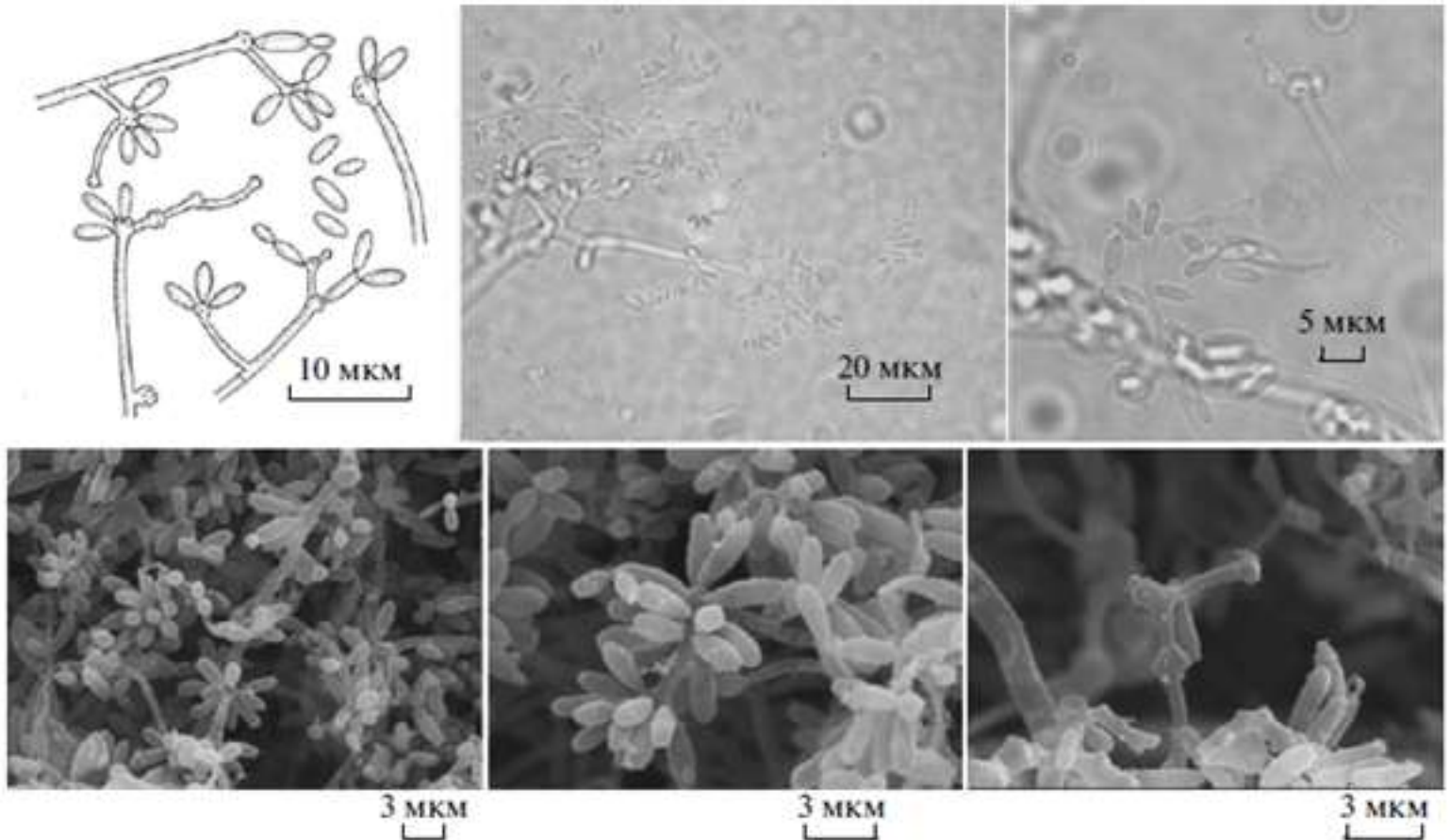


Некоторые аспекты биологии
Quambalaria cyanescens (de Hoog & G.A.
de Vries) Z.W. de Beer, Begerow & R. Bauer
в ассоциации с березой повислой
(*Betula pendula* Roth)

Научные руководители:
Проф. Камзолкина О.В.
С.н.с. Антропова А.Б.

Работу выполнила
студентка 4 курса
Полякова О.Г.

Quambalaria cyanescens (отдел Basidiomycota, класс Exobasidiomycetes, порядок Microstromatales, семейство Quambalariaceae).



(Антропова и др., 2014)

Цель и задачи

Цель: провести сравнительное изучение биологии изолятов *Quambalaria cyanescens* с березы повислой: трофические и температурные потребности, спектр внеклеточных ферментов и особенности вегетативного роста.

Задачи:

1. Пополнить данные о распространении *Q. cyanescens* в ассоциации с березой повислой.
2. Выявить оптимальную температуру для роста штаммов *Q. cyanescens*, изолированных из разных регионов Евразии.
3. Изучить влияние разных источников азота и углерода на скорость линейного роста и морфологию штаммов *Q. cyanescens*.
4. Исследовать внеклеточную пептидазную активность изолятов *Q. cyanescens*.
5. Провести скрещивание моноспоровых изолятов *Q. cyanescens*, принадлежащих к одному родительскому штамму и к разным.

Материалы и методы

Пять штаммов *Q. cynopescens* из коллекции кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова: «Р.в.1» (Москва), «Бурцево-1» (Московская область), «Рязань» (г. Рязань), «Чебоксары» (г. Чебоксары), «Болгария» (г. Несебр, Болгария) и типовой штамм CBS 357.73.

Районы сбора образцов.

- 15 исследованных мест
- 51 береза
- 832 образца мужских сережек



Материалы и методы

Определение скорости роста при разных температурах.

Посев на чашки Петри с мальт-агаром (2,0 Б° МА). Культивировали при 20, 26, 30, 34 и 37°C.

Исследование углеродного и азотного питания.

Питательные среды на основе среды Чапека с различными источниками азота (NaNO_3 , NH_4Cl , Пептон) и углерода (Глюкоза, Сахароза, Декстрин). Культивировали при 26°C.

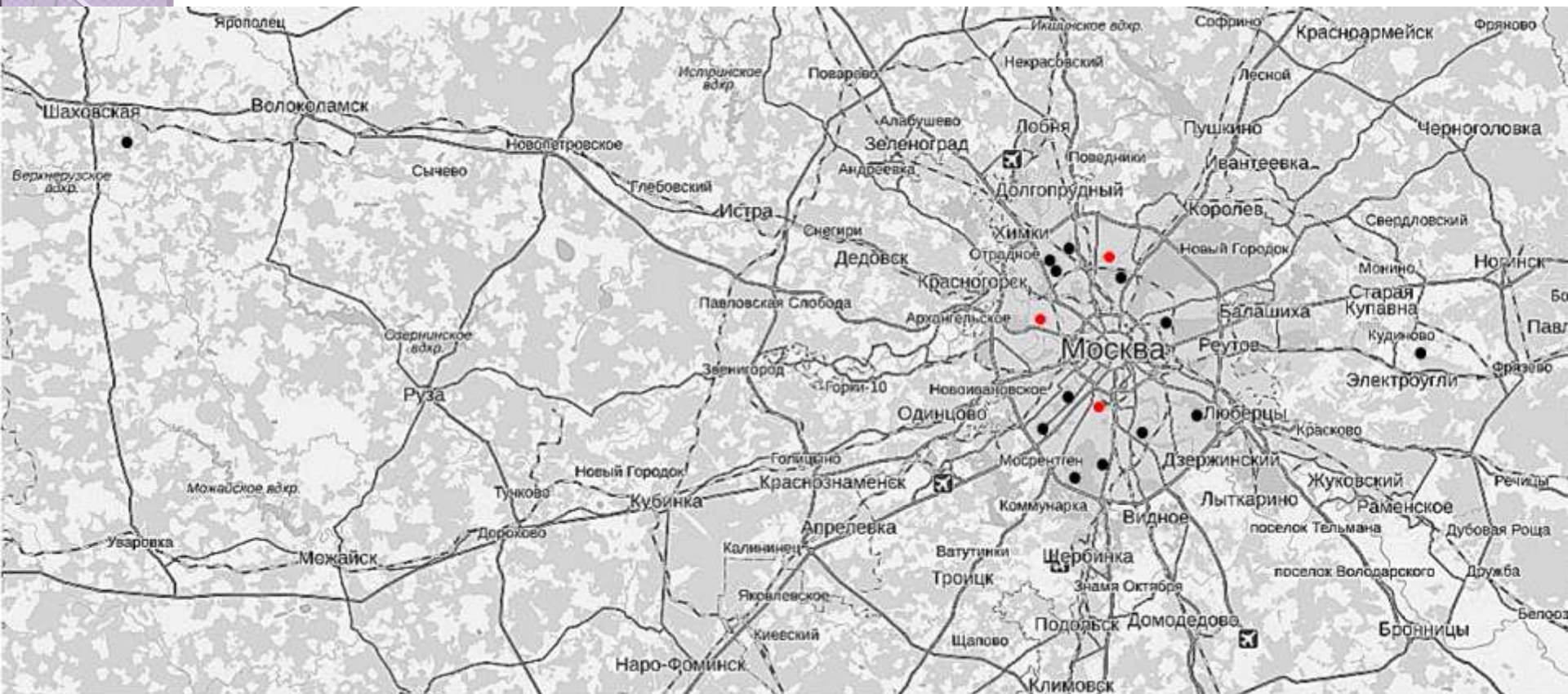
Измерение внеклеточной пептидазной активности.

Культивировали на жидкой среде Чапека с добавлением казеина вместо NaNO_3 . Определение внеклеточной протеолитической активности проводилось путем теста культуральной жидкости на гидролиз пептидных связей. При этом использовались как белковый (азоказеин), так и синтетические паранитроанилидные субстраты (субтилизиноподобных протеиназ, трипсиноподобных протеиназ, аминопептидаз). Культуральную жидкость брали на 6, 8 и 10 сутки роста.

Скрещивание моноспоровых изолятов.

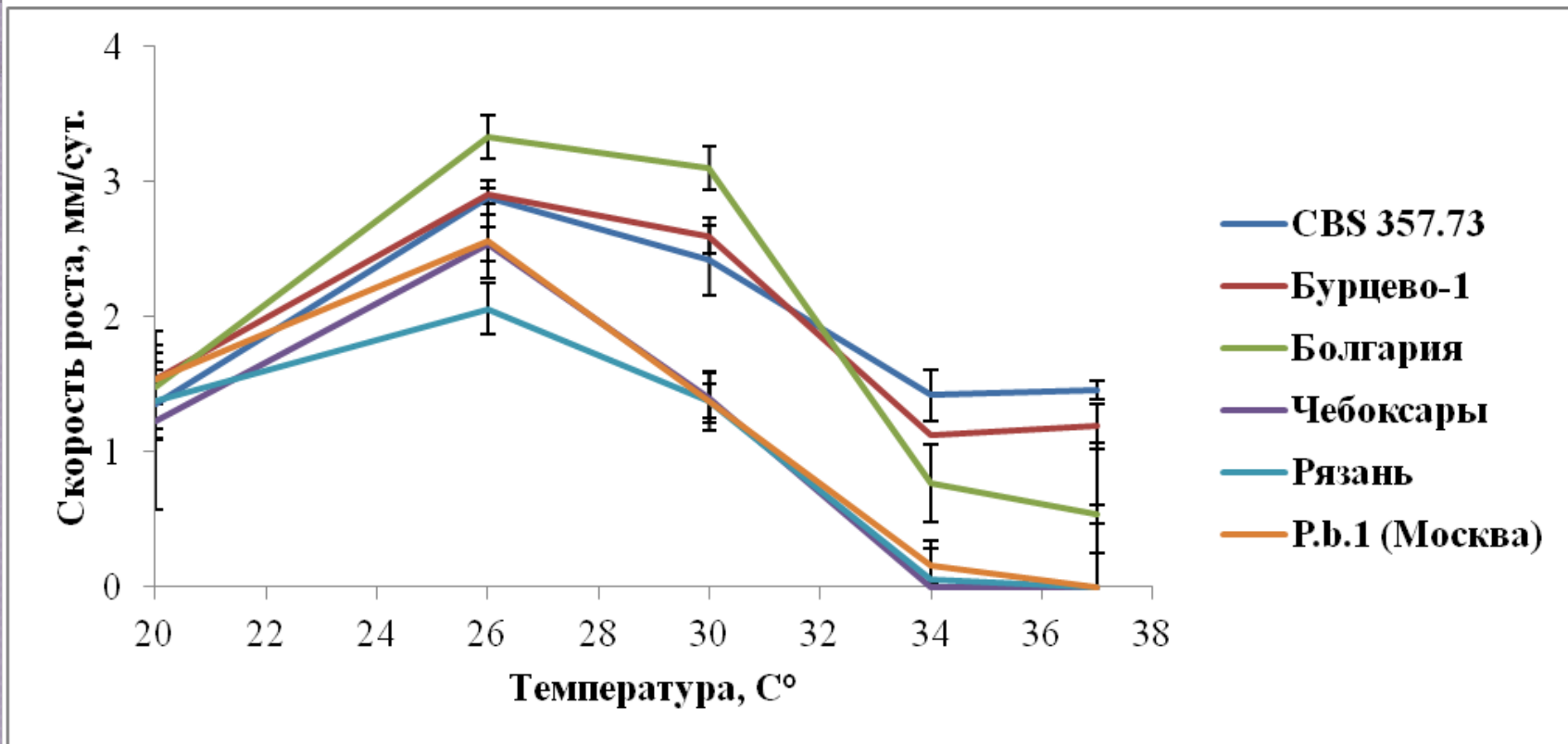
Моноспоровые изоляты двух штаммов (Бурцево-1 и CBS 357.73) скрещивали на чашках Петри с 2,0 Б° МА и на агаровых мазках по стандартной методике. Выявление анастомозов проводили с помощью окрашивания зоны контакта DAPI и последующего микроскопирования.

Районы обнаружения *Q. суапенсес*



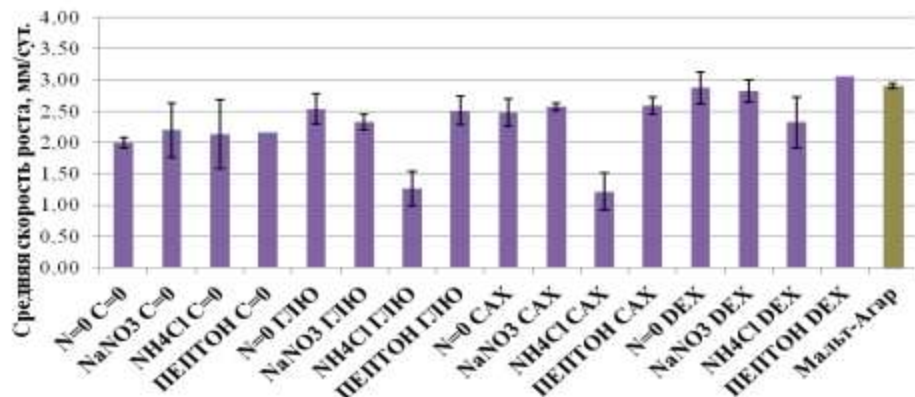
Черными точками на карте отмечены места ранних находок (Антропова и др., 2014), красными – места, исследованные в данной работе.

Скорость линейного роста колоний штаммов *Q. suavescens* при разных температурах

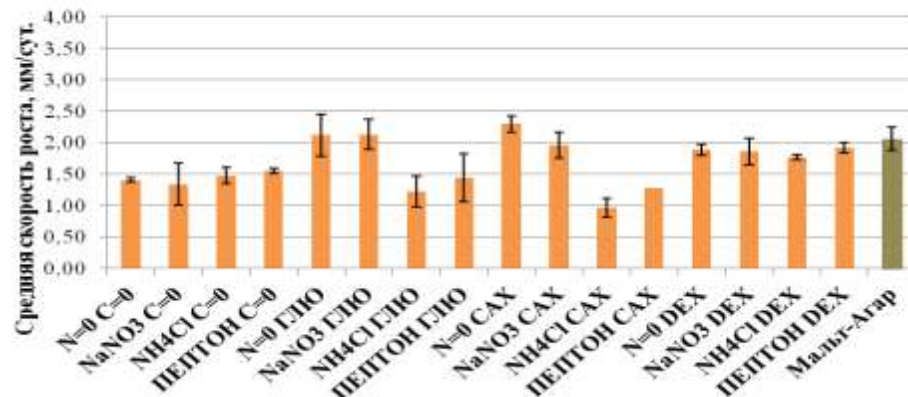


Углеродное и азотное питание штаммов *Quambalaria cyanescens*

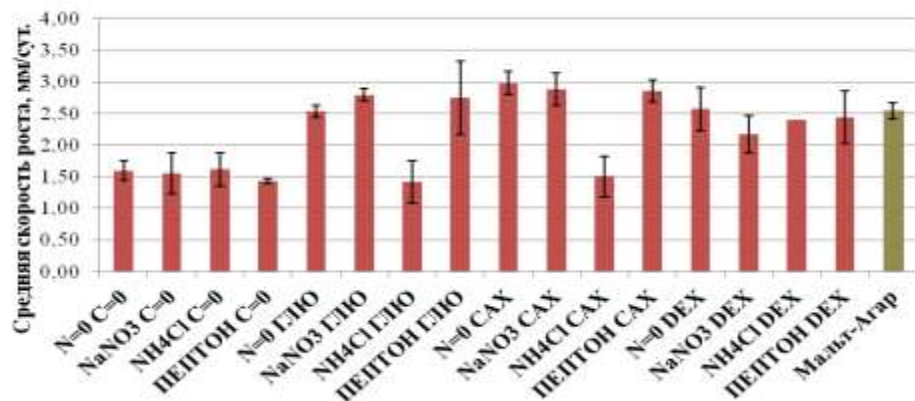
«Бурцево-1»



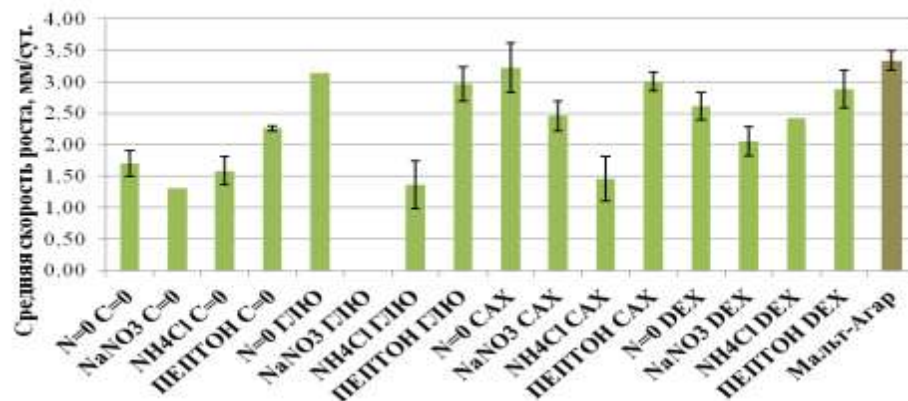
«Рязань»



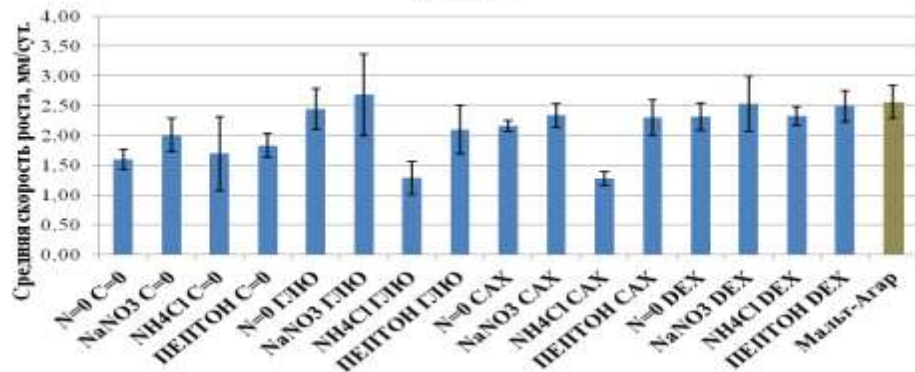
«Чебоксарь»



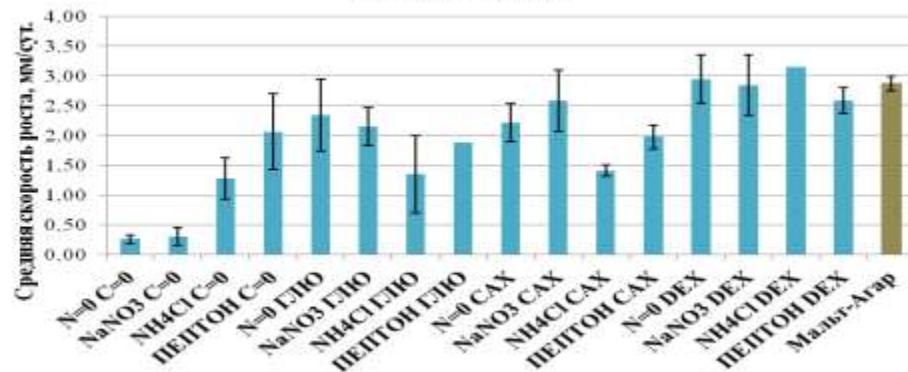
«Болгария»



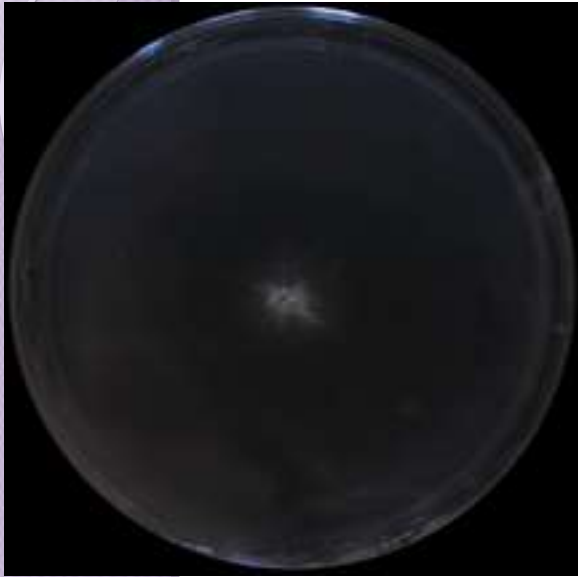
«Р.в.1»



«CBS 357.73»



Морфология колоний на средах с различными источниками азота и углерода



Среды без источника азота и/или углерода



«N=0 – Декстрин»



«Пептон – Декстрин»



« NaNO_3 – Декстрин»

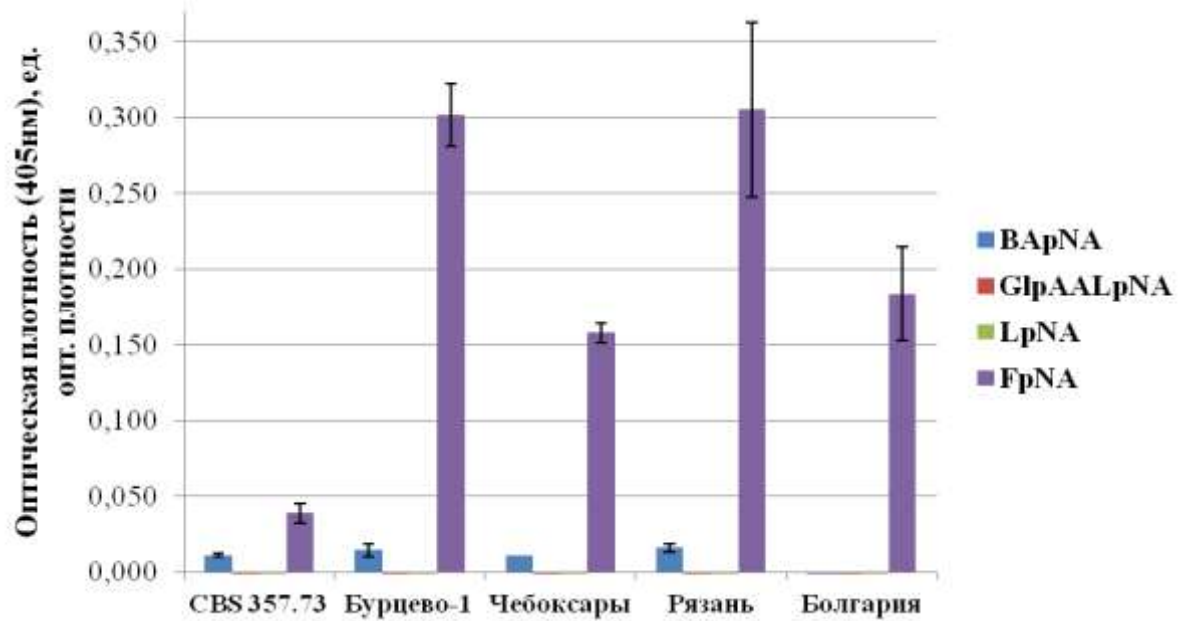


«Пептон – Сахароза»
«Пептон – Глюкоза»

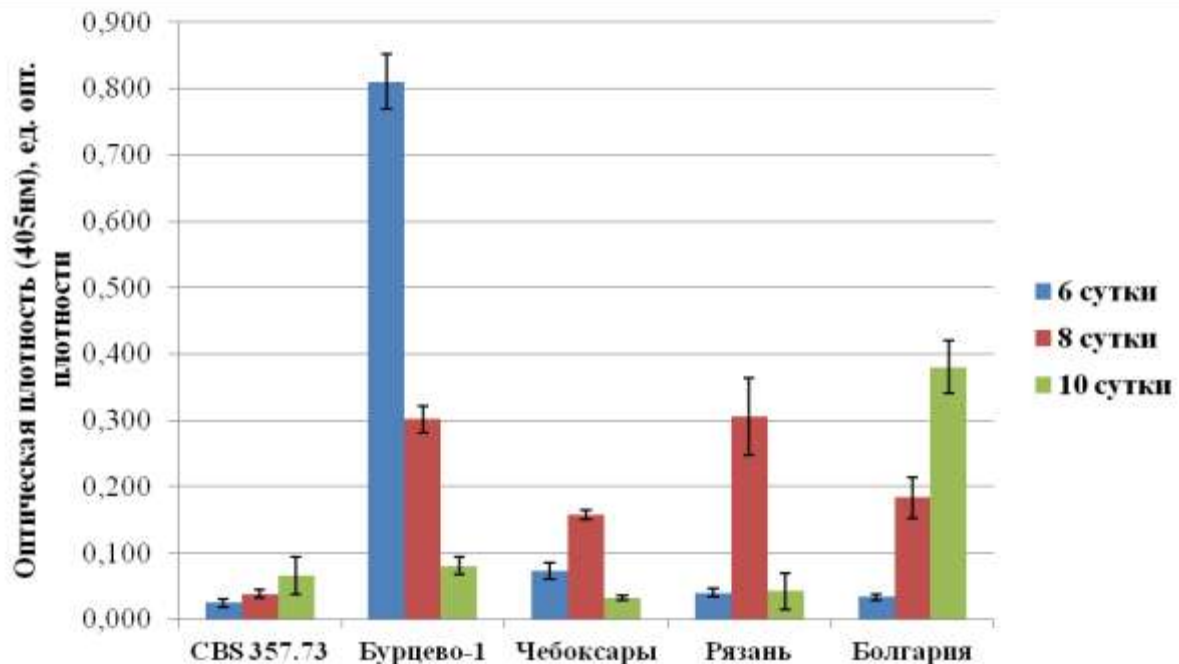


« NH_4Cl – Глюкоза»
« NH_4Cl – Сахароза»

Внеклеточная пептидазная активность

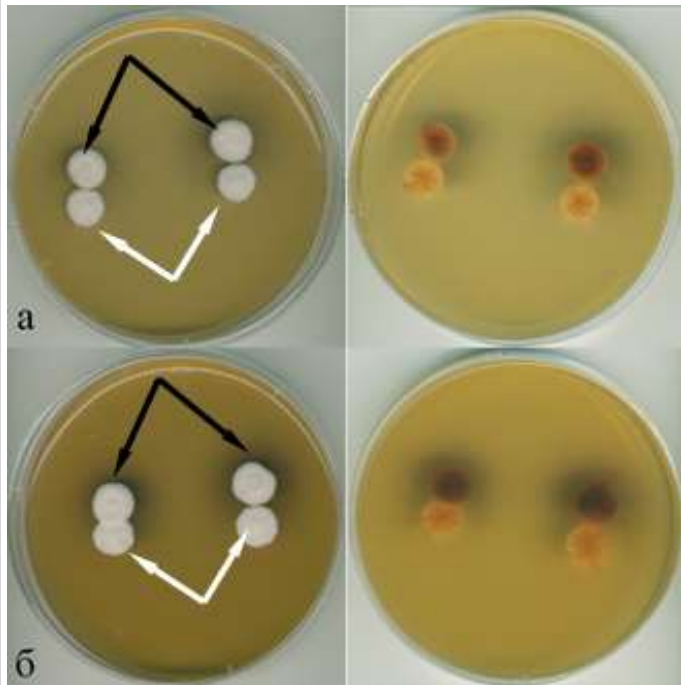


Пептидазная активность штаммов *Q. cyanescens* на 8 сутки роста.

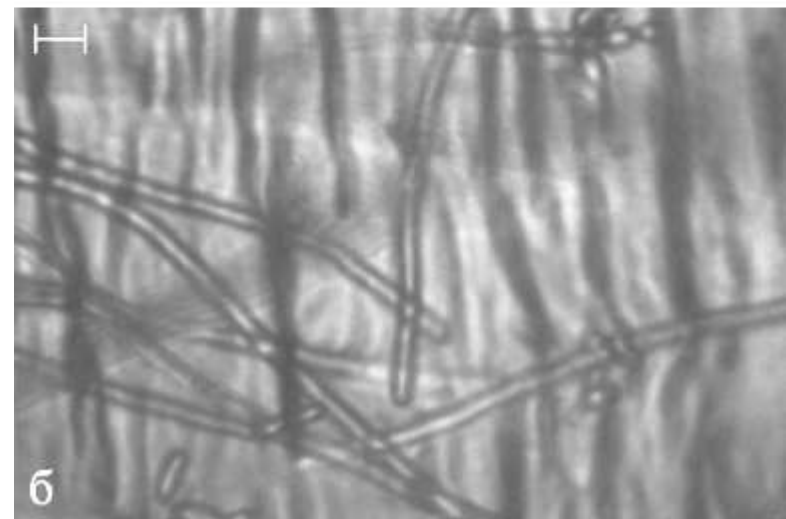
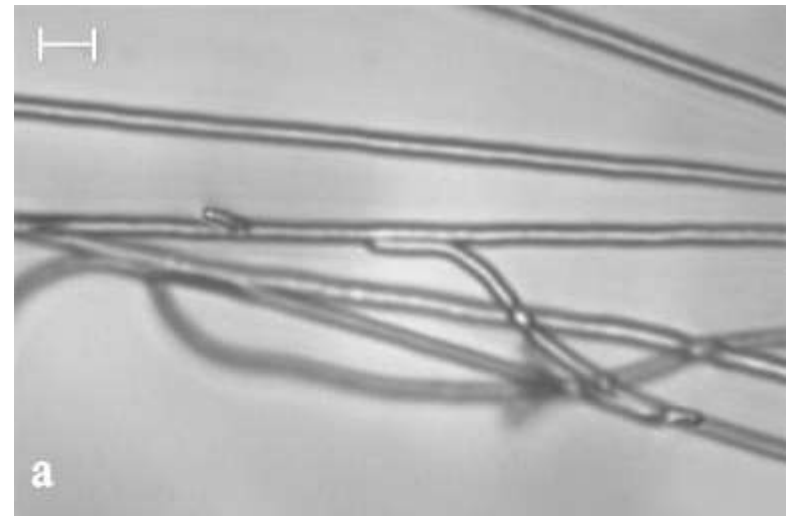


Пептидазная активность штаммов *Q. cyanescens* на субстрате FpNA.

Скрещивание моноспоровых изолятов двух штаммов *Q. cyanescens*



Скрещивание моноспоровых культур типового штамма CBS 357.73 (черные стрелки) и Бурцево-1 (белые стрелки) *Q. cyanescens*; а – Т4хБ3; б – Т5хБ3



Зона контакта гиф штаммов *Q. cyanescens*: а) CBS357.73 и Бурцево-1 (Т1хБ5) и б) изолятов штамма CBS 357.73 (Т2хТ3). Масштабный отрезок равен 5мкм

Выводы

1. Расширен список районов обнаружения *Q. cyanescens* в ассоциации с березой повислой в московском регионе.
2. Исследованные штаммы *Q. cyanescens* - мезофилы, некоторые проявляют термотолерантность. Оптимальная температура для роста штаммов, изолированных с березы, и типового штамма (CBS 357.73) составляет 26°C. Для штаммов, изолированных из Болгарии (штамм «Болгария»), Бурцево (Подмосковье) и с кожи человека (CBS 357.73, Голландия), температура 30°C является близкой к оптимальной.
3. Высокая скорость линейного роста всех исследованных штаммов *Q. cyanescens* определяется наличием в питательной среде источника углерода (декстрина, глюкозы и сахарозы).
4. Воздушный мицелий и спороношение у всех исследованных штаммов *Q. cyanescens* образуется на среде мальт-агар или синтетической среде с источником углерода.
5. Развитие дрожжевой стадии у всех исследованных штаммов *Q. cyanescens*, кроме штамма «Болгария», связано с отсутствием в среде роста источника азота или повышением температуры до 34-37°C.

Выводы

6. У всех исследованных штаммов *Q. cyanescens* максимальная общая секретлируемая пептидазная активность наблюдается на 6-8 сутки роста.
7. Среди специфических активностей сравнительно на высоком уровне представлена характерная для сапротрофов аминопептидазная активность по отношению к ароматическим аминокислотным остаткам.
8. Трипсин-подобная активность, характерная для фитопатогенов, у всех исследованных штаммов незначительна.
9. Скрещивание моноспоровых изолятов, потомков одного или двух штаммов *Q. cyanescens*, не выявило присутствия анастомозов.



Спасибо за внимание!