

ХРАНЕНИЕ И ОПИСАНИЕ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР МАКРОМИЦЕТОВ

Курсовая работа
студентки III курса
В. О. Арзамасцевой

Научный руководитель:
науч. сотр., канд. биол. наук
О. В. Воронко

Москва
2018

Коллекции живых культур — это источник
живого стабильного материала для
экспериментальной науки и биотехнологии.

Макромицеты - несистематическая группа грибов с макроскопическими плодовыми телами («грибы» в бытовом понимании).

В лабораторных условиях макромицеты, как правило, существуют в форме неспорулирующих мицелиальных культур.

Задача:

сохранение для
объекта:

- Жизни
- Чистоты
- Подлинности
- Стабильности

Проблемы:

- Микроэволюционные процессы
- Контаминация
- Сложности культивирования некоторых видов

Решение:

замедление или остановка
метаболических процессов в культуре.

Субкультивация

- Исторически первый метод хранения.
- Используются твердые и менее питательные среды.

Частота пересевов — от 30 дней до нескольких лет.

Хранятся при комнатной температуре или 3-5°C.

- Не обеспечивает замедления роста культур.
- Трудоемкий и материалозатратный метод.

Хранение в стерильной дистиллированной воде или под слоем минерального масла

- Агаровые диски с мицелием в криофлаконах заливаются стерильной дистиллированной водой, хранятся вертикально.
- Выращенные в пробирках на скошенном агаре культуры покрываются маслом на 1 см над мицелием. Хранятся вертикально.

Срок хранения:

- В воде — до 7 лет
- Под минеральным маслом — до 13 лет

• Методы технически просты.

• Рекомендованы:

- Для культур, неустойчивых к криометодам
- Для коллекций с невысоким финансированием

• Основной недостаток:

Оба метода обеспечивают лишь замедление развития культуры.

Криоконсервация

1. Хранение в жидком азоте
2. Хранение при $-70-80^{\circ}\text{C}$

Существует огромное разнообразие протоколов.

Основные элементы метода:

- Подготовка культуры
- Выбор криопротектора
- Режим охлаждения
- Способ хранения

- Выбор среды культивирования сказывается на эффективности метода.
- Эффекты криопротекторов:
 - Предотвращение формирования кристаллического льда.
 - Предотвращение обезвоживания, гиперосмотических повреждений.
 - Стабилизация мембран.
- Основной криопротектор для грибных культур — глицерол.
- Оптимальный режим охлаждения: 1°/мин

Лиофилизация

- Образец замораживается по правилам криоконсервации, затем производится возгонка воды под вакуумом.
- Лиопротекторы — аналог криопротекторов. Типичный пример: трегалоза/сепарированное молоко/мио-инозитол в различном соотношении.
- Традиционно считается непригодным для мицелиальных культур.
- Среди современных протоколов есть подходящие для мицелиальных культур.

О возникновении методов



Контроль жизнеспособности и идентичности

- Жизнеспособность оценивается по факту и качеству роста.
- Требуется проверка на соответствие вида и штамма заявленному.
- Культурально-морфологические методы сохраняют значимость, несмотря на развитие молекулярной диагностики.

Морфологическая диагностика

- Культурально-морфологические характеристики:
 - Рост на среде
 - Морфология колонии
 - Микроскопические особенности мицелия
 - Физиологические свойства
- Грибы обладают высоким внутривидовым и онтогенетическим полиморфизмом.
- Степень проявления признака зависит от условий культивирования.

Документация в коллекциях

Основные категории данных:

- Наименование образца
- Данные о сборе
- Биологическая характеристика
- «Коллекционная история»
- Данные о культивировании и хранении

Заключение

- Глобальных изменений в методах хранения за последние 30-40 лет не произошло. Тем не менее, возникли некоторые усовершенствования.
- Ни один метод не дает гарантии сохранности образца.
- Центральное место среди прочих занимает метод криоконсервации.
- Значительная часть проблем хранения — в недостаточности знаний о биологических свойствах различных видов грибов.

Спасибо за внимание!

