemaker & C.E. Vabcs. на КДА с и без добавления морской соли (Overy et al., 2014)

ОПТИЧЕСКАЯ МИКРОСКОПИЯ

Световая микроскопия

- Простота в использовании.
- Компактность.
- Мало информативен при работе с фазовыми объектами.

Фазовый контраст

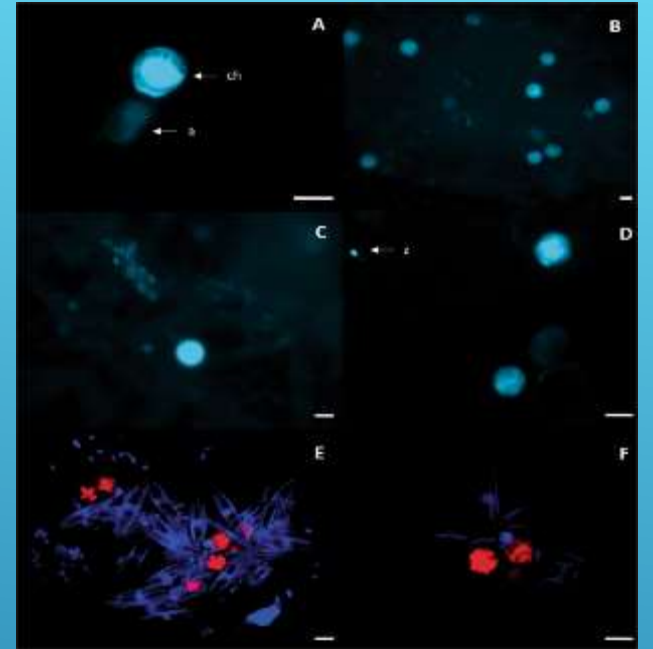
- Позволяет изучать фазовые объекты, в том числе витально.
- Присутствует эффект “гало”, затрудняющий изучение объектов.
- Эффект “гало” отсутствует в дифференциально-интерференционном контрасте (ДИК-микроскопия).

Флуоресцентная микроскопия

- Позволяет окрашивать различные структуры с помощью флюорофоров (DAPI, калюкофлюор белый).
- Возможен подсчет биомассы.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

- Зонды можно подбирать в зависимости от объектов изучения.
- Возможен подсчет биомассы.
- Удобен при работе с патогенами.

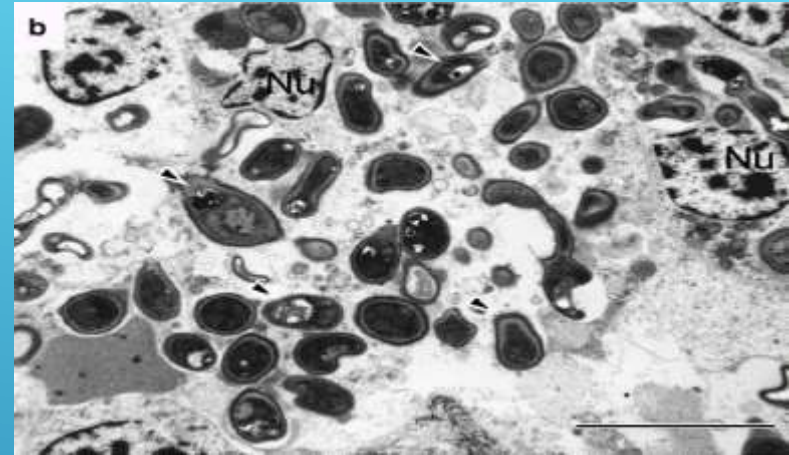


Флуоресцентная микроскопия хитридиомицетов, помеченных CARD-FISH (Hassett et al., 2019)

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ)

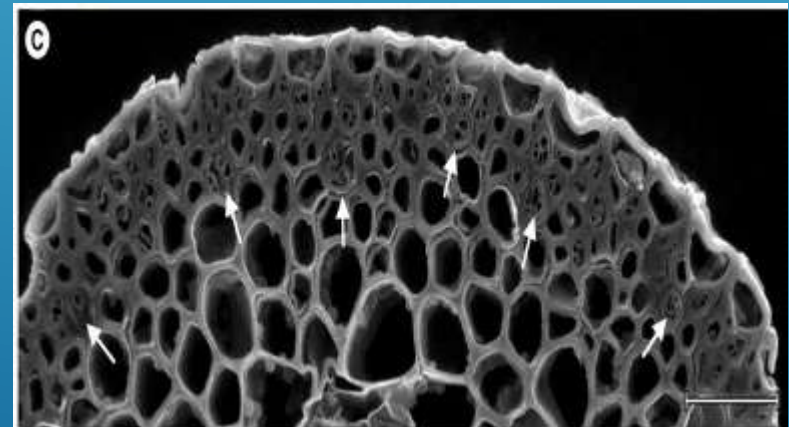
- Очень высокое разрешение.
- Позволяет изучать ультраструктуры клеток.
- Необходимость приготовления ультратонких срезов.



Жабры двустворчатого моллюска, пораженные грибным заражением. ТЭМ (Van Dover et al., 2007)

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ)

- Позволяет изучать поверхностные структуры объекта.
- Необходимость напыления электропроводящего металла.
- Разрешение ниже, чем у ТЭМ.



Possidonia oceanica (L.) Delile, колонизированная эндофитами. СЭМ Vohník et al., 2015)

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- На данный момент выделено 2100 различных метаболитов.
- Применение в медицине. Потенциально при онкологических заболеваниях.
- Устранение нефтяных загрязнений.
- Применение в промышленности (поверхностно-активные вещества, ферменты).
- Подсчет биомассы (эргостерол).



Рост колоний морских грибов на средах с нефтепродуктами (Garzoli et al., 2014)



Высокоэффективный жидкостный хроматограф (Lumex.ru)

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

A decorative graphic consisting of several parallel white lines of varying thicknesses, extending diagonally from the bottom right towards the top right of the slide.