UPPSALA UNIVERSITET

Frilevande fotobionters återkolonisering av mykobionter från sporspridande lavar

Niklas Wickander

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2015
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag

Symbios är en vida spridd organisation och en av de mer välkända är lavsymbiosen. Laven är ett typexempel på komplex och tät symbios som har existerat väldigt länge. De första riktiga lavarna tros ha existerat för ungefär 415 miljoner år sedan och idag omfattar gruppen cirka 18000 arter. Symbiosen i laven består av en mykobiont (svamp) och en fotobiont (alg/cyanobakterie). Mykobionterna är de som initierar symbiosen och de bildar inte symbios med vilken fotobiont som helst. Det finns mykobionter som endast bildar symbios med en art av fotobionter och det finns andra som bildar med flera olika arter av fotobionter. Majoriteten av de lavar som sprider sig med sporer är generalister. Det är fördelaktigt för sporspridande mykobionter att vara generalister då de sprider sig utan fotobionten och måste hitta en fotobiont och återskapa symbiosen.

För att hitta fotobionten igen finns det ett antal olika mekanismer för att effektivisera processen. Mykobionten måste hitta och känna igen fotobionten, både fotobionten och mykobionten har processer för att hitta varandra. Fotobionten utsöndrar olika ämnen som stimulerar sporerna från mykobionten till att börja växa. Det stimulerande ämne som ger störst effekt är Cyklo–(L– tryptofyl–L–tryptofyl) (CTT). Den stimulansen fungerar upp till en viss längd efter det måste vidare stimulans ske. Oftast sker detta genom kontakt med en fotobiont. Vid kontakt finns det mekanismer för mykobionten att känna igen fotobionterna, detta sker genom ett glycoprotein som heter lectin som sitter på ytan av mykobionternas hyfer. Lectin känner igen artspecifika ytmolekyler på fotobionten. Vid kontakt stimuleras mykobionten till att växa och bilda ett lav tallus. Vid tallusbildningen utsöndrar mykobionten ett gelliknande ämne som omsluter cellerna från både mykobionten och fotobionten. Detta gellager gör laven mer frost- och torktålig samt skapar ett apoplastiskt lager mellan gelen och cellväggarna. I det lagret sker en passiv transport av vatten och lösta näringsämnen.

Symbiosen i laven är mutualistisk men det finns teorier om att den kan vara parasitisk från mykobiontens sida. Genom att båda parterna har mekasimer för att återskapa lavsymbiosen tyder det på att det är en mutualistisk symbios. Symbiosen är också kritisk för mykobionten vilket gör att spridningsmekanismen genom sporer utgör en risk för nästa generations överlevnad. Sporer kan visserligen spridas långt, men de måste hitta en fotobiont att bilda symbios med för att kunna etablera sig och växa. Det finns en metod för spridning som håller ihop mykobionten och fotobionten. Den är dock asexuella och sker genom avknoppning av talluset. De kommer inte långt men symbiosen kan fortsätta direkt. Den säkraste metod som finns för lavar som lever i karga habitat, är att bilda ett speciellt organ som skickar en spor och en fotobiont tillsammans. Denna metod kan vara både sexuell och asexuell.

Lavar kan användas till många olika ändamål och har genom historien använts till allt från mat till färgämnen. De används fortfarande i viss mån till det idag men inte i samma utsträckning. Det skulle kunna vara en möjlighet att återinföra lavar som föda då de finns i stor utsträckning och kan vara en billig gröda. Även om energiinnehållet i laven är lågt fungerar det att använda som utfyllnad. Andra tillämpningsområden för lavar är bland annat som miljömarkörer. Att undersöka vilka lavar som finns i områden kan säga en del om hur ren luften är. Ytterligare ett användningsområde är att skicka lavar till Mars som kolonisatörer. Lavar har visats kunna överleva i Mars–liknande miljöer och det vore möjligt att skicka lavar till Mars för att frisätta syre genom fotosyntes. Om man kan framställa ätbara lavar skulle de även kunna användas som gröda åt framtida kolonisatörer på Mars.

Inledning

Symbios är en vida sprid organisation och ett samarbete mellan två olika arter av antingen växter,

djur eller svampar**.** Symbios har evolverat fram många gånger oberoende av varandra och är intim på många olika plan. En av de mest vida spridda och intima symbioserna är en som evolverade fram för c:a 415 miljarder år sedan och som idag omfattar c:a 18000 kända arter är lavar (Honegger 2012). Symbiosen i en lav består utav en mykobiont (svamp) och en fotobiont (grönalg/cyanobakterie). Olika arter av lavbildande svampar rekryterar antingen en alg eller en cyanobakterie som fotobiont och kan i vissa sällsynta fall skifta mellan dessa (Honegger 1998, Miadlikowska & Lutzoni 2004). Lavformande svampar härstammar från många olika fylum och lavarna räknas således som en polyfyletisk grupp. Grupperna delas in efter vilken mykobiont som ingår i symbiosen, men grupperna har ofta liknande preferenser till sitt val av fotobionter då dessa ofta tillhör samma taxonomiska grupp. Det är mykobionten som används för att taxonomiskt beskriva arten av laven. Det är alltid samma mykobiont, men fotobionten i symbiosen kan variera inom en art (Miadlikowska *et al.* 2006).

Lavar har genom historien använts till många olika ändamål, bland annat som mat men även som färgämnen och gift. De används fortfarande till det idag men i mindre utsträckning än förr. Förutom att använda lavar till mat och gift används lavar även som miljömarkörer i städer som ett mått på förorening (Nash & Gries 2002). Det finns även ett teoretiskt användningsområde för lavar och det är att använda dem för att frisätta syre till atmosfären på Mars. Det finns förslag på att skicka lavar till Mars som en första organism för att frisätta syre till atmosfären genom fotosyntes. Det finns försök som visar på att lavar kan överleva i Mars–liknande miljöer, det skulle därför vara möjligt att skicka lavar till Mars (de Vera 2012).

Ungefär 99% av de svampar som bildar en lavsymbios härstammar från ascomyceterna (sporsäckssvampar) och ungefär en procent tillhör basidomyceterna. Av alla ascomyceter är c:a 40% av dessa laviserade (Honegger 2012). Av alla lavformande ascomyceter bildar c:a 85% symbios med alger, c:a 10% bildar symbios med cyanobakterier och ungefär 3 % bildar symbios med en alg och cyanobakterie samtidigt (Honegger 2012). Mykobionten i lavsymbiosen är den som bygger upp den synliga strukturen av en lav. Den levande vegetativa delen på laven kallas för talluset, eftersom hela laven inte växer dör de inre äldre delarna då tillväxten sträcker sig utåt. I talluset placeras fotobionten där den kan fotosyntetisera i optimala förhållanden, den får en stadig tillströmning av vatten och mineraler den behöver för att optimera fotosyntesen. Som utbyte får mykobionten enklare kolföreningar (se review Honegger 1991, Honegger 1993).

Lavsymbiosen är inte kritisk för överlevnad när det gäller fotobionten, då fotobionten och mykobionten är separerade kan fotobionten överleva. Den har då en lägre tillväxt och sprider sig inte över ett lika stort område, trotts det kan den leva utan mykobionten (Honegger 2012). Det är viktigare för mykobionten att ingå i en lav då många arter inte klarar sig särskilt länge utan att ingå i lavsymbiosen (Ott 1987, Tuovinen *et al.* 2015). Många mykobionter är generalister, de ingår därför inte i symbios med endast en art av fotobionter utan kan ingå i symbios med olika fotobionter. Det finns dock de mykobionter som är väldigt specifika och ingår endast i symbios med en art av fotobionter (Yahr *et al.* 2006).

Lavar är vida spridda i världen och återfinns på fler ställen än vad man väntar sig. För att komma till dessa ställen måste laven sprida sig och de finns många sätt att göra det för laven. Lavar kan sprida sig asexuellt genom att antingen knoppa av en del som sedan växer fritt eller genom att bilda ett speciellt organ och sprida både mykobionten och algen samtidigt. Många lavar sprider sig däremot endast som svampar, det vill säga genom att släppa iväg sporer i vinden som landar på ett substrat och börjar växa (Nash 2008, Honegger 2012). Att sprida sig på det sättet medför ett problem för laviserande svampar, de måste hitta och återkolonisera en fotobiont de vill ingå i symbios med (Meeßen & Ott 2013). Syftet med den här rapporten är att undersöka mekanismerna som gör att en mykobiont kan hitta en fotobiont och identifiera samt återkolonisera denna efter sporspridning. Jag kommer även att titta närmare på mekanismerna inne i laven, vad det är som sker i symbiosen. Sist

kommer jag att undersöka vilka möjligheter det finns i att skapa artificiella lavar och vad som krävs för att det ska fungera. De frågeställningar som kommer att undersökas i rapporten är följande.

- Hur hittar, identifierar och återkoloniserar sporspridande lavars mykobionter fria fotobionter för att återbilda en lav?
- Vilka processer och näringsutbyte är det som sker i lavsymbiosen?
- Vilka möjligheter finns det att skapa artificiella lavar?

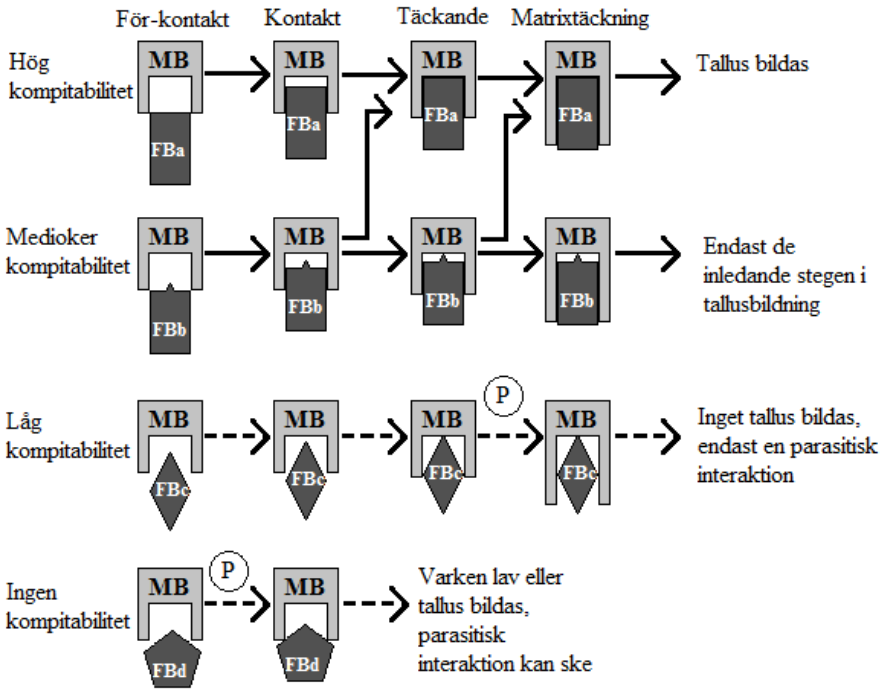
Stimulans av sporer

Många lavar använder sig av sexuell reproduktion och sprider sig genom att släppa sporer från strukturer för spridandet av sexuellt bildade sporer (Nash 2008). Dessa sporer sprids sedan med vinden tills det kommer i kontakt med ett substrat. När de har landat och börjat växa måste mykobionten hitta den fotobionten som den vill ingå i symbios med för att kunna växa och etablera sig (Meeßen *et al.* 2013). För att återskapa symbiosen måste mykobionten först hitta fotobionten. När en spor landar på ett substrat börjar hyfer att växa ut. I en studie av Meeßen *et al.* (2013) där de undersökte effekterna av utsöndrade ämnen från alger på mykobionten *Fulgensia bracteata* tillväxt, fann de att många ämnen hade en effekt på tillväxten. När sporen börjar gro har Cyklo–(L–tryptofyl–L–tryptofyl) och Cyklo–(L–leucyl–L–tyrosyl), förkortat CTT och CLT, en direkt effekt på hur sporen gror. CTT tillsammans med två andra ämnen, ICA (Indol–3–karbaldehyd) och L–rhamnos, utsöndras av *F. bracteatas* huvudsakliga fotobioner från *Trebouxia*–släktet. CTT är två stycken tryptofan molekyler bundna till en cyklisk dipeptid. CLT har en liknande struktur men är snarare en cykliskt bunden dipeptid av L–leusyl och L–tyrosyl (Meeßen *et al.* 2013). Effekten av CTT på sporer var inte direkt utan påverkade sporerna över en längre tid. Ungefär 50% av sporerna gror inom en period på 10 dagar. På denna tid har CTT ingen effekt på antalet groningar, men efter c:a 30 dagar ökar mängden sporer som gror. Beroende på koncentrationen av CTT gror sporerna i olika stort antal, en högre koncentration av CTT resulterar i att fler sporer gror än när de är ostimulerade. De andra två ämnena, ICA och L–rhamnos hade en negativ effekt på antalet sporer som gror och reducerade antalet sporer som grodde till cirka 30% (Meeßen *et al.* 2013).

Växa och hitta fotobionten

Om ingen stimulering av sporen sker efter att den har börjat gro kommer sporen att sluta växa. Om sporen är stimulerad av CTT fortsätter den att växa tills hyferna når en längd på mellan 100–200 µm. CTT stimulerar endast tillväxten av hyferna upp till en viss längd, efter det krävs vidare stimulans. I den tidigare nämnda studien gjord av Meeßen *et al.* (2013) testade de även effekten av ribitol på tillväxten av mykobionten. Ribitol är en kristallin sockeralkohol som är naturligt förekommande i grampositiva bakterier och även i vissa växter. Då det inte nämns vart ribitol kommer från, är möjligt att det utsöndras av fotobionten men att det inte undersöktes av Meeßen *et al.* (2013) i deras försök. Om mykobionten stimuleras med ribitol överkommer den tillväxtstoppet och fortsätter att växa, en högre koncentration av ribitol gav en starkare effekt och ökad tillväxt (Meeßen *et al.* 2013). Ribitolen triggade även en tillväxt av hyferna uppåt i luften, samt en förgrening av dem, hyferna började växa ihop och bilda ett mycel. Den tillväxten fortsatte och bildade över tid en mer kompakt struktur. Den typen av tillväxt som triggades av ribitol observerades även i ett annat försök av Clayden (1998) då han triggade tillväxten hos en mykobiont av en annan art genom att tillsätta en kompatibel alg av *Trebouxia*–släktet till en mykobionten. Mykobionten började bilda liknande struktur som den gjort i Meeßen *et al.* (2013) försök med ribitol**.** Även om mykobionterna var av olika arter reagerade de på liknande sätt i Clayden (1998) och Meeßen *et al.* (2013) försök. Detta trotts att Meeßen *et al.* (2013) till skillnad från Clayden (1998) inte hade en fotobiont i kontakt med mykobionten utan använde ribitol. Ribitol verkar därför vara av betydelse för tillväxten av mykobionten eftersom effekten var liknande som kontakten med en kompatibel fotobiont.

Mykobionten får en ökad tillväxt och blir stimulerad av ämnen som utsöndras av fotobionter. Mykobionterna bildar dock inte symbios med vilken fotobiont som helst de som kommer i kontakt med utan har ofta en grupp av kompatibla fotobionter eller i vissa fall endast en kompatibel fotobiont (Yahr *et al.* 2006, Leavitt *et al.* 2013). Då de är selektiva finns det igenkänningsmekanismer hos mykobionter för att hitta sin önskade fotobiont. För att kunna skilja på vilka fotobionter mykobionten kommer i kontakt med tillverkar mykobionten ett ämne som sitter på ytan av myceliet. Ämnet har en igenkänningsfunktion som kan skilja mellan de olika fotobionterna den kommer i kontakt med. Ett av de ämnena som har den funktionen heter lectin. Lectin är ett glycoprotein som har en funktion för igenkänning av olika kolhydrater (se review Sharon & Lis 2004, Singh & Walia 2014). Mykobionten använder sig inte endast av lectin för igenkänning av fotobionter, det finns även ett protein kallat alg–bindnings protein (ABP) som har en liknande funktion som lectin (Meeßen & Ott 2013). Mykobionten kan då känna igen kompatibla fotobionter och bilda symbios med dem. I kombination med stimulering från CTT vilket utsöndras från fotobionter stimuleras sporer från mykobionter till att växa när en fotobiont är i närheten, vilket är mest fördelaktigt för mykobinten. En funktion som kallas för-kontakt sker när ytigenkänningsproteinet kommer i kontakt med en kompatibel fotobiont och stimulerar mykobiontens tillväxt (Figur 1). Kontakten med fotobionten stimulerar mykobiontens tillväxt på liknande sätt som ribitol gör. Sker ingen för–kontakt kommer tillväxten av mykobionten att stanna av (Meeßen & Ott 2013).



Figur 1. Interaktionen som sker när mykobiontens (MB) igenkänningsprotein möter fotobiontens (FB) ytmolekyler. Efter igenkänning skapas talluset om de båda symbionterna är kompatibla, om det är låg eller ingen kompitabilitet kan en parasitisk interaktion ske tills en kompatibel fotobiont dyker upp som mykobionten byter till (modifierad efter Meeßen & Ott 2013).

Kontakten med en fotobiont behöver inte alltid vara med en önskad fotobiont utan det kan vara med en annan fotobiont och till och med icke–laviserande alger. Även om dessa inte är helt kompatibla med mykobionten kan den ingå i en tillfällig symbios med dem tills en kontakt med den kompatibla fotobionten kan ske. Däremellan kan en tillfällig symbios eller till och med parasitism ske för att mykobionten ska överleva. Kontakten med fotobionten behöver inte heller vara från en frilevande grupp utan det kan ske genom parasitism från redan etablerade lavar som har den kompatibla fotobionten (Schaper & Ott 2003, Meeßen & Ott 2013). Vid kontakt med fotobionten börjar mykobionten att utsöndra en gelliknande substans som omsluter fotobionten. Hyfer växer också ut och omsluter fotobionten. Denna process sker även vid kontakt med fotobionter som inte är de som mykobionten helst vill ingå i symbios med. Vid sådana tillfälliga symbioser utsöndras en mindre mängd gel och hyferna omger inte fotobionten lika tätt (Ott 1987). När väl en kontakt med önskad fotobiont är etablerad börjar laven att bildas. Luftväxande hyfer bildas när mykobionten får kontakt

med fotobionten som bygger upp tallusen (Clayden 1998).

Tallusets funktioner

Den visuella delen av en lav, tallusen, är en struktur som är uppbyggt av mykobionten för att skapa ideala förhållanden för fotobionten att leva och fotosyntetisera i. Beroende på vilken typ av lav det är finns det olika strukturer för hur den är uppbyggd, men det finns generella strukturer som alla lavar har. Luftväxande hyfer från mykobionten bildar haustorier som växer inåt i laven och kommer i kontakt med fotobionten. Haustoriet penetrerar inte fotobionterna utan har endast en yttre ytlig kontakt med cellväggen. Ett gelliknande hydrofobt lager bestående av lipider, proteiner och sekundära komponenter från mykobionten bildas som en hinna över hyfernas celler och täcker sedan även fotobionten vid kontakt med den via haustorien (se review Honegger 1991). När den gelliknande filmen är torr är den ogenomskinlig men när den är fuktig är den genomskinlig. Det gelliknande lagret gör lavar väldigt torktåliga. Genom en passiv transport kan lösta näringsämnen och vatten transporteras från det övre kortexen, in i den apoplastiska zonen mellan det gelliknande lagret och hyfernas cellvägg och via haustoriets kontakt komma ner till fotobionten och tas upp. Det apoplastiska lagret gör det möjligt för laven att fotosyntetisera även när vattentillgången är låg. Hela talluset behöver inte vätskefyllas och är därför till stor del gasfylld. Fotobionten utsöndrar kolhydrater genom cellväggen, kolet hamnar då i det apoplastiska lagret mellan gelen och cellen och transporteras i ett löst tillstånd till mykobionternas celler som absorberar det (se review Honegger 1991, Honegger 1993). Mykobionten skapar då en ideal miljö för fotobionten att leva i. Förutom att skapa en miljö som har en bra och stadig tillströmning av vätska och näring possitioneras fotobionten på sådant sätt att de har bra ljustillgång. Laven kan även bilda strukturer som växter för att få en så bra tillgång till ljus som möjligt (se review Honegger 1993).

När mykobionten har etablerat symbios med en kompatibel fotobiont är symbiosen stabil. Fotobionterna som lever i laven kommer att kunna flyttas runt inom laven för att ha optimal tillgång till solljus och för att följa med i lavens tillväxt. De kommer även att genomgå celldelning för att öka antalet fotobionter som behövs allt eftersom laven växer sig större. Tillväxten av fotobionten kan stimuleras av mykobionten, i zoner av laven där tillväxt råder kan stimulering ske för att fler celler ska bildas. Då många skorplavar växer utåt i en cirkelform uppstår områden i mitten av laven där tillväxten stannat av, där kan mykobionten hämma fotobionten till att upphöra delning av celler (se review Honegger 1993).

Sekundära symbionter och kvävetillgång

För att fotosyntes ska kunna ske behövs även tillgång till kväve. Tillgången till kväve kan variera genom att det antingen kommer med lösta näringsämnen laven absorberar som rinner längs trädbark eller att det fixeras från luften av cyanobakterier (McDonald *et al.* 2012, Woods *et al.* 2012). Bakterier kan växa på laven och vara epibionter till laven, en del av dessa bakterier kan också fixera kväve som laven får ta del av (Honegger 2012). Bakteriella epibionter drar nytta av att ge kväve genom att få kol i form av vattenlösliga sockerarter och näring laven (Honegger 2012). I praktiken är det möjligt lavsymbiosen inte endast består utav en mykobiont och en fotobiont, utan även ett antal sekundär symbionter i form av bakterier. Antalet sekundära symbionter som finns är osäkert och man vet inte heller hur inkorporerade och nödvändiga många av dem är. I vissa miljöer dock, som på stenväxande lavar, är det viktigt för laven att ha bakterier som kan fixera kväve då laven själv inte kan det om fotobionten inte är en kvävefixerande cyanobakterie (Honegger 2012, McDonald *et al.* 2012).

Artificiella lavar

Då vi förstår symbiosen i lavar till stor del vore det möjligt att skapa artificiella lavar. I en studie gjord av Hom och Murray (2014) gjorde de en nischmodifiering för att initiera en mutualistisk symbios mellan ett jäst (*Saccharomyces cerivisiae*) och en grönalg (*Chlamydomonas reinhardtii*). Dessa organismer bildar inte naturligt symbios med varandra och är inte lavbildande organismer.

Genom att modifiera nischerna som algen och svampen odlades i fick de organismerna att skapa en mutualistisk symbios i en miljö som var fattig på både kväve och kol. Symbiosen i det fallet var annorlunda än en vanlig lavsymbios. I den här symbiosen bröt *S. cerivisiae* ned glukos till atmosfäriskt kol som *C. reinhardtii* kan använda. *C. reinhardtii* däremot reducerade nitrit till ammonium som *S. cerivisiae* kan använda. Symbiosen upprätthölls även när atmosfäriskt kol tillsattes i nischen som *C. reinhardtii* hade tillgång till. När ammonium tillsattes försvann svampens beroende av algen och svampens tillväxt snabb nog att den nästan dödade algen (Hom & Murray 2014). I sporspridande lavar som återbildar laven är det svampen som växer mot algen och initierar symbiosen igen. I Hom och Murrays (2014) rapport är det svampen som avbryter symbiosen när den kan bli självförsörjande igen. Algerna å andra sidan avbryter inte symbiosen. Detta beror antagligen på de olika organismernas tillväxthastighet. Det är antagligen därför som det endast är svampen som avbryter symbiosen då den kan växa över algen när den inte behövs för svampens överlevnad (Hom & Murray 2014). Den studien som är utförd av Hom och Murray (2014) är den enda som finns i det området. Det är därför ett väldigt outforskat område och något av intresse för framtida forskning.

Diskussion

Igenkänning och parasitism

Lavsymbiosen har funnits i c:a 415 miljoner år enligt de fossil man har funnit, det finns dock fossiler som tyder på att en lavlikande symbios evolverade fram för c:a 600 miljoner år sedan (Yuan *et al.* 2005, Honegger 2012). Symbiosen verkar ha funnits väldigt länge och har varit framgångsrik under en lång tid sedan liv klättrade upp på land. Lavar kan återfinnas i många miljöer idag där till och med inget annat kan växa, som till exempel den Namibiska öknen där det finns stora vidsträckta fält av lavar. Symbiosen mellan mykobionten och fotobionten har gjort det möjligt för båda symbionterna att få tillgång till näring i annars näringsfattiga miljöer. Under den långa tid som lavar har funnits har speciella mekanismer utvecklats för att optimera framgången hos symbiosen. Många olika spridningsmekansimer har utvecklats bland lavar, både asexuella och sexuella metoder finns vilket diskuterades tidigare. När sporen känner av och blir stimulerad av CTT ökar antalet sporer som gror i jämförelse med antalet som gror när CTT inte finns i närheten (Meeßen *et al.* 2013). Det här är första studien som har rapporterat att CTT utsöndras av lavbildande alger för första gången i studien gjord av Meeßen *et al.* (2013) och det utsöndrades inte av icke–lavbildande alger. CTT verkar därför ha utvecklats hos fotobiont som en metod att dra till sig mykobionten och bilda en symbios.

Även om lavbildande alger kan överleva utan mykobionten har de en sämre förutsättningar och verkar då aktivt söka de mykobionter som vill bilda symbios med dem. Fotobionterna sänder ut stimulerande ämnen för att bli funna av mykobionten. De producerar även artspecifika molekyler som de har på ytan av cellväggarna. Dessa molekyler är tillräckligt specifika för att mykobiontens lectin vid kontakt kan känna igen att det är den fotobionten den vill bilda symbios med. Det behöver inte, som tidigare nämnt, vara rätt vi första kontakt utan det kan vara en tillfällig symbios tills rätt fotobiont dyker upp. Kontakten med en kompatibel fotobiont stimulerar dock lavens tillväxt till att den börjar bilda lavliknande strukturer. Den långa evolutionen mellan mykobionten och fotobionten verkar ha bildat många olika mekanismer för att effektivisera igenkänning och specificera den. Båda symbionterna har mekanismer som underlättar processen.

Även om det länge har setts som en symbios, finns det teorier om att mykobionten kan parasitera på fotobionten och ta dess produkter från fotosyntesen. Det finns dock mycket i det jag har skrivit som talar emot den teorin, bland annat igenkänningsmekanismer i återlavbildning där båda parter verkar vara tillmötesgående och vill skapa symbiosen. Sedan är det själva mekanismerna i symbiosen. Fotobionten utsöndrar fotosyntetiska produkter som mykobionten tar upp och mykobionten skapar en miljö för fotobionten som är ideal. Den tillför näring, vatten, mineral och struktur som gör att fotobionten frodas. Det skulle kunna vara möjligt att symbiosen började som parasitism. Haustoriet

som mykobionten bildar är en parasitisk struktur som många svampar har (se review Honegger 1991). Den tidigaste lavliknande symbios som ska ha funnits för 600 miljoner år sedan (Yuan *et al.* 2005), kan egentligen ha varit en parasitism på fotobionten. Den parasitismen kan sedan ha blivit en mutalistisk symbios och haustoriet, som idag är modifierat och inte penetrerar cellväggen, har blivit kvar som en kontakt mellan de båda symbionterna.

Spridning

Även om sexuell spridning med sporer är vanligt hos lavar är det inte alltid fördelaktigt. Sporerna som sprids måste gro och växa för att hitta en fotobiont som mykobionten vill ingå i symbios med. För att göra det krävs det att sporen landar tillräckligt nära fotobionten för att växa till den och initiera symbios innan tillväxten avstannar. Det är fördelaktigt att sprida sig med sporer till nya områden när området föräldern växer i är övervuxet med tallus kan en spor inte få plats för att etablera sig. Problemet med sporer är som sagt att symbiosen måste återskapas och det behövs tur för att sporen hittar fotobionter som är kompatibla. Lavar har dock många andra förökningsmetoder och förökar sig ofta med asexuell spridning. En vanlig metod är att laven delar sig och lämnar en bit av tallusen som växer separat från moderslaven. Laven sprider sig inte långt men den behöver inte söka en fotobionten då symbiosen redan är etablerad. Om laven dock måste sprida sig till nya områden har en del lavar i karga områden en annan metod av spridning. De sprider sporer sprids tillsammans med fotobionten i hölje som båda finns i. Lavarna som sprider sig med denna metod har ofta inga möjligheter att hitta sina fotobionter fria då de är väldigt ovanliga. Genom sporspridning dör de flesta sporer som landar på ett substrat på grund av att fotobionterna de är kompatibla med är ovanliga att de dör innan de hittar dem (Honegger 2012).

Alla metoder har sina fördelar och nackdelar. Den metoden som används för att sprida sig i mer karga miljöer verkar dock vara väldigt fördelaktig på många punkter. Speciellt är att mykobionten inte behöver söka fotobiont då den redan finns med och det är i ett litet organ som kan sprida sig längre sträckor. En nackdel är samma som andra sporspridande lavar, växter och svampar har, sporen måste landa på ett lämpligt substrat. Det problemet har inte avknoppande lavar då de knoppas av på samma substrat. De kommer inte långt och kan inte ta sig ifrån substratet om de inte är vind- eller djurspridda. Det finns lavar som sprids med lavätande djur, små delar av laven överlever djurets matsmältning och kan börja växa igen. Ofta sker det genom lavätande kvalster och sniglar (Meier *et al.* 2002, Boch *et al.* 2011).

Förutom sporspridning är de spridningsmetoder som lavar har bra för att spridas tillsammans med sin fotobiont. Sporspridande lavar som rapporten handlar om är inte fördelaktigt om man endast bildar symbios med en art av fotobionter, det är bättre om laven kan alternera mellan flera olika fotobionter. En av anledningarna till att det skulle vara bra att kunna alternera mellan fotobionter kan vara att laven då kan sprida sig till fler områden, där dess fotobionter kanske inte finns. Annars är det fördelaktigt att behålla fotobionten och inte behöva söka efter den. Den sexuella reproduktionen kan fortfarande ske med lavar som bildar speciella organ för både sporen och fotobionten till spridning. Det vore då mer fördelaktigt att sprida sig på det sättet då lavar i vissa fall kan byta fotobionter även om de redan är i symbi**os** (Leavitt *et al.* 2013). Laven skulle då ha en fotobiont med sig och kunna sprida sig vidare om fotobionten inte klara sig, det är dock osannolikt att det skulle ske då lavar är extremt tåliga och överlever i miljöer med extrem torka och extrem kyla.

Användningsområden

Då lavar är väldigt tåliga organismer när det kommer till torka och kyla, klarar de sig ofta i miljöer där inga andra överlever. De är fotosyntetiserande tack vare fotobionten som finns i symbiosen och vissa lavar har cyanobakterier som fixerar kväve (Woods *et al.* 2012). Då lavar både fotosyntetiserar och i vissa fall kvävefixerar tillför de mycket till omgivningen där de lever, de har inga rötter och kan växa på substrat som sten och bark och kan få tillgång till mineraler från jord eller vittrande sten. Det borde vara möjligt att kunna använda lavar till att tillföra kväve till ett ekosystem där det är kvävefattigt. Det största problemet i det fallet ä**r** att lavar ofta växer extremt långsamt. Det finns däremot undantag i

form av till exempel *Ramalina menziesii*, som är den snabbast växande laven man känner till, den kan växa 43 cm på ett år (Herre 1904). Det finns många snabbväxande lavar, men arter som till exempel *Lobaria pulmonaria* är känsliga på luftföroreningar och dör i för höga halter av t.ex svaveldioxid. Arter som *R. menziesii* skulle dock kunna användas som organism för att återinföra näring i ekosystem. Det skulles dock behövas en mer ingående kunskap om livscykeln och symbionterna i laven för att kunna effektivisera tillväxten och överlevnad till den grad att laven blir användbar.

Då många lavar också är känsliga för luftföroreningar fungerar lavar väldigt bra som miljömarkörer. En studie gjord av Yemets *et al.* (2014) undersökte tillväxten och livsdugligheten hos lavar som växte längs en vältrafikerad landsväg i Norge. Den tidigare nämnda laven *L. pulmonaria* var en av de lavar som undersöktes och var den vars tillväxt påverkades mest av föroreningarna som den blev utsatt för. De andra lavarnas tillväxt påverkades inte lika mycket men de ackumulerade mycket av de föroreningar som de utsattes för. I städer undersöks idag hur mångfalden av lavar ser ut i olika områden då olika lavar klarar sig olika bra i föroreningar. Vissa lavar växer i speciella förhållanden som inte är hälsosamma för människor och återfinns då i miljöer med höga halter av luftföroreningar. Då vissa lavar är känsliga för att utsättas av många olika föroreningar som till exempel svaveldioxid, kan en tydlig skillnad ses på vilka arter som återfinns. Om olika områden med olika hög grad av luftföroreningar undersöks kan en annorlunda artsammansättning av lavar ses. I väldigt förorenade områden hittar man inga lavar utan endast fria grönalger, men i områden med ren luft hittar man ett rikt lavsamhälle (Nash & Gries 2002, Nash 2008).

Det finns många olika användningsområden av lavar genom historien. De har använts till bland annat mat, som färgämne, medicin och till och med som gifter. Bland giftiga lavar finns varglaven (*Letharia vulpicida*) som har använts till att förgifta vargar. Islandslaven (*Cetraria islandica*) har använts som både medicin och till matlagning. Att undersöka gamla användningsområden av lavar kan vara nödvändigt i dagens samhälle. Lavar har länge använts till mat och medicin men utnyttjas inte till det längre i samma utsträckning som förut. Eftersom lavar kan växa på olika substrat betyder det att åkermarker inte alltid behöver användas. Andra områden som till exempel klipphällar skulle kunna användas för odling då lavar kan växa på sådant substrat. Det är viktigt att förstå hur laven växer och vilka miljöer de klarar sig bäst i om man ska odla dem. Teoretiskt sätt dock skulle lavar kunna utnyttjas igen som födokälla, speciellt islandslav som i Skandinavien historiskt har använts i allt från bröd till sallader. Om inte vi använder dem skulle det vara möjligt att använda dem till utfodring av boskap. Renar använder redan renlav (*Cladonia rangiferina*) som en viktig och stabil födokälla och då laven finns i stor utsträckning och inte är giftig skulle det vara intressent att undersöka möjligheten i att använda den i utfodring.

Artificiella möjligheter och förädling

Möjligheten att använda lavar till utfodring, mat och mediciner skulle kunna öppna möjligheter till att specialdesigna lavar till att uppfylla våra behov. Det finns en studie av Hom och Murray (2014) där de har lyckats skapa en lavliknande organism genom nishmodifiering av miljön en svamp (*S. cerivisae*) och en grönalg (*C. reinhardtii*) kultiverades i. Det var en väldigt enkel symbios mellan två organismer som normalt inte bildar symbios, men det skulle mycket väl kunna likna den lavliknande symbiosen som fanns för 600 miljoner år sedan. Problemet är om symbiosen som skapades verkligen liknar den lavliknande symbiosen som fanns för 600 miljoner år sedan. Det skulle ta för lång tid att få symbiosen att verkligen utvecklas till en lav. Evolutionen skulle behöva snabbas upp för att skapa en lav och även då skulle det inte vara säkert att organismen skulle behålla de önskade karaktärerna som laven ska användas till. Det krävs mycket för att få fram en lav då symbiosen måste vara väldigt tät och den lavsymbios som finns har genomgått miljoner års evolution för att bli den symbios vi har idag. För att snabba på evolutionen skulle en ingående kunskap om vilka gener som har varit viktiga för att lavsymbiosen startades från början. För att bilda en specialdesignad lav från grunden till ett speciellt syfte skulle ta lång tid om man inte genetiskt modifierade svampar och alger för att bilda lavsymbios utan att ha en miljon år lång evolution. Problemet där är att man inte vet mycket om de

genetiska processerna som sker i en lavs bildning och tillväxt, det är fortfarande ett outforskat område.

Istället för att från grunden bilda en lav för ett speciellt syfte skulle det vara enklare och bättre att modifiera de lavar som finns, antingen genom förädling eller genmodifiering. Förädling skulle vara en mer acceptabel metod för att få fram önskade karaktärer och det skulle vara enklare att göra det idag då lavars genom fortfarande är outforskat. Det är dock svårt att förädla lavar då den sexuella reproduktionen inte liknar den som djur och växter har utan sker i hyfer som möts. Det är dock inget stort och outforskat att förädla lavar effektivt. Det är möjligt att göra i labb men det krävs mer kunskap om lavar och hur reproduktionen går till för att effektivt kunna förädla lavar på speciella egenskaper. Det är inget stort hinder men det måste tas med i planeringen i förädlingsförsök. Genmodifiering skulle möjligtvis vara lättare och är en snabbare metod då den sker från en generation till nästa. Eftersom det inte finns mycket information om lavars genom behövs det mer undersökningar inom det området innan man vet vilka delar av genomet som ska modifieras. Laven måste dock återväxa från den genmodifierande cellen och en ingående kunskap om återkolonisering skulle då underlätta den processen. Det finns dock möjligheter i att förädla lavar till ändamål som mat och foder. Det vore en födokälla som inte behöver gödningsmedel då laven själv kan binda kväve och absorbera lösta mineraler. Det är en möjlighet som borde undersökas mer.

Lavar på mars

Möjligheterna med lavar är många och något som har diskuterats mycket är att skicka lavar till Mars. I ett experiment utfört av Sancho *et al.* (2007) skickade de ut lavar i rymden i 16 dagar och sedan testade deras överlevnad. Lavarna hade överlevt och fortsatte att fotosyntetisera med samma kapacitet som tidigare. Försök gjorda av de Vera (2012) har simulerat Marsmiljöer för att testa lavars överlevnad, lavarna visade samma sak där, de överlevde förhållandena och fortsatte att fotosyntetisera. Då det finns planer på att skicka människor till Mars och även att göra den bebolig skulle lavar var en organism som kan skickas som en första fotosyntetiserande livsform till planeten. Det skulle visserligen ta väldigt lång tid innan planeten blev beboelig utan att behöva skyddande utrustning och syrgastuber. Det är dock en början och om man teoretiskt sett kan modifiera atmosfären på Mars skulle andra växter kunna följa. Även om laven skulle tillföra lite syre till atmosfären på Mars skulle den också där kunna användas som föda. Som jag diskuterade tidigare skulle laven kunna användas som både föda och foder om man kan förädla den. Om man kan förädla en lav som överlever förhållandena på Mars och ändå är ätlig skulle den kunna föras med och odlas ute på planetens yta istället för inne i växthus.

Slutsats

Laven är en väldigt komplex symbios som har utvecklat många olika metoder för att upprätthålla symbiosen. Laven återskapa den när symbionterna är separerade, vilket sker när svampen i laven sprider sig med sporer. I upprätthållande av symbiosen finns det många komplexa mekanismer för mykobionten att hitta och växa mot fotobionten. CTT är det lockande och stimulerande ämnet som gör att mykobionten växer mot fotobionten. Vid kontakt känner mykobiontens lectin igen kompatibla fotobionter genom deras artspecifika ytmolekyler. När väl symbiosen bildas blir den snabbt väletablerad och gelliknande vävnader bildas för att effektivisera vätskeupptag och transport som kan ske passivt i det apoplastiska lagret mellan gelen och cellerna. Möjligheterna att skapa äkta artificiella lavar idag är små eftersom kunskapen om genomet är låg. Det är osäkert om vilka gener det är som har störst inverkan på bildandet av lavsymbiosen genom dess evolutionära historia. Det skulle krävas en del genetisk modifiering av icke laviserande alger och svampar, men det är okänt vilka gener som ska modifieras och de behöver identifieras innan det skulle ske. Att skapa lavliknande symbioser är dock möjligt genom nischmodifiering.

Tack

Tack till Tuuli Larva och Sabina Rimfors för all återkoppling som ni gjorde på min rapport. Tack också till min handledare Anna Rosling för alla tips och noteringar som hjälpt mig att få fram den här rapporten.

Referenser

Boch S, Prati D, Werth S, Rüetschi J, Fischer M. 2011.Lichen Endozoochory by Snails. PLoS ONE **6**: e18770.

Clayden SR. 1998. Thallus initiation and development in the lichen Rhizocarpon lecanorinum. New Phytologist **139**: 685–695.

Erik FY Hom, Murray AW. 2014. Niche engineering demonstrates a latent capacity for fungal–algal mutualism. Science **345**: 94–98.

de Vera J. 2012. Lichens as survivors in space and on Mars. Fungal Ecology **5**: 472–479.

Herre AC. 1904. The growth of Ramalina reticulate. Botanical Gazette **38**: 218–219.

Honegger R. 1991. Functional aspects of the lichen symbiosis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **42**: 553–578.

Honegger R. 1993. Developmental biology of lichens. New Phytologist **125**: 659–677.

Honegger R. 1998. The lichen symbiosis—what is so spectacular about it? The Lichenologist **30**: 193–212.

Honegger R. 2012. The symbiotic phenotype of lichen–forming ascomycetes and their endo–and epibionts.

Leavitt SD, Nelsen .P, Lumbsch HT, Johnson LA, Larry L St. Clair. 2013. Symbiont flexibility in subalpine rock shield lichen communities in the Southwestern USA. The Bryologist **116**: 149–161.

McDonald TR, Dietrich FS, Lutzoni F. 2012. Multiple horizontal gene transfers of ammonium transporters/ammonia permeases from prokaryotes to eukaryotes: Toward a New Functional and Evolutionary Classification. Molecular biology and evolution **29**: 51–60.

Meeßen J, Ott S. 2013. Recognition mechanisms during the pre–contact state of lichens: I. Mycobiont–photobiont interactions of the mycobiont of Fulgensia bracteata. Symbiosis **59**: 121–130.

Meeßen J, Eppenstein S, Ott S. 2013. Recognition mechanisms during the pre–contact state of lichens: II. Influence of algal exudates and ribitol on the response of the mycobiont of Fulgensia bracteata. Symbiosis **59**: 131–143.

Meier FA, Scherrer S, Honegger R. 2002. Faecal pellets of lichenivorous mites contain viable cells of the lichen–forming ascomycete Xanthoria parietina and its green algal photobiont, Trebouxia arboricola. Biological Journal of the Linnean Society **76**: 259–268.

Miadlikowska J, Lutzoni F. 2004. Phylogenetic classification of peltigeralean fungi (Peltigerales, Ascomycota) based on ribosomal RNA small and large subunits. American Journal of Botany **91**: 449–464.

Miadlikowska J, Kauff F, Hofstetter V, Fraker E., Grube M, Hafellner J, Reeb V, Hodkinson BP, Kukwa M, Lücking R, Hestmark G, Otalora MG, Rauhut A, Büdel B, Scheidegger C, Timdal E, Stenroos, S., Brodo, I., Perlmutter, G.B., Ertz, D., Diederich, P., Lendemer, J.C., May, P., Schoch, CL, Arnold AE, Gueidan C, Tripp E, Yahr R, Robertson C, Lutzoni F. 2006. New insights into classification and evolution of the Lecanoromycetes (Pezizomycotina, Ascomycota) from phylogenetic analyses of three ribosomal RNA– and two protein–coding genes. Mycologia **98**: 1088–1103.

Nash TH. Gries C. 2002. Lichens as bioindicators of sulfur dioxide. SYMBIOSIS **33**: 1–21.

Nash TH. 2008. Lichen biology. 2:a uppl. Cambridge University Press, London.

Ott S. 1987. Sexual reproduction and developmental adaptations in Xanthoria parietina. Nordic Journal of Botany **7**: 219–228.

Sancho LG, De la Torre R, Horneck G, Ascaso C, De Los Rios A, Pintado A, Wierzchos J, Schuster M. 2007. Lichens survive in space: Results from the 2005 LICHENS experiment. Astrobiology **7**: 443–454.

Schaper T, Ott S. 2003. Photobiont Selectivity and Interspecific Interactions in Lichen Communities. I. Culture experiments with the mycobiont Fulgensia bracteata. Plant Biology **5**: 441–450.

Singh RS, Walia AK. 2014. Characteristics of lichen lectins and their role in symbiosis. Symbiosis **62**: 123–134.

Sharon N, Lis H. 2004. History of lectins: From hemagglutinins to biological recognition molecules. Glycobiology **14**: 53R–62R.

Tretiach M, Bertuzzi S, Candotto Carniel F, Virgilio D. 2013. Seasonal acclimation in the epiphytic lichen Parmelia sulcata is influenced by change in photobiont population density. Oecologia **173**: 649–663.

Tuovinen V, Svensson M, Kubartová A, Ottosson E, Stenlid J, Thor G, Dahlberg A. 2015. No support for occurrence of free–living Cladonia mycobionts in dead wood. Fungal Ecology, doi 10.1016/j.funeco.2014.12.003.

Woods CL, Hunt SL, Morris DM, Gordon AM. 2012. Epiphytes influence the transformation of nitrogen in coniferous forest canopies. Boreal Environment Research **17**: 411–424.

Yahr R, Vilgalys R, DePriest PT. 2006. Geographic variation in algal partners of Cladonia subtenuis (Cladoniaceae) highlights the dynamic nature of a lichen symbiosis. New Phytologist **171**: 847–860.

Yemets O, Solhaug K, Gauslaa Y. 2014. Spatial dispersal of airborne pollutants and their effects on growth and viability of lichen transplants along a rural highway in Norway. Lichenologist **46**: 809–823.

Yuan X, Xiao S, Taylor TN. 2005. Lichen–like Symbiosis 600 Million Years Ago. Science **308**: 1017–1020.

Frilevande fotobionters återkolonisering av mykobionter från sporspridande lavar: etisk bilaga

Niklas Wickander

Självständigt arbete i biologi 2015

Genmodifiera lavar

Att skapa artificiella organismer genom antingen förädling eller genmodifiering är ett kontroversiellt ämne i dagens samhälle. Är det rätt att vi ska skapa och modifiera organismer efter våra egna önskemål? Är det rätt att öka risken för sjukdomsspridning genom att skapa homogena organismer som är känsligare för nya sjukdomar? I min rapport skriver och diskuterar jag kring skapandet av artificiella lavar. Lavar är som nämnt i rapporten en symbios mellan en mykobiont och en fotobiont. Genom århundradena har lavar använts och används fortfarande till mat, färgämnen och mediciner. Idag när det är matbrist och överanvändning av odlingsmarker är det värt att fundera på att återinföra lavar som tillskott till vår mat. För att effektivisera produktionen av lavar till praktiska ändamål, är det då okej att modifiera laven till att bli bättre för oss?

Dagens samhälle behöver en högre matproduktion och lavar kan vara en lösning då de kan växa på ytor där andra grödor inte kan. För att maximera avkastningen skulle genmodifiering kunna tillämpas på lavar. Genmodifiera lavar till att växa snabbare och till att bli bättre mat till människor. Det skulle vara bra för att möjliggöra användning av tidigare otillgängliga födokällor eller till att förbättra dem vi har. Det är däremot viktigt att se till att genmodifierade organismer inte kommer ut i det vilda. Kommer GMO ut i det vilda kan det konkurrera ut redan existerande organismer och få konsekvenser vi inte kan föreställa oss.

En annan fråga som jag tog upp i min rapport var att skapa artificiella lavar. Att skapa en symbios utifrån två icke-lavbildande organismer. Den lav-liknande organismen skapades genom att modifiera nischen en svamp och en alg levde i att de bildade symbios för att överleva. För att få två organismer som vanligtvis inte bilda symbios att göra det krävs antagligen genmodifiering. Det blir då genmodifiering av organismer till att bilda en onaturlig symbios till människans fördel.

Forskningsetik

Under projektet har jag tagit information ifrån orginalkällor i största möjliga mån. I vissa fall är det omöjligt då artiklarna inte går att få tag i eller är skrivna på ett språk jag inte behärskar. I sådana fall har jag fått referera i andra hand. I några fall har jag använt review artiklar men det är antingen av tidigare nämnda anledningar eller för att review artikeln var en bra sammanfattning av basfakta**.** I största möjliga mån har jag refererat till originalarbetena för att det anser jag är rätt emot författaren och ger bäst information för mitt eget arbete. Referenserna har placerats ut i texten i slutet av meningar och stycken som hämtar information från de referenserna. Författarnas namn och artiklarnas referenser nämns ofta i förtydligande syfte för att visa vart informationen kommer ifrån.