



**2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“**

Projekto sutarties numeris: **ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261**

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalaurų rengimui**

---

## **APL 311. APLINKOS BIOINDIKACIJA**

### **Laboratorinis darbas**

#### **EPIFITINIŲ KERPIŲ MORFOLOGINIŲ FORMŲ IR INDIKACINIŲ SAVYBIŲ TYRIMAS, RŪŠIŲ IDENTIFIKAVIMAS PAGAL ANTRINIŲ METABOLITŲ CHEMINES REAKCIJAS**

**Darbo tikslas:**

išmokti pažinti epifitinių kerpių morfologines formas ir nustatyti jų rūšį pagal gniužulo morfologinius požymius bei identifikacines chemines reakcijas su reagentais K, C, P.

**Darbo objektas:**

skirtingų morfologinių formų ir rūšių epifitinės kerpės.

**Darbo priemonės:**

epifitinių kerpių kolekcija;  
mikroskopas;  
reagentas K – kalio šarmo (KOH) 10 % tirpalas;  
reagentas C – baliklis (ACE arba DOMESTOS);  
reagentas P – p-Fenileno diamino šviežias spiritinis tirpalas;  
rašymo priemonė.

**Darbui atlikti būtinos teorinės žinios**

► Kerpė yra grybo ir fotosintetinančio simbionto asociacija, kurios rezultatas yra pastovus specifinės struktūros gniužulas (1981 m. Tarptautinės lichenologų asociacijos susirinkime priimtas apibrėžimas).

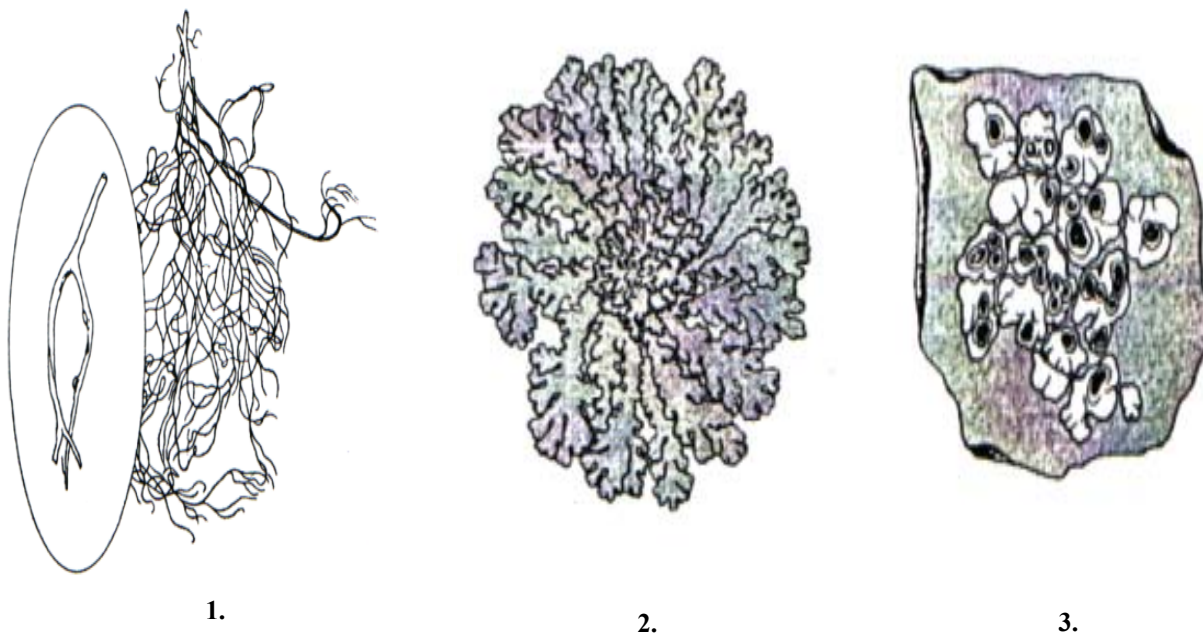
► Kerpė yra stabili, save palaikanti asociacija tarp mikobionto ir fotobionto (1983 m. kataloge *”Dictionary of fungi“* pasiūlytas ir rekomenduotas visuotiniam naudojimui apibrėžimas).

► **Mikobiontas** [gr. *mykes* – grybas + *bion* – gyvenantis] – grybas, per evoliuciją prisitaikęs gyventi tam tikroje aplinkoje, t.y. asociacijoje su dumbliu.

► **Fikobiontas** [gr. *phykos* – dumblis + *bion* – gyvenantis] – dumblis, evoliucijos eigoje prisitaikęs gyventi asociacijoje su mikobiontu. Kadangi dumblis geba sintetinti organines medžiagas, kerpėje jis atlieka fotobionto vaidmenį.

Fotosintetinantis partneris kerpėje paprastai būna žaliadumbliai (*Chlorophyta*), rečiau melsvabakterės (*Cyanobacteria*). Atskirais atvejais primityviose asociacijose pasitaiko geltondumblių (*Xantophyta*) ar rudadumblių (*Phaeophyta*). Jeigu mikobiontas kerpėje būna mažai pakitęs, tai fikobiontas kinta ir fiziologiškai, ir morfologiškai. Morfologiškai jis keičiasi taip, kad dažnai jo neįmanoma apibūdinti netgi iki genties (pvz., siūlinės sandaros dumbliai tampa vienalaščiais, nesidaugina lytiniu būdu, citoplazmoje nesikaupia asimiliacijos produktai, membranos pralaidumas būna padidėjęs). Priešingai nuo mikobionto, dauguma fikobiontų gamtoje randami ne tik lichenizuoti, bet ir gyvenantys laisvai.

**Kerpių morfologinė ir anatominė sandara.** Grybo ir dumblio asociacijos rezultate susiformuoja įvairūs kerpių gniužulai, besiskiriantys spalva, forma, anatominė sandara. Kerpių kūną sudaro gniužulas, kuris priklausomai nuo pigmento gali būti pilkai žalsvas, rudas, oranžiškas, net juodas. Skiriami trys pagrindiniai kerpių gniužulų tipai: *žiauberiškas*, *krūmiškasis* ir *lapiškasis*. (1 pav.).

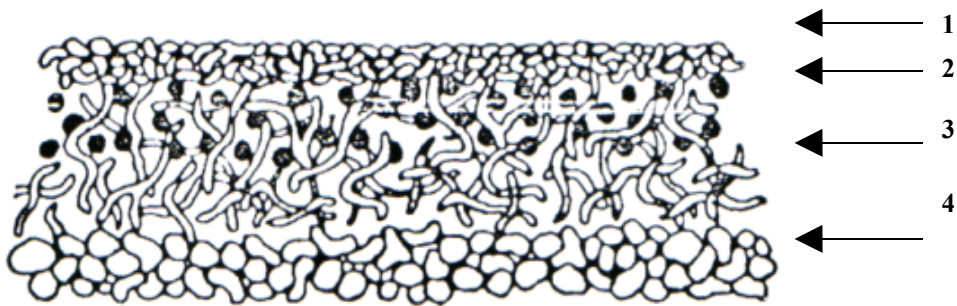


**1 pav.** Kerpių morfologinės formos: 1 – krūmiškosios kerpės; 2 – lapiškosios kerpės; 3 – žiauberiškosios kerpės

Pats paprasčiausias yra žiauberiškas gniužulas, kurį sudaro tik mikroskopiniai kamuolėliai, sudaryti iš kelias dumblio ląsteles apipynusių grybo hifų. Tokį gniužulą turinčios kerpės primena miltų apnašą ir yra suaugusios su substratu. Lapiškosios kerpės yra lakštų arba

žvynelių pavidalo. Jų kūną sudaro substratu besidriekiančios plokštelės, kurios grybų hifais suauga su substratu. Krūmiškosios kerpės yra krūmelių, „barzdų“, šakotų kolonelių ar juostų pavidalo. Prie substrato jos priauga tik pamatu, o visas gniužulas lieka pakibęs.

Pagrindinę kerpės gniužulo masę sudaro grybo hifai [gr. *hyphe* – audinys] – siūlo pavidalo ląstelės, sudarančios grybo vegetatyvinę dalį ir vaisiakūnius. Persipynę hifai suformuoja įvairius audinius, vadinamus *plektenchimomis*, kurie sudaro kerpės gniužulo pagrindą. Tai nėra tikrieji audiniai (*parenchimos*), būdingi aukštesniesiems augalams. Parenchimos yra sudarytos iš augalo ląstelių, augančių keliomis kryptimis, o plektenchimas sudaro viena kryptimi augantys grybo hifai. Kiekvienam kerpės gniužulo sluoksniui yra būdinga sava plektenchima su specifinėmis funkcijomis. Kerpės anatinė sandara gniužulo skersiniame pjūvyje pavaizduota 2 paveiksle.



**2 pav.** Kerpės gniužulo anatinė sandara skersiniame pjūvyje: 1 – viršutinis žievės sluoksnis iš tankiai susipynusių grybo hifų; 2 – fotosintezės sluoksnis iš grybo hifų su įsiterpusiomis dumblių ląstelėmis; 3 – šerdies sluoksnis iš puriai susipynusių grybo hifų; 4 – apatinis žievės sluoksnis iš tankiai susipynusių grybo hifų

Pagrindinė *žievės sluoksnio* funkcija yra apsaugoti fikobiontą nuo pernelyg didelio apšvietimo. Dėl to šis sluoksnis būna intensyviai nusidažęs. Žievės sluoksnis atlieka ir mechanines funkcijas, ypač krūmiškose kerpėse. Dauguma krūmiškųjų ir lapiškųjų kerpių turi ir viršutinį, ir apatinį žievės sluoksnius. Kai kurių kerpių viršutiniame žievės sluoksnyje galima matyti įvairias išaugas (plaukelius), kai kurios turi storą kalcio oksalato kristalų sluoksnį, taip pat įvairias angas (poras, cifeles, pseudocifeles), leidžiančias į gniužulą patekti dujoms. Apatinis žievės sluoksnis, pagal sandarą tapatus viršutinei žievei. Apatiniame žievės sluoksnyje formuojasi arba į jį iš šerdies pereina ypatingi hifai – gomfas arba rizinos, kuriais kerpė prisitvirtina prie substrato.

*Dumblių zona* yra iš karto po viršutiniu žieviniu sluoksniu, pačiomis optimaliausiomis fotosintezės sąlygomis: žievinis sluoksnis apsaugo fotobiontą nuo per didelio apšvietimo, dumblių ląstelės išsidėsčiusios taip, kad kiekviena gautų pakankamai šviesos, puri šios zonos plektenchima užtikrina pakankamą dujų apykaitą.

*Šerdinis sluoksnis* yra storiausias iš visų sluoksnių. Jis dažniausiai būna baltas, susideda iš bespalvių hifų, kartais dėl ant jų nusėdusių kerpinių medžiagų jis nusidažo geltona ar raudona spalva. Šerdis savo sandaros dėka sulaiko daugiau vandens, negu bet kuri kita gniužulo plektenchima, taip pat palengvina dujų apykaitą dumblių sluoksnyje.

***Kerpių cheminė sudėtis, elementų akumuliacija kerpėse.*** Kerpių cheminė sudėtis yra labai svarbi jų sistematikoje, ekologiniuose tyrimuose bei lichenoidikacijoje. Kerpėse randama apie 700 įvairių medžiagų, vadinamų antriniais metabolitais. Dauguma jų būdingi tik kerpėms. Dalis jų yra mikobionto ir fotobionto ląstelių sudėtinės dalys, dalyvaujančios medžiagų apykaitoje, arba yra atsarginės medžiagos. Antriniai metabolitai paprastai kaupiasi kristalų pavidalu mikobionto hifų paviršiuje, kartais jų koncentracija gali siekti iki 10 % sausos gniužulo masės. Šios medžiagos gaminasi žieviniame sluoksnyje arba šerdyje. Jų vaidmuo kerpei nėra iki galo išaiškintas. Yra žinoma, kad dalis jų yra UV spindulių filtrai; atlieka apsauginį vaidmenį nuo bakterijų, grybų ir nariuotakojų kenkėjų, kadangi daugelis yra nuodingos. Be to antriniai kerpių metabolitai yra stiprūs sėklų dygimo inhibitoriai, padedantys kerpėms kolonizuoti dirvą.

Kerpėse gausiai randami antriniai metabolitai yra labai svarbūs apibūdinant kerpes – kerpės cheminės sudėties žinojimas padeda identifikuoti rūšį, kadangi atskiroms kerpių rūšims būdingas yra savitas antrinių metabolitų rinkinys. Paprasčiausias cheminis testas yra kerpės gniužulo reakcija su specifiniais reagentais – P, K, C, arba gniužulo reakcija į 254–326 nm ilgio ultravioletinę (UV) Saulės spinduliuotės spektro dalį šviesą. Sudėtingesnis, bet tikslesnis metodas yra *plonasluoksnė chromatografija*, leidžianti nustatyti ir tas medžiagas, kurios nereaguoja į reagentus ar UV.

### **Darbo užduotys:**

- 1) suklasifikuoti epifitinių kerpių gniužulus pagal jų morfologinę formą (po 3 žiauberiškas, lapiškas ir krūmiškas kerpių rūšis);
- 2) skirtingų formų epifitinių kerpių gniužulus apžiūrėti per mikroskopą ir aprašyti pastebėtus morfologinius skirtumus: spalvą, gniužulo formą, dauginimosi organus;
- 3) apibūdinti dėstytojo pateiktas kerpių rūšis remiantis antrinių metabolitų cheminėmis reakcijomis
- 4) trumpose ir konkrečiose išvadose būtina apibendrinti įgytą kerpių morfologinių formų ir rūšių identifikavimo patirtį.

### **Darbo eiga:**

Epifitinių kerpių (3 krūmiškųjų, 3 lapiškųjų ir 3 žiauberiškųjų kerpių rūšys) gniužulai atidžiai apžiūrimi per mikroskopą ir suklasifikuojami pagal jų formą; aprašomi būdingiausi rūšių požymiai.

## Krūmiškųjų kerpių pavyzdžiai

*Ramalina fraxinea* (L.) Ach.

**Spalva:** šviesiai žalsva

**Gniužulo forma:** krūmiškas

**Dauginimosi organai:** soredės

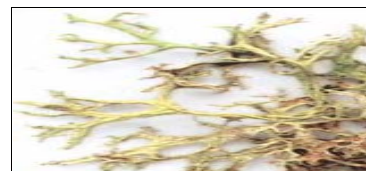


*Evernia prunastri*

**Spalva:** pilkai žalia

**Gniužulo forma:** krūmiškas

**Dauginimosi organai:** soredės



*Usnea hirta*

**Spalva:** žalsvai gelsva

**Gniužulo forma:** krūmiškas

**Dauginimosi organai:** izidės



## Lapiškųjų kerpių pavyzdžiai

*Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr.

**Spalva:** žalsvai geltona

**Gniužulo forma:** lapiškas

**Dauginimosi organai:** apoteciai



*Parmelia sulcata* Taylor.

**Spalva:** pilka

**Gniužulo forma:** lapiškas

**Dauginimosi organai:** soredės



*Platismatia glauca* (L.) W. L. Culb. & C.

F. Culb.

**Spalva:** pilkšvai žalsva

**Gniužulo forma:** lapiškas

**Dauginimosi organai:** nesimato



## Žiauberiškųjų kerpių pavyzdžiai

*Lepraria* sp.

**Spalva:** pilkšvai ruda

**Gniužulo forma:** žiauberiškas

**Dauginimosi organai:** soredės



*Lecidela elaeochroma* M. Choisy

**Spalva:** pilka

**Gniužulo forma:** žiauberiškas

**Dauginimosi organai:** apoteciai

*Chaenotheca ferruginea*

**Spalva:** gelsvai pilka

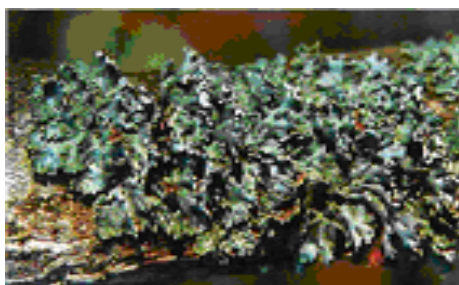
**Gniužulo forma:** žiauberiškas

**Dauginimosi organai:** nesimato



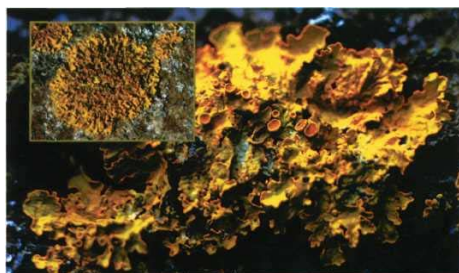
Kadangi skirtingos kerpės turi skirtingus metabolitus, kurie reaguoja su skirtingomis cheminėmis medžiagomis, todėl pagal šiose reakcijose gautas spalvas mes galime nustatyti ir kerpės rūšį. Kerpių antriniai metabolitai yra labai svarbūs apibūdinant kerpes – kerpės cheminės sudėties žinojimas padeda identifikuoti rūšį. Pats geriausias kerpių rūšių atpažinimo būdas yra identifikacinės cheminės reakcijos su reagentais: K – kalio šarmo (KOH) 10 % tirpalu, C – balikliu (ACE arba DOMESTOS) ir P – p-Fenileno diamino šviežiu spiritiniu tirpalu.

### Kerpių rūšių identifikavimo pavyzdžiai



Putlusis plynkežis (*Hypogymnia physodes*); cheminėje sudėtyje yra atranorinas, fizodinė, fizodalinė ir protocetrarinė rūgštys.

Paveikus 10 % kalio šarmo (KOH) tirpalu, *Hypogymnia physodes* pageltonavo; paveikus p-Fenileno diamino šviežiu spiritiniu tirpalu nusidažė ryškiai raudona spalva.



Sieninė geltonkerpė (*Xanthoria parietina*); cheminėje sudėtyje yra antrakionų.

Paveikus 10 % kalio šarmo (KOH) tirpalu, *Xanthoria parietina* nusidažė raudonai.



Laiptuotoji žvynytė (*Hypocenomyce scalaris*).

Paveikus balikliu, nusidažė raudona spalva.



Eglinė spuogė (*Phlyctis argena*)  
Paveikus balikliu, spalva nepakito.

Apibendrinami rezultatai, suformuluojamos išvados. Jose aptariama šio laboratorinio darbo metu įgyta kerpių morfologinių formų ir rūšių identifikavimo patirtis.

### **Papildoma literatūra ir interneto puslapiai**

1. **Augustaitis A., Kliučius A.** 1999. Epifitinių kerpių rūšinė įvairovė ir gausumas. *Lietuvos miškų būklė ir ją sąlygojantys veiksniai*. Kaunas: Lututė, p. 200-202.
2. **Motiejūnaitė J.** 2002. *Lapiškosios ir krūmiškosios kerpės*. Lietuvos grybai, 3 (1), Vilnius: UAB „Valstiečių laikraštis“ 312 p.
3. **Motiejūnaitė J.** 2002. *Kerpės*. Kaunas: Lututė, 48 p.
4. **Stravinskienė V.** 2005. Bioindikaciniai aplinkos vertinimo metodai. Kaunas: VDU leidykla, 215 p.  
[http://www.wsl.ch/relics/rauminf/riv/datenbank/lichen/database\\_lichen.html](http://www.wsl.ch/relics/rauminf/riv/datenbank/lichen/database_lichen.html)  
<http://www.botany.hawaii.edu/cpsu/pictures/0.html>  
[http://www.nmnh.si.edu/botany/projects/lichens/q\\_a.htm](http://www.nmnh.si.edu/botany/projects/lichens/q_a.htm)  
<http://www.uni-bayreuth.de/departments/planta2/ass/robert/lichens/homepage.html>  
<http://www.ohiodnr.com/forestry/health/lichen/lichenstudy.htm>

Parengė APL 311. APLINKOS BIOINDIKACIJA kurso dėstytoja  
prof. habil. dr. Vida Stravinskienė

2006-08-18,  
Kaunas, VDU Gamtos mokslų fakultetas