

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова

Биологический факультет



«Микофильные грибы Тверской области на примере стационара «Крутицы» ИПЭЭ РАН и их физиолого-биохимические особенности»

Выполнил студент IV курса
кафедры Микологии и Альгологии
Антонов Е. А.

Научный руководитель:
д.б.н. А. В. Александрова



Москва 2017

Актуальность работы

Анализ видового разнообразия является основой для понимания процессов формирования и функционирования биоценозов, при этом микофильные грибы, как важный компонент биоценоза, часто слабо изучены, хотя, их всестороннее исследование имеет важное теоретическое и практическое значение.

Исследования видового разнообразия микофильных грибов на территории России проводилось только для некоторых регионов, последние значимые работы были опубликованы более 25 лет назад.

Для Тверской области таких исследований не проводилось и данных по этой группе нет.

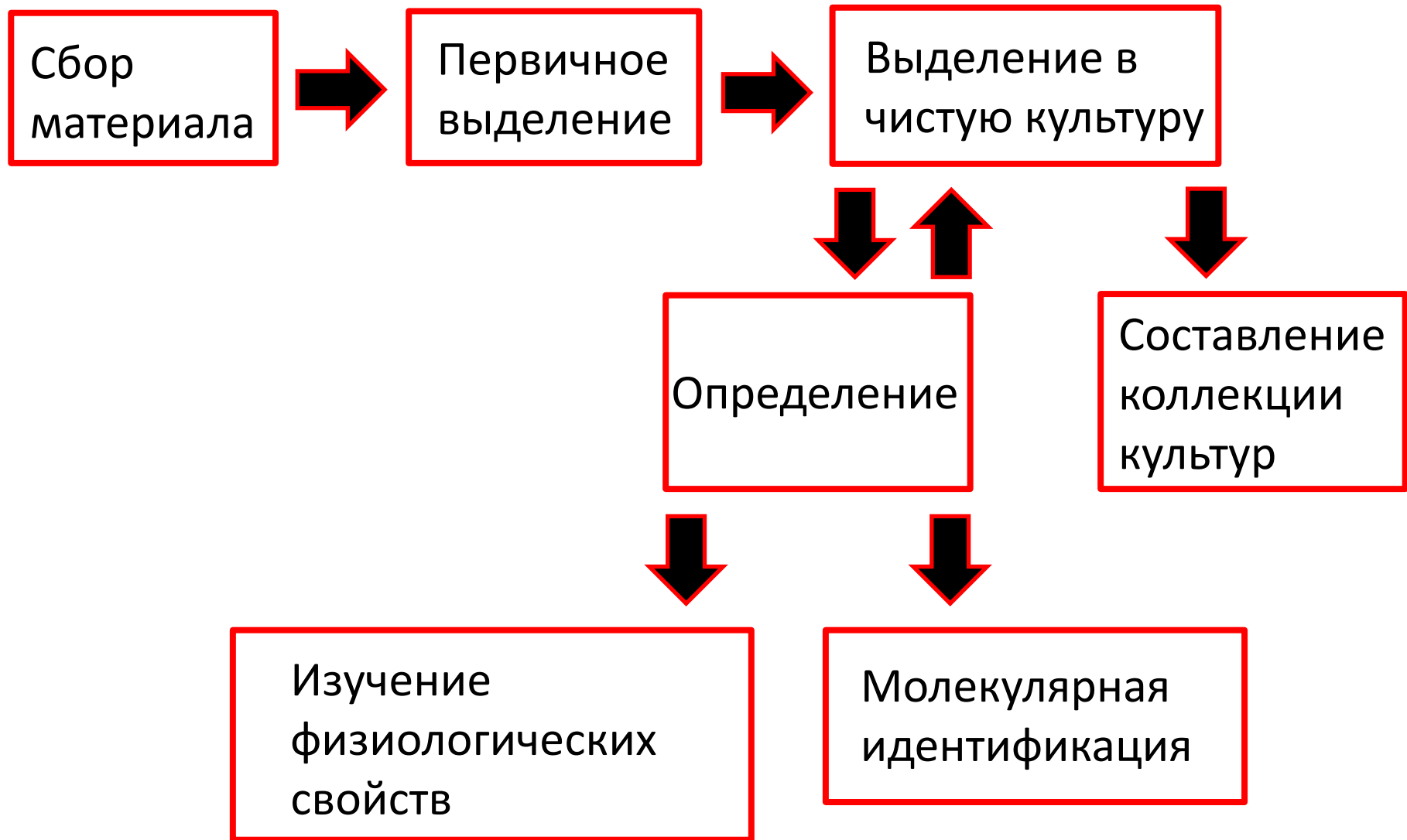
Цель и задачи

Цель работы – на примере стационара ИПЭЭ РАН «Крутицы» исследовать микофильные грибы Тверской области и их физиолого-биохимические особенности

Задачи

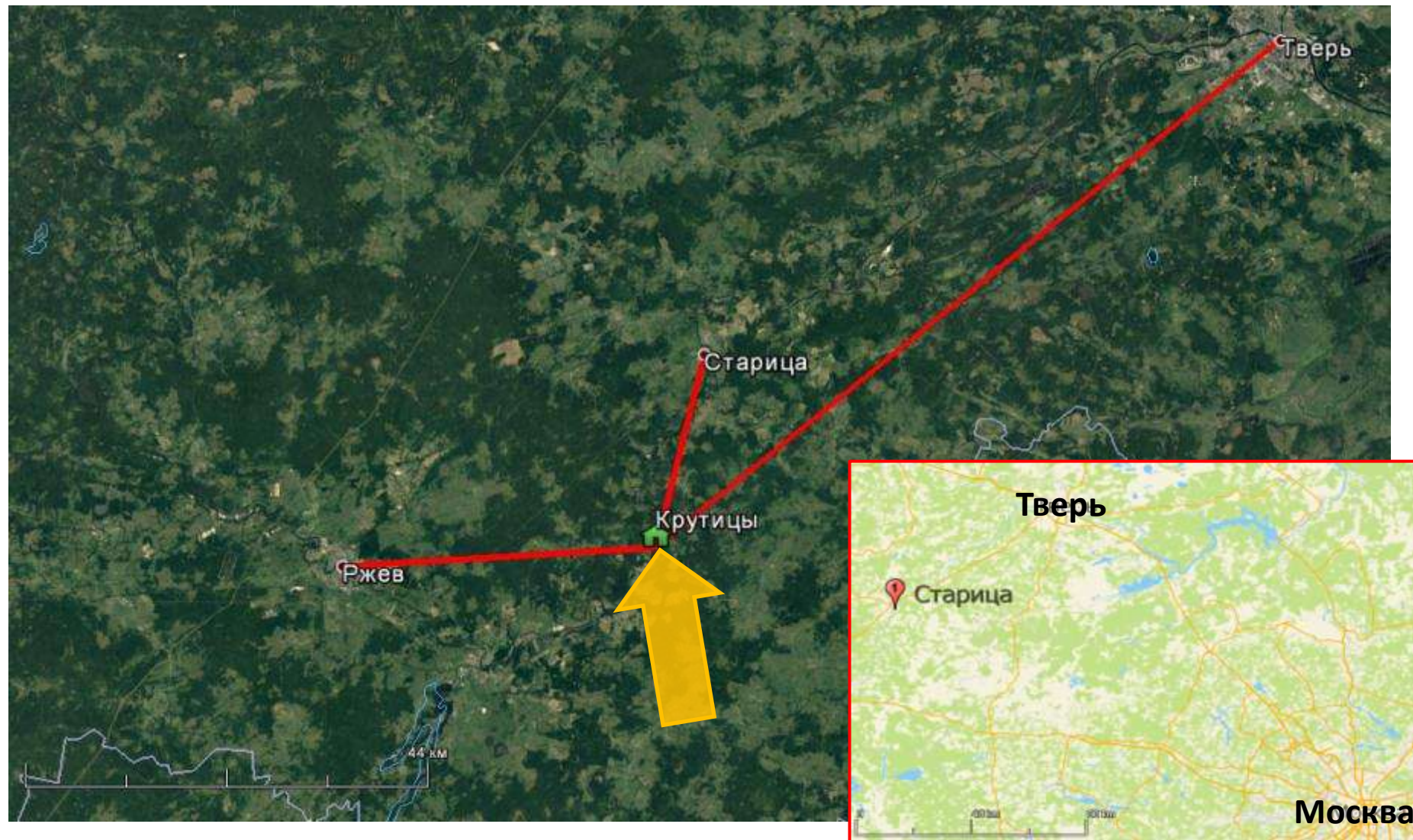
1. Собрать гербарий и выделить культуры микофильных грибов с территории стационара «Крутицы» ИПЭЭ РАН в Тверской области.
2. Провести идентификацию по морфологическим и молекулярным признакам.
3. Изучить физиологические особенности (на примере нескольких изолятов):
 - Способность усваивать различные источники углерода и азота.
 - Диапазон температур роста, найти оптимум.

Схема работы



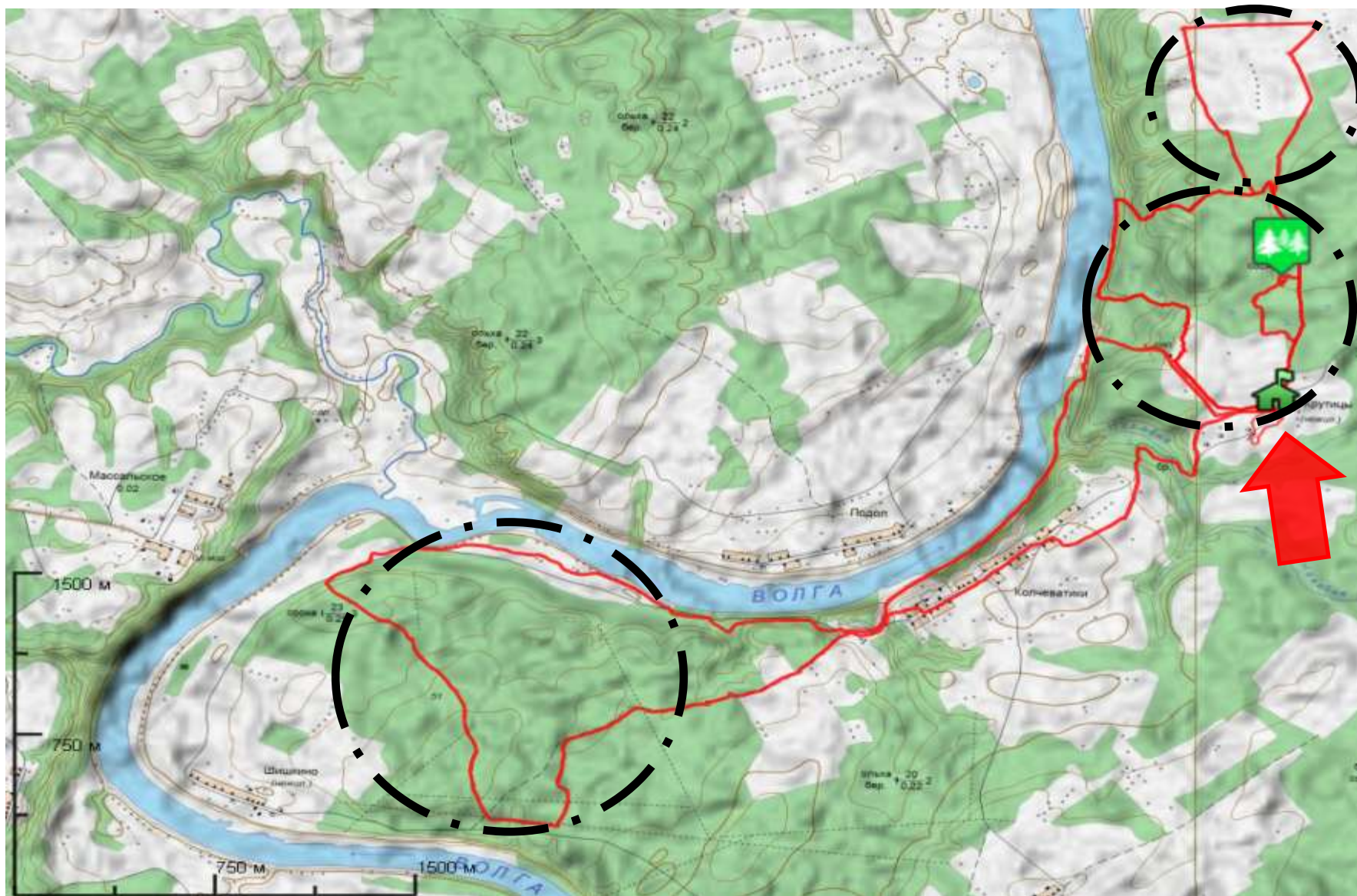
Сбор материала

- Сентябрь 2016 года, на базе стационара ИПЭЭ РАН
«Крутицы», Старицкий район, Тверская область



Сбор материала

- Маршрутным методом



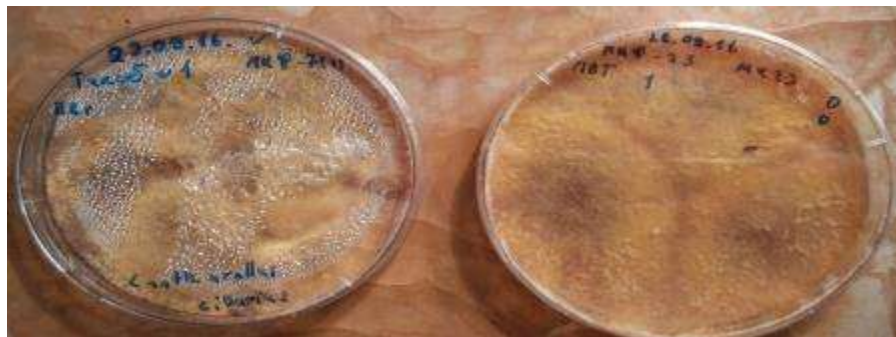
Сбор материала. Выделение в культуру

- Собирались плодовые тела макромицетов с видимым мицелиальным поражением



Выделение в стационаре

- Получено 80 чашек первичных изолятов



Видовой состав

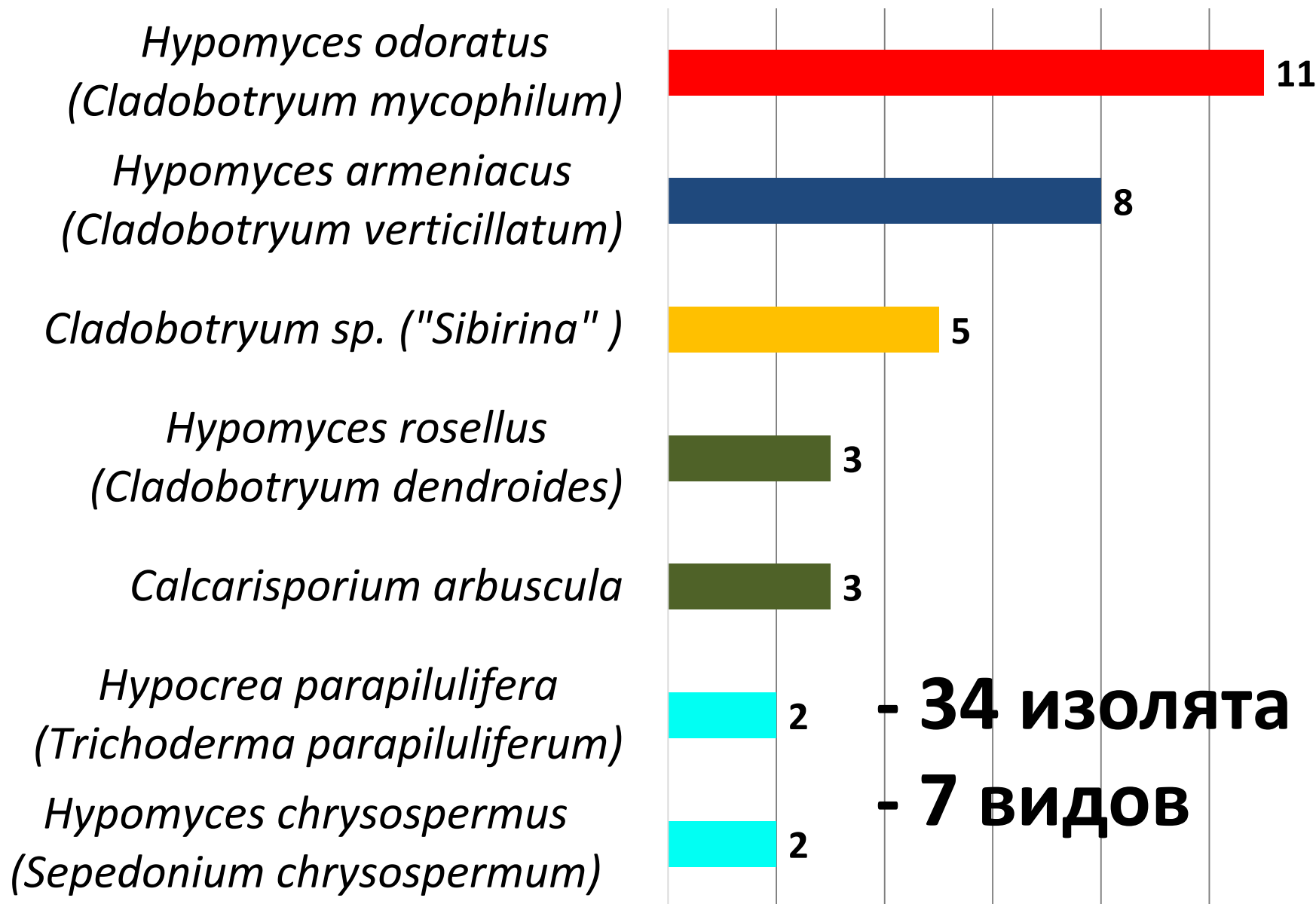
Число микофильных грибов, выявленных в ходе работы



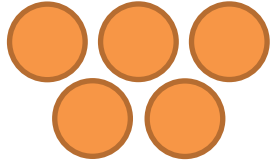
**10 видов
микофильных
грибов**

Коллекция полученных изолятов

Количество штаммов в коллекции



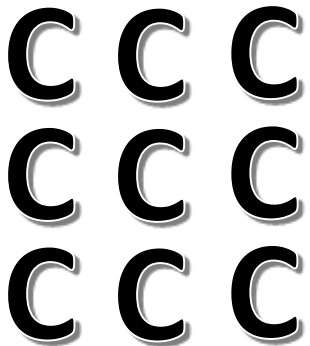
Экспериментальная часть. Источники азота и углерода



5 штаммов / повторность x5



3 источника азота: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NaNO_3 , казеин

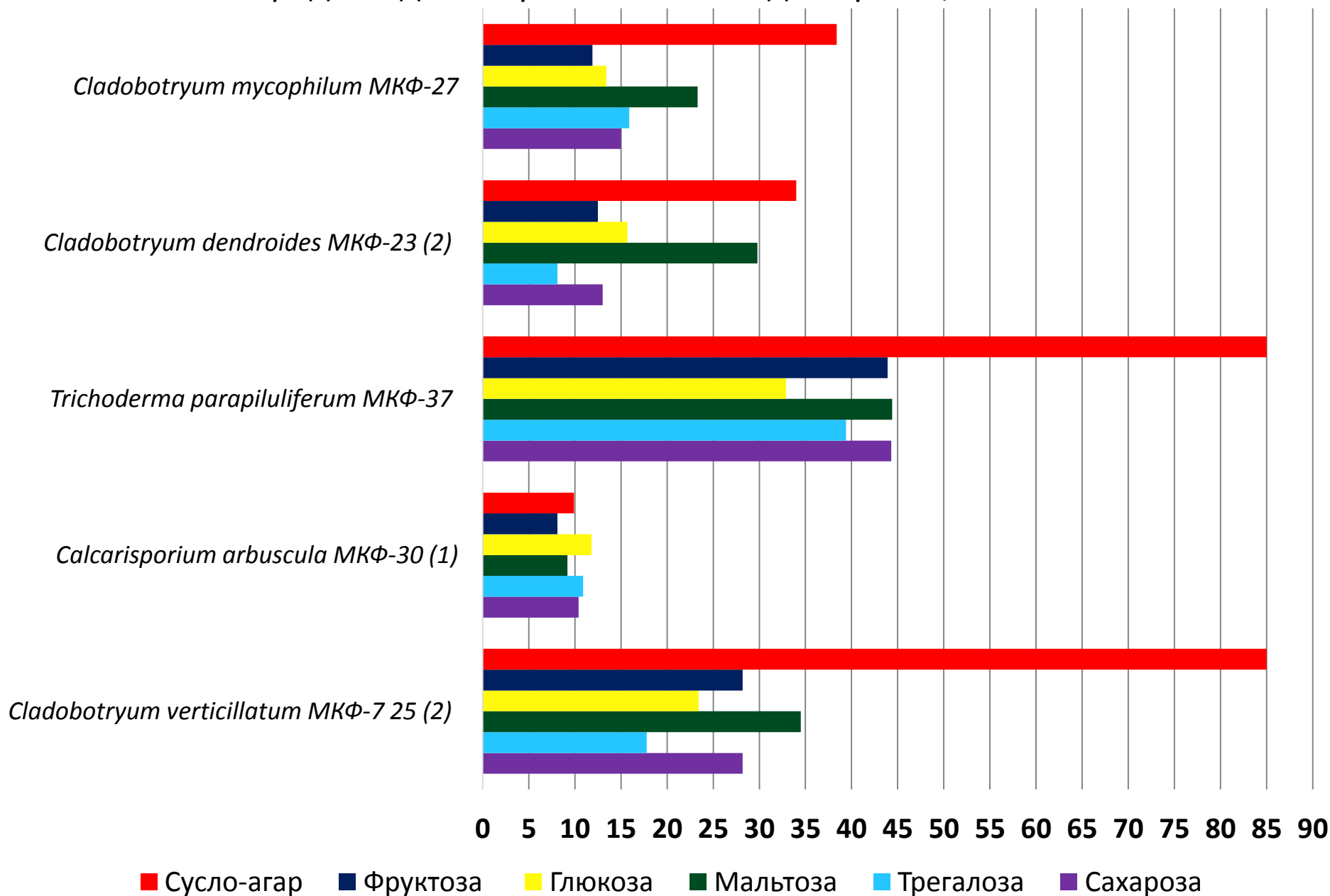


9 источников углерода: сахароза, D-глюкоза,
трегалоза, казеин, картофельный крахмал,
декстрин, мальтоза, лактоза и фруктоза

Экспериментальная часть. Источники углерода. Результат

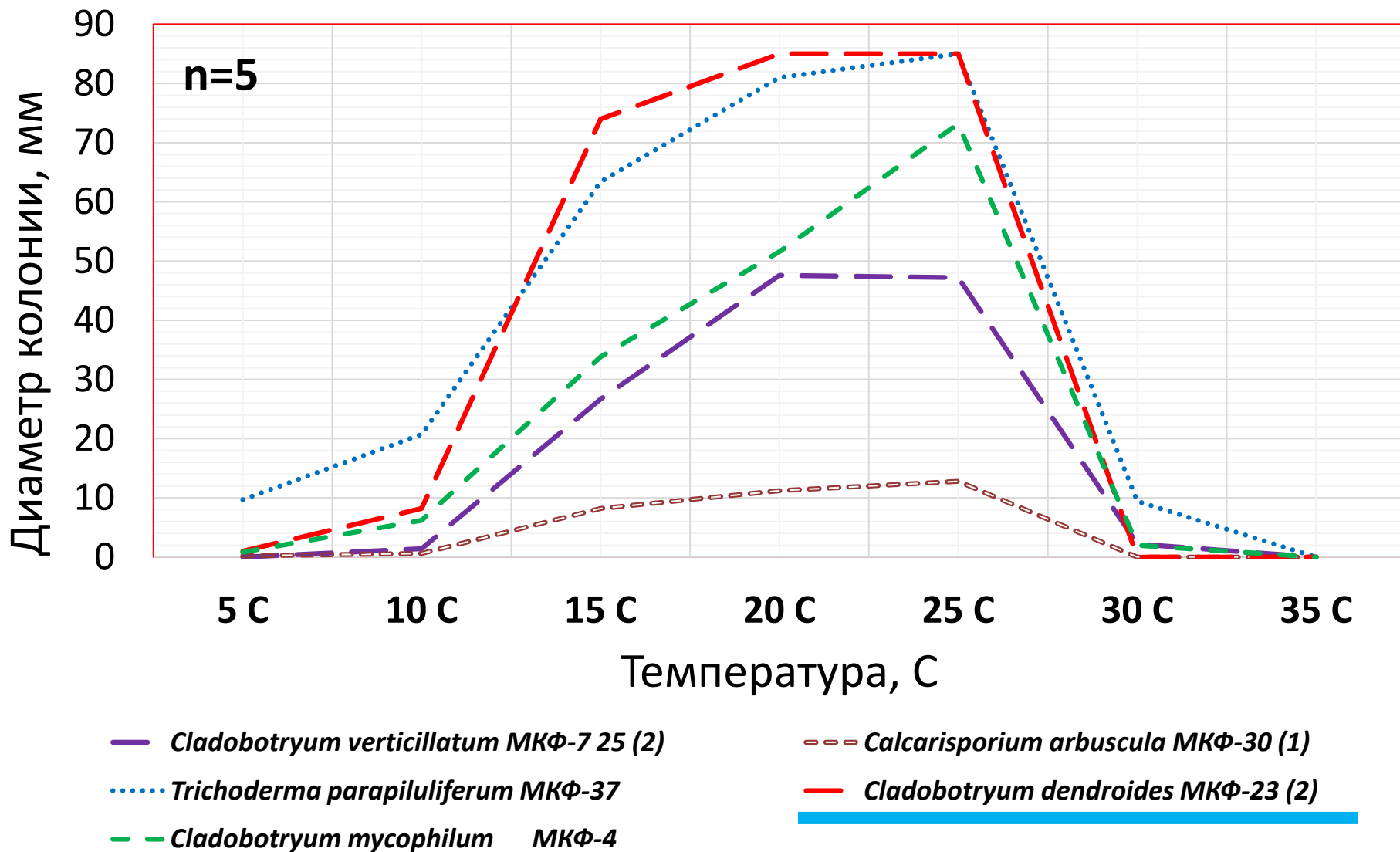
Средний диаметр колонии на 5 день роста, мм

n=5



Экспериментальная часть. Температура

Рост штаммов микофильных грибов при разных температурных условиях. Приведены данные на 5 день роста



Экспериментальная часть. Температура

Hypomyces rosellus (*Cladobotryum dendroides*) МКФ-23 (2)



35°C

30°C

25°C

20°C

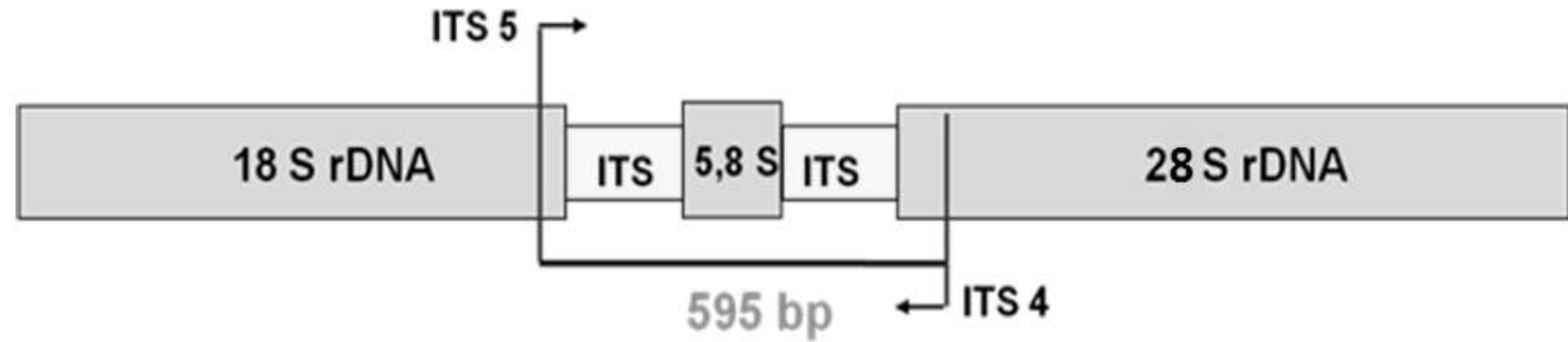
15°C

10°C

5°C

Молекулярная идентификация. Выделение ДНК

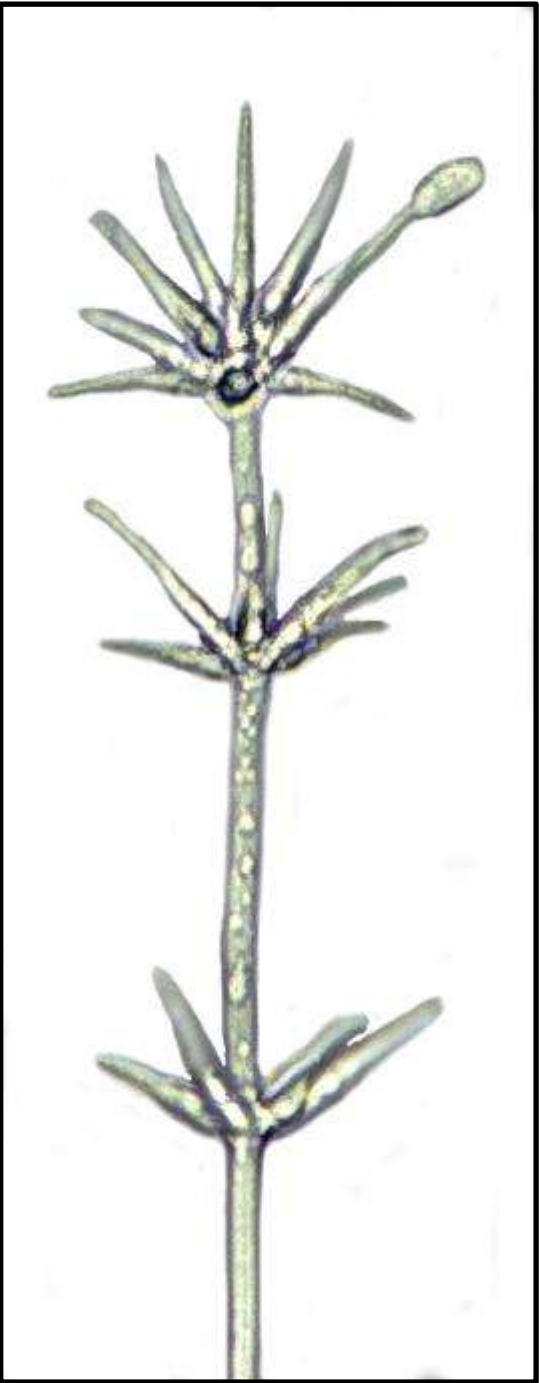
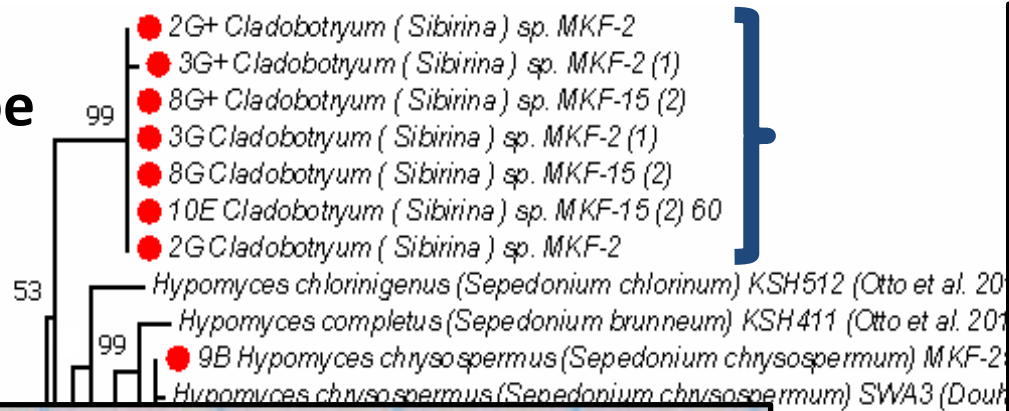
Механическая растирка мицелия в жидком азоте → Лизис, очистка, осаждение ДНК → Амплификация участка ITS1-ITS2



Выравнивание последовательностей → Поиск сходных последовательностей при помощи алгоритма BLAST в базах данных **GenBank** и **UNITE**

Расчет и визуализация филогенетического древа в программе **Unipro UGENE**

Фило- генетическое дерево PhyML



Заключение

Видовой состав микофильных грибов Тверской области, выявленных в результате работы, оказался достаточно разнообразен. Из выявленных 10 видов, 8 оказались новыми для региона.

Для нескольких штаммов отнесенных к роду *Cladobotryum* (в прошлом, принадлежащих к анаморфному роду *Sibirina*) не удалось установить видовую принадлежность. Работа с ними будет продолжена.

Полученные последовательности ДНК участка ITS1-ITS2 должны быть помещены в базу данных GenBank, так как это первые молекулярные данные по группе микофильных грибов для России.

Выводы

1. На территории стационара выявлено 10 видов микофильных грибов, относящихся к порядку *Hyphocreales*.
2. Проведено молекулярное подтверждение вида для 24 штаммов. Для трех штаммов (МКФ-2, -2 (1), -15 (3)) принадлежащих к роду *Cladobotryum* не найдено близкое соответствие в базе данных GenBank.
3. Показаны предпочтительные источники азота: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ для штамма **МКФ-7 25 (2)** (не усваивал NaNO_3); казеин для штамма **МКФ-30 (1)**. Остальные штаммы одинаково успешно усваивали все предоставленные источник азота.
4. Все штаммы лучше всего усваивали мальтозу в качестве источника углерода, кроме штамма **МКФ-30 (1)** который лучше усваивал глюкозу. Штамм **МКФ-37** показал лучший рост на средах с сахарозой, мальтозой и фруктозой.
5. Оптимальная температура роста - 25°C для всех штаммов. При температуре 5°C прекращается рост для всех, кроме **МКФ-37**. При 35°C посевной материал гибнет для всех штаммов кроме **МКФ-23 (2)**. Диапазон активного роста наблюдался от 15°C до 25°C .

Благодарю за внимание