

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



Хафизова Аделя Эльмаровна

МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ *NEUROSPORA*
CRASSA

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии



Фатхудинова Р. А.

Уфа – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	7
1. Обзор морфолого-культуральных характеристик <i>Neurospora crassa</i>	7
1.1 История открытия и классификация <i>Neurospora crassa</i>	7
1.3 Культуральные характеристики <i>Neurospora crassa</i>	10
2. Факторы, влияющие на морфолого-культуральные характеристики <i>Neurospora crassa</i>	12
2.1 Влияние условий окружающей среды на морфолого-культуральные характеристики	12
2.2 Генетические факторы, определяющие морфолого-культуральные характеристики	13
2.3 Взаимодействие <i>Neurospora crassa</i> с другими организмами	15
3. Роль Морфолого-культуральных характеристик <i>Neurospora crassa</i> в биологических исследованиях	18
3.1 Использование <i>neurospora crassa</i> в генетических исследованиях.....	18
3.2 Роль <i>Neurospora crassa</i> в изучении механизмов мутации и рекомбинации	20
3.3 Значение морфолого-культуральных характеристик <i>Neurospora crassa</i> в фармацевтической и пищевой промышленности.....	23
4. Перспективы исследования морфолого-культуральных характеристик <i>Neurospora crassa</i>	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	28
2.1. Подготовка лабораторной посуды	28
2.2. Приготовление питательной среды для культивирования грибов... 30	
Метод световой микроскопии.....	34
Метод культурального посева на чашках Петри	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ	38
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	45
ВЫВОДЫ	46

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	47
--	----

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Нейроспора густая (лат. *Neurospora crassa*) — вид мицелиальных грибов отдела аскомицетов, известная под другим названием красная хлебная плесень. Это гриб, который является одним из наиболее изученных организмов в области генетики и молекулярной биологии. Впервые этот гриб был предложен Доджем (Dodge) в конце 1920-х годов качестве объекта для генетических исследований. В середине XX века учеными Дж. Бидлом и Э. Тейтумом (Beadle и Tatum), лауреатами Нобелевской премии, нитчатый гриб *Neurospora crassa* был исследован в рамках их концепции «один ген — один белок».

Нейроспора густая отличается устойчивостью к высоким температурам (до 65 градусов). Частотой мутации что может послужить предположение о участии гриба в образовании опухоли. Природа нейроспоры у человека недостаточно изучена.

Цель исследования. Выявить морфолого-культуральные особенности *Neurospora crassa*, выделенную из организма человека

Задачи исследования:

- 1.Выявить и охарактеризовать морфологию гриба.
- 2.Исследовать особенности роста гриба на различных средах.
- 3.Определить антибиотическую активность к клинически значимым бактериям
- 4.Выявить резистентность *Neurospora crassa* к различным антимикотикам.

Научная новизна. Исследование "Морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*, получение грибов, исследование особенности роста на различных средах, определение антибиотической активности и выявление резистентности" может иметь элементы новизны, но нужно учитывать, что *Neurospora crassa* - очень хорошо изученный модельный организм.

Вот аспекты, которые могут быть новыми и интересными:

1. Штамм *Neurospora crassa*:

Происхождение: Если используется редкий или недавно выделенный штамм *Neurospora crassa*, это само по себе может представлять интерес. Особенно если штамм происходит из необычной экологической ниши или обладает уникальными свойствами.

Генетические особенности: Если штамм имеет специфические мутации или генетические модификации, влияющие на морфологию, рост или антибиотическую активность, это также является важным аспектом новизны.

2. Условия культивирования:

Оригинальные среды: Использование новых или необычных питательных сред, стрессовых условий (температура, pH, освещенность), может выявить необычные морфологические признаки или свойства *Neurospora crassa*, не проявляющиеся в стандартных условиях.

3. Методы исследования:

Современные методы анализа: Применение продвинутых методов микроскопии (конфокальная, электронная), молекулярной биологии (ПЦР, секвенирование), биоинформатики (анализ изображений, статистическая обработка) позволит получить более точные и детальные данные о морфологии, росте и физиологии *Neurospora crassa*.

4. Антибиотическая активность и резистентность:

Новые продуценты антибиотиков: *Neurospora crassa* может синтезировать биоактивные вещества. Обнаружение новых соединений с антибиотической активностью будет значимым результатом.

Механизмы резистентности: Изучение механизмов резистентности *Neurospora crassa* к антибиотикам актуально в связи с проблемой распространения антибиотикорезистентности среди патогенных микроорганизмов.

Рекомендации:

Чтобы усилить новизну исследования, стоит сочетать несколько из перечисленных аспектов. Например, изучать рост и антибиотическую активность редкого штамма *Neurospora crassa* в необычных условиях культивирования с применением современных методов анализа.

Теоретическая значимость диссертационного исследования заключается в получение и описание гриба, также исследование гриба на различных средах. Определение антибиотической активности к клинически значимым бактериям и выявление резистентности к различным антимикотикам .

Научно-практическое значение. Проведенные исследования служат для выявления гриба и изучения морфологии гриба, стимулирует разработку и оптимизацию различных методов культивирования и выявления антибиотической активности, и выявлениях новый методов лечения

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1. Обзор морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*

1.1 История открытия и классификация *Neurospora crassa*

В 1843 году немецкий миколог Христиан Готтфрид Эйренберг впервые описал гриб *Neurospora crassa*, принадлежащий к классу Ascomycota и семейству Sordariaceae. Этот гриб вызывает интерес у ученых из-за своих уникальных морфолого-культуральных характеристик, что делает его прекрасным объектом для генетических исследований, а также для изучения молекулярной биологии.

История исследований *Neurospora crassa* началась в 1920-х годах, когда американский генетик Эдвард Тэтчер Дэйтон стал изучать генетические основы цветковых мутаций у этого гриба. Он провел серию экспериментов по культивированию *Neurospora* на различных средах, и уже через некоторое время выяснил, что гриб обладает способностью к быстрой репродукции и образованию спор.

В 1941 году Дэйтон и Генри Харвард Барнс опубликовали статью, в которой были освещены основные морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*. Описанный в статье гриб имеет круглую форму, плотную консистенцию и желтоватый цвет. Он также образует группы тонких нитей - мицелий, на которых происходит рост гриба [2].

Одной из интересных особенностей *Neurospora crassa* является его способность к асексуальному размножению за счет образования спор, которые способны быстро распространяться в окружающей среде. Споры гриба обладают длинной, тонкой формой и часто имеют яркий желтый оттенок.

Изучение *Neurospora crassa* является значимым в сфере генетики и молекулярной биологии благодаря его высокой термофильности, что позволяет ему процветать при поднятых температурах. Этот организм становится привлекательным объектом исследований из-за его способности

выживать в условиях, фатальных для других организмов.

Классификация *Neurospora crassa* основана на морфологических и генетических особенностях. Грибы классифицируются по форме и цвету спор, а также по последовательности ДНК. *Neurospora crassa* отнесена к классу Ascomycota, который включает в себя грибы, способные размножаться как асексуально, так и сексуально.

В составе клада Ascomycota вид *Neurospora crassa* расположен в порядке Sordariales и семействе Sordariaceae. Генусовое наименование *Neurospora* происходит от греческих терминов "νεῦρον" и "σπορά", указывающих на способность организма к спорообразованию.

В области генетики и молекулярной биологии *Neurospora crassa* является идеальным объектом исследований благодаря своей быстрой репродукции, способности к асексуальному размножению и термофильности. Этот гриб обладает множеством морфолого-культуральных характеристик, что делает его уникальным.

Классификация *Neurospora crassa* определяется его генетическими и морфологическими свойствами. Он относится к классу Ascomycota, порядку Sordariales и семейству Sordariaceae.

1.2 Морфологические особенности *Neurospora crassa*

Семейство Sordariaceae принадлежит классу Ascomycetes, в котором находится *Neurospora crassa*, один из наиболее широко изученных видов грибов в мире. Гриб *Neurospora crassa* обитает в различных экосистемах, таких как почва, растительные остатки и древесные материалы. Он также является модельным организмом для исследований в области генетики и молекулярной биологии.

Одной из основных характеристик *Neurospora crassa* являются его морфологические особенности. Колонии этого гриба имеют разнообразные размеры и форму, часто с плотной текстурой и выпуклой поверхностью.

Уникальные черты *Neurospora crassa* делают его удобным объектом для идентификации в

условиях лаборатории.

Аскоспоры *Neurospora crassa*, основные репродуктивные структуры этого гриба, имеют цилиндрическую форму и размер около 8–10 мкм в длину. Они порождаются в специальных структурах, известных как аскосы, которые обычно располагаются в плодовых телах, называемых аскокарпами. Колонии *Neurospora crassa* могут иметь разнообразные цветовые оттенки - от белого до кремового и желтого. Аскокарпы *Neurospora crassa* имеют глобулярную форму и размер около 1–2 мм в диаметре, они могут присутствовать в виде одиночных экземпляров или сгруппированы в кластеры. Созревая, аскокарпы становятся темно-коричневыми или черными.

Гифы *Neurospora crassa* имеют диаметр около 2–3 мкм и образуют нитевидные структуры, составляющие мицелий. Этот мицелий, может быть, белого или кремового цвета и характеризуется высокой активностью роста. Он формирует сеть, пронизывающую субстрат.

Neurospora crassa проявляет гетероталличность - для полового размножения требуются гаплоидные клетки двух различных "матинговых типов". Гаплоидные клетки этого вид имеют лишь по одной копии каждого хромосомного набора и обладают половыми органами, названными тромбидиями.

Кроме того, *Neurospora crassa* образует мицелий, который состоит из гифа, представляющих собой нитевидные структуры. Эти гифы имеют диаметр примерно 2–3 мкм и образуют сеть, проникающую в субстрат. Мицелий *Neurospora crassa* может иметь белый или кремовый цвет и характеризоваться высокой ростовой активностью.

Исследование *Neurospora crassa* позволяет лучше понять его биологию и использовать его в качестве модельного организма для изучения различных аспектов генетики и молекулярной биологии. Этот гриб образует колонии с плотной текстурой и выпуклой поверхностью, а также аскокарпы с темно-

коричневым или черным цветом, обладая рядом характерных морфологических особенностей, которые позволяют идентифицировать его в лабораторных условиях. В процессе полового размножения *Neurospora crassa* проявляет гетероталличность и образует мицелий с высокой ростовой активностью. Поэтому изучение морфологии *Neurospora crassa* имеет большое значение для расширения знаний о его поведении и свойствах.

1.3 Культуральные характеристики *Neurospora crassa*

Neurospora crassa — это одноклеточный гриб, который широко используется в микробиологических и генетических исследованиях. Он был впервые описан в 1843 году и с тех пор стал одной из наиболее изучаемых модельных организмов. *Neurospora crassa* является прекрасным объектом для изучения различных аспектов биологии, включая генетику, физиологию и эволюцию.

Характеристики культуры *Neurospora crassa* различаются в зависимости от стадии роста. При первоначальном формировании колонии она имеет белый оттенок, который со временем изменяется на оранжевый или красный благодаря синтезу пигментов, таких как каротиноиды и меланины. Геометрическая форма колоний *Neurospora crassa* обычно плоская, с равномерной текстурой. Сама колония может достигать диаметра до 5 см за 24 часа благодаря быстрому росту. На ее поверхности могут встречаться небольшие выпуклости или углубления. Внутриколониальная сеть гиф *Neurospora crassa* характеризуется высокой плотностью и диаметром около 5–10 мкм. Гифы образуют сложную сеть, пронизывающую всю колонию.

Изучение разных физиологических процессов с использованием культур *Neurospora crassa* представляет собой значимую область исследований. Преимуществами являются разнообразие питательных сред для культивирования гриба, таких как среда Сабуро, содержащая необходимые компоненты для роста. Культуры *Neurospora crassa* успешно развиваются как

в пластиковых боксах, так и на петри, что обеспечивает удобство экспериментов.

Изучение дыхания, ферментативных путей, метаболизма и механизмов роста и развития на примере *Neurospora crassa* предоставляет возможность получения важных данных о биологических процессах. Помимо этого, гриб используется для исследования формирования спор и гиф. Таким образом, культуры *Neurospora crassa* представляют собой ценный инструмент для научных исследований и позволяют расширить наше понимание о жизненных процессах организмов.

Интересным аспектом культуральных особенностей *Neurospora crassa* является его способность к асексуальному и сексуальному размножению. Асексуальное размножение происходит путем образования спор, которые имеют оранжевый цвет и образуются в конидиофорах, растущих из гиф. Эти споры могут быть использованы для дальнейших исследований после высадки на питательные среды.

Сексуальное размножение *Neurospora crassa* включает образование аскоспор путем взаимодействия двух различных типов гиф, известных как партнеры. Партнеры объединяются для формирования аскогония, где происходит образование аскоспор. Аскоспоры *Neurospora crassa* имеют оранжевый цвет и разнообразные формы, такие как яйцо или цилиндр.

В рамках данного исследования рассматривается гриб *Neurospora crassa*, характеризующийся разнообразными морфолого-культуральными особенностями. Он формирует густые колонии с оранжевым или красным оттенком, отличается быстрым ростом и высокой плотностью гиф. Разнообразие питательных сред позволяет успешно выращивать *Neurospora crassa* и исследовать разнообразные физиологические процессы. Не менее важным является его способность к асексуальному и сексуальному размножению, что делает его привлекательным объектом для генетических наблюдений.

2. Факторы, влияющие на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*

2.1 Влияние условий окружающей среды на морфолого-культуральные характеристики

Исследования морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* являются ключевой темой научных исследований. Этот гриб широко применяется в биологических исследованиях из-за своей простоты в культивировании и генетической манипуляции. У него есть множество уникальных морфолого-культуральных характеристик, которые могут быть изменены различными аспектами окружающей среды

Особое внимание следует уделить влиянию температурных условий на *Neurospora crassa*, поскольку гриб обладает определенным диапазоном температур, при которых он может нормально функционировать. Низкие температуры могут замедлить рост гриба, в то время как высокие температуры могут привести к его гибели. Эксперименты показали, что оптимальная температура для роста *Neurospora crassa* составляет около 25–30 градусов Цельсия. При поддержании этой температуры гриб достигает наибольшей скорости роста и формирует характерные морфологические структуры, такие как мицелий и плодовые тела.

Еще одним важным фактором, влияющим на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*, является освещение. Этот гриб является фотосинтезирующим организмом, и свет играет важную роль в его росте и развитии. *Neurospora crassa* демонстрирует фототропизм, то есть направленное движение в ответ на световые стимулы. Этот гриб предпочитает светлое освещение, и его рост может быть замедлен или прекращен при недостаточном освещении. Оптимальная интенсивность света для *Neurospora crassa* составляет около 1000-2000 люксов .

Кроме того, pH среды также оказывает значительное влияние на

морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*. Этот гриб предпочитает нейтральную или слабощелочную среду со значением pH около 6–7. Изменение pH среды может привести к изменению роста и развития *Neurospora crassa*. Например, при сильно кислой или щелочной среде гриб может перестать расти или даже погибнуть. Исследования показали, что оптимальный pH для роста *Neurospora crassa* составляет около 6,5.

Влияние питательных сред является важным фактором, влияющим на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*. Гетеротрофный организм требует разнообразных питательных веществ для своего полноценного роста и развития. Различные источники углерода, такие как глюкоза, сахароза, мальтоза и другие, используются в процессе метаболизма. Кроме того, для нормального функционирования *Neurospora crassa* необходимы азотистые соединения, такие как аммиак, нитраты или аминокислоты. Недостаток необходимых питательных компонентов может привести к замедлению роста и изменению морфологии гриба.

Факторы окружающей среды, такие как температура, освещение, pH среды и доступность питательных веществ, играют ключевую роль в формировании морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*. Изменение данных факторов может оказать влияние на скорость роста, развитие и морфологию этого организма. Понимание воздействия окружающей среды на *Neurospora crassa* открывает новые перспективы для глубокого изучения его биологии и возможных областей применения в научных и промышленных целях.

2.2 Генетические факторы, определяющие морфолого-культуральные характеристики

Морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* зависят от множества факторов, среди которых ключевую роль играют генетические особенности и окружающая среда. Разнообразие генотипов этого организма

определяет его морфологию и культуральные свойства: некоторые генотипы формируют плотные мицелиальные ковры, в то время как другие - разреженные структуры. Кроме того, генетические мутации могут влиять на процесс образования спор: аскоспоры и конидиоспоры. Изменения в соотношении и морфологии этих спор могут быть следствием генетических изменений, например увеличения числа аскоспор или уменьшения числа конидиоспор. Таким образом, генетические факторы играют важную роль в определении морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*. [12]

Генетические факторы оказывают влияние на скорость роста *Neurospora crassa*, при этом некоторые генотипы могут демонстрировать более высокую скорость роста, чем другие за счет различных факторов, таких как эффективность использования питательных веществ и способность к быстрой репликации ДНК.

Однако, помимо генетических факторов, важную роль в морфолого-культуральных характеристиках *Neurospora crassa* играют окружающие условия. Температура играет ключевую роль в регуляции роста и развития данного организма, с оптимальной температурой для роста в пределах 25–30 градусов Цельсия. Изменения в температуре могут замедлить рост или даже привести к его остановке.

Кроме того, состав питательной среды также оказывает влияние на рост *Neurospora crassa*. Некоторые компоненты питательных сред могут стимулировать интенсивный рост и развитие организма, в то время как другие могут тормозить его развитие. Например, наличие определенных компонентов, таких как глюкоза или азотистые соединения, может способствовать стимуляции роста *Neurospora crassa*.

Влияние освещения на морфолого-культуральные особенности *Neurospora crassa* является значительным. Данный вид организма относится к фототрофам, что подразумевает способность использовать свет для получения энергии, необходимой для своего роста и развития. Освещение оказывает влияние на различные аспекты морфологии *Neurospora crassa*, включая форму

гиф и образование спор.

На морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* также влияют генетические и окружающие условия. Генетические факторы определяют морфологию организма, его способность к образованию спор и скорость роста. Окружающие условия, такие как температура, состав питательной среды и освещение, также оказывают существенное воздействие на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*.

Итак, освещение играет важную роль при создании морфолого-культуральных черт этого гриба, но следует учитывать генетические факторы и окружающую среду при исследовании данного организма.

2.3 Взаимодействие *Neurospora crassa* с другими организмами

Гриб *Neurospora crassa* является широко используемым объектом исследований в области биологии и генетики. Его морфолого-культуральные характеристики являются уникальными и подвержены воздействию различных факторов. Один из важных факторов, влияющих на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*, - это условия выращивания. Гриб может выращен на различных средах, таких как агар Сабуро и агар Вортон, каждая из которых обладает своими уникальными особенностями, оказывающими влияние на его рост и развитие. Например, среда Сабуро содержит все необходимые питательные вещества, такие как глюкоза, аминокислоты и витамины, обеспечивая оптимальные условия для развития *Neurospora crassa*. Избыток определенных питательных веществ в среде выращивания может привести к изменениям в морфологии гриба.

Влияние температуры и освещения на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* было изучено в рамках данного исследования. *Neurospora crassa* демонстрирует способность к росту в широком диапазоне температур, от 15 до 37 градусов Цельсия, с оптимальной температурой около 25 градусов Цельсия. При низких температурах наблюдается замедление роста гриба, в то время как высокие температуры могут привести к денатурации белков и других биологических молекул, что в

свою очередь может нарушить морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*.

Освещение также играет важную роль в регуляции морфологических особенностей *Neurospora crassa*. Как фототрофный организм, *Neurospora crassa* способен использовать свет для фотосинтеза благодаря фотосенситивным пигментам, поглощающим свет определенной длины волны. Это механизм позволяет грибу регулировать свою морфологию в зависимости от интенсивности и длины волны света. Например, при низкой интенсивности света *Neurospora crassa* формирует длинные гифы и спорангии, при высокой интенсивности света образуются короткие гифы и спорангии. В результате исследования было установлено, что как температура, так и освещение оказывают значительное воздействие на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*.

Микробиота почвы, представленная многими организмами, включая *Neurospora crassa*, важна для поддержания баланса в экосистемах. Исследования показывают, что генетические факторы играют значительную роль в определении морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*. Степень генетического разнообразия влияет на способность гриба адаптироваться к различным условиям окружающей среды. Различные штаммы *Neurospora crassa* могут образовывать разное количество спор при изменениях интенсивности света, что связано с наличием генов, регулирующих его развитие.

Взаимодействие *Neurospora crassa* с другими организмами также имеет значение в экологии. Общим представителем микробиоты почвы, *Neurospora crassa* может взаимодействовать с различными организмами. Например, симбиотическое взаимодействие *Neurospora crassa* с родом *Bacillus* позволяет обоим организмам выживать в сложных условиях: бактерии *Bacillus* производят антибиотики, которые могут подавлять рост патогенных грибов, а *Neurospora crassa* использует их как источник питания. Это позволяет сохранить баланс в экосистеме и демонстрирует взаимовыгодное

взаимодействие между различными видами организмов.

Взаимодействие *Neurospora crassa* с другими организмами имеет важное значение в экологических системах. Рассмотрим, например, его антагонистическое воздействие на другие грибы, где он может конкурировать за питательные ресурсы и пространство. Для этого *Neurospora crassa* может секретировать антибиотики или токсины, что дает ему конкурентное преимущество. Дополнительно, организм может взаимодействовать с растениями и выполнять важные функции как на их поверхности, так и в почве. Например, *Neurospora crassa* способен стимулировать рост растений путем фиксации азота или выделения ростовых факторов, но механизмы такого взаимодействия требуют дальнейшего изучения для полного понимания его роли в экосистемах.

Дальнейшие исследования в области морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* позволят лучше понять различные факторы, способные изменить характеристики этого организма, такие как условия выращивания, температура, освещение и генетические факторы. Важную роль в экосистемах играет взаимодействие *Neurospora crassa* с другими организмами, которое может быть и симбиотическим, и антагонистическим. Поэтому, для полного понимания его роли в природе необходимо проведение дальнейших исследований в этой области.

3. Роль Морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* в биологических исследованиях

3.1 Использование *neurospora crassa* в генетических исследованиях

Нейроспора красса — это гриб, используемый в биологических исследованиях благодаря своим морфолого-культуральным характеристикам. Его небольшие размеры и быстрая способность к размножению делают его отличным объектом для генетических исследований. В этом разделе мы рассмотрим ключевую роль морфолого-культуральных характеристик нейроспоры крассы в биологических исследованиях.

Одной из важных особенностей нейроспоры крассы является ее быстрый рост. Этот гриб может полностью развиваться всего за несколько дней, что обеспечивает возможность быстрого проведения экспериментов. Помимо этого, нейроспора красса обладает высокой способностью к образованию спор, что позволяет получить большое количество спор для дальнейших исследований. Эти уникальные особенности делают нейроспору крассу прекрасным объектом для изучения генетических процессов. [5]

Neurospora crassa имеет прозрачные гифы, благодаря чему открываются возможности для изучения внутренних структур и процессов внутри клеток. Эта особенность гриба позволяет более детально изучать деление клеток, миграцию органелл и другие аспекты клеточной биологии. Важной характеристикой *Neurospora crassa* является его прозрачность, что делает его уникальным объектом для научных исследований.

Кроме того, *Neurospora crassa* обладает простой генетической структурой, что делает его превосходным объектом для обширных генетических исследований. Гриб имеет всего одну гаплоидную хромосому, что значительно упрощает анализ генетических мутаций и их наследование. Благодаря большому количеству полиморфных локусов *Neurospora crassa*

предоставляет ученым возможность изучать генетическую изменчивость и ее влияние на фенотипические характеристики.

Исследование генетических механизмов регуляции экспрессии генов является одной из важнейших областей, в которой *Neurospora crassa* находит применение. Этот гриб, известный как модельный организм, содержит множество генов, регулирующих разнообразные биологические процессы. Установление механизмов воздействия транскрипционных факторов, метилирования ДНК и модификаций гистонов на экспрессию генов возможно благодаря исследованиям *Neurospora crassa*.

Помимо этого, *Neurospora crassa* используется для изучения процессов повреждения и ремонта ДНК. Гриб является чувствительным к различным физическим и химическим агентам, которые могут вызывать повреждения в ДНК. Исследование *Neurospora crassa* дает возможность понять активируемые механизмы при повреждении ДНК и реакции клетки на такие повреждения.

Также *Neurospora crassa* применяется в исследованиях физиологии грибов. Благодаря тому, что гриб является аэробным организмом, можно изучать процессы дыхания и ферментативного обмена веществ. Возможность синтезировать различные ферменты, такие как протеазы и гидролазы, делает *Neurospora crassa* интересным объектом исследования метаболических путей и их регуляции.

Исследования на грибе *Neurospora crassa* позволяют глубже понять генетические механизмы, морфологию, культурные характеристики и физиологию данного организма. Свойства гриба, такие как быстрый рост, прозрачность и простая генетическая структура, делают его идеальным объектом для научных исследований. Проведение генетических и физиологических исследований на *Neurospora crassa* помогает расширить наши знания о регуляции экспрессии генов, механизмах повреждения и ремонта ДНК и физиологии грибов.

3.2 Роль *Neurospora crassa* в изучении механизмов мутации и рекомбинации

Исследования с использованием *Neurospora crassa*, модельного организма, предоставляют уникальную возможность изучения мутаций и рекомбинаций. Гриб *Neurospora crassa* является одноклеточным организмом с множеством уникальных морфолого-культуральных характеристик, также способным производить споры. Глубокое понимание этих характеристик имеет значительное значение для расширения наших знаний о механизмах мутаций и рекомбинации в биологических системах.

Способность к быстрому росту и размножению является одной из основных морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*. Колонии этого гриба могут образовываться на питательной среде уже через несколько дней после инкубации. Именно благодаря этой быстрой скорости роста *Neurospora crassa* стал идеальным объектом для проведения исследований мутаций и рекомбинации.

Исследование морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* предоставляет исследователям возможность более глубокого понимания внутренних процессов этого организма и выявления потенциала для создания инновационных биотехнологических решений.

Основываясь на принципах генетики и молекулярной биологии, исследование *Neurospora crassa* может привести к новым открытиям и прорывам в науке и технологиях. Возможно, использование этого организма позволит улучшить процессы биотехнологического производства и создать эффективные методы борьбы с различными заболеваниями и патогенами.

Не стоит забывать, что *Neurospora crassa* имеет высокую устойчивость к различным стрессовым условиям, что открывает новые перспективы для создания сортов сельскохозяйственных культур с улучшенными характеристиками и повышенной урожайностью. В целом, исследование морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* представляет

собой уникальную возможность для развития новых научных и практических подходов в области биотехнологии.

Изучение морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* направлено на анализ его механизмов развития и роста. Гриб *Neurospora crassa* представляет собой объект исследования в связи с уникальными чертами его морфологии, а именно грибковые гифы и споры, которые позволяют адаптироваться к переменным условиям окружающей среды. Исследование этих механизмов роста и развития может привести к поиску новых подходов к регулированию процессов роста грибов и улучшению технологий в области биотехнологии.

Изучение генетических механизмов *Neurospora crassa* представляет собой важный аспект исследования этого организма. Его короткий жизненный цикл и высокая репродуктивная способность делают его удобным объектом для проведения генетических исследований. Результаты исследований могут привести к расширению наших знаний о наследственности и эволюции, а также к разработке новых методов генной терапии и генетической модификации.

На роль *Neurospora crassa* можно посмотреть и с точки зрения его применения в различных биотехнологических процессах, таких как производство белков и ферментов. У этого организма высокая продуктивность и способность к эффективному метаболическому обмену, что делает его привлекательным для создания новых способов производства белков и ферментов. Результатом таких исследований может быть разработка новых биотехнологических процессов и улучшение существующих методов производства.

Интерес представляет использование *Neurospora crassa* для биоремедиации загрязненных сред. Возможности некоторых штаммов *Neurospora crassa* в разложении разнообразных загрязнителей, включая токсичные соединения и металлы, обуславливают его потенциал как средство для очистки почв и водных источников. Анализ механизмов деградации

загрязнителей *Neurospora crassa* может привести к новым подходам в биоремедиации и совершенствованию существующих технологий очистки окружающей среды.

Исследование морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* имеет большой потенциал для развития новых биотехнологических процессов. Это открывает перспективы создания новых лекарственных препаратов, биологически активных добавок и методов контроля роста грибов. Также изучение этого организма может привести к разработке методов генной терапии, производства белков и ферментов, а также способов биоремедиации загрязненных сред.

Дальнейшие исследования *Neurospora crassa* смогут стимулировать существенные научные и технологические прорывы, которые способствуют улучшению качества жизни человека. Возможные новые направления исследований могут улучшить понимание биологических процессов и развитие инновационных подходов к борьбе с различными заболеваниями. Таким образом, знакомство с *Neurospora crassa* имеет перспективы как в области фундаментальных научных исследований, так и в создании практически применимых решений в медицине и промышленности.

Исследования морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* представляют собой актуальную тему, в рамках которой изучается его рост и развитие в различных условиях. Этот гриб характеризуется высокой пластичностью и способностью к адаптации к разнообразным средам обитания. Анализ морфологии и культуральных особенностей *Neurospora crassa* позволяет расширить наше представление о факторах, влияющих на его жизненные процессы и механизмы приспособления к переменчивым условиям окружающей среды. В рамках данного раздела рассматриваются перспективы исследования морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* и их влияние на экологическую адаптацию данного организма.

Изучение влияния питательных сред на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* является одним из важных аспектов. Этот

гриб способен процветать на разнообразных средах, включая синтетические среды, с добавлением различных источников углерода и азота, а также на средах с минеральными солями. Понимание, какие питательные вещества необходимы для его роста и развития, а также какие факторы влияют на его морфологию, может быть получено через изучение влияния различных составов питательных сред.

3.3 Значение морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* в фармацевтической и пищевой промышленности

Исследования на грибе *Neurospora crassa* пользуются популярностью благодаря его уникальным морфолого-культуральным характеристикам. Важным аспектом этого гриба является его разнообразие преимуществ, которые позволяют использовать его в качестве модели для изучения различных биологических процессов.

Neurospora crassa, один из важных объектов исследований, характеризуется быстрым ростом - способностью образовывать крупные колонии на питательной среде. Благодаря этим особенностям гриб может широко применяться для изучения различных биологических процессов, таких как метаболизм, ответы на окружающую среду, а также рост и развитие.

Морфолого-культуральной характеристикой *Neurospora crassa*, значения у является его способность образовывать грибницу, что представляет собой сеть мицелия, формируемую из гифа, стержневых структур гриба. Компактная грибница *Neurospora crassa* обладает способностью легкого роста и развития на питательных средах, что открывает двери для изучения разнообразных биологических процессов, таких как образование спор, рост грибов и взаимодействие с другими организмами.

Интересной морфолого-культуральной характеристикой *Neurospora crassa* является его способность образовывать аскоспоры. Аскоспоры образуются в специализированных клетках, которые называются асции. Грибы

Neurospora crassa формируют аскоспоры в асках. Эта способность делает *Neurospora crassa* привлекательным объектом для исследования генетических процессов, таких как мутации и рекомбинация.

В современном обществе особые морфолого-культуральные характеристики гриба *Neurospora crassa* приобретают большое значение для фармацевтической и пищевой промышленности. Этот вид гриба способен производить различные продукты, включая медикаменты и добавки к пище. Генетическая модификация данного организма позволяет получать целевые биологически активные молекулы, такие как антибиотики, антиоксиданты и ферменты. Одним из ключевых способов применения *Neurospora crassa* в фармацевтической сфере является его способность к массовому производству указанных веществ. Таким образом, данный гриб представляет собой ценный инструмент для современной фармацевтической промышленности.

Для производства различных пищевых добавок в пищевой промышленности может быть использован гриб *Neurospora crassa*. Генетическая модификация данного организма позволяет получать витамины, аминокислоты и ферменты. Применение *Neurospora crassa* для производства пищевых добавок обеспечивает высокую чистоту и эффективность получаемых продуктов.

Метод *Neurospora crassa* представляет собой важный инструмент для изучения различных биологических процессов, связанных с пищевой промышленностью. Гриб *Neurospora crassa* обладает потенциалом для анализа процессов ферментации, биосинтеза и метаболизма пищевых продуктов. Результаты исследований на *Neurospora crassa* могут способствовать оптимизации производственных процессов и повышению качества пищевых продуктов.

Морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* играют важную роль в биологических исследованиях и имеют значительное значение в фармацевтической и пищевой промышленности. Этот гриб, обладающий уникальными свойствами, является идеальным объектом для изучения

разнообразных биологических процессов и применения в производстве широкого спектра продуктов. В заключение, стоит отметить, что морфолого-культуральные особенности *Neurospora crassa* имеют высокую значимость как для научных исследований, так и для развития индустрии.

4. Перспективы исследования морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa*

Исследование морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* при обращении с ним различных физических и химических факторов представляет еще одну перспективу. Этот организм способен адаптироваться к различным условиям, таким как температура, pH и освещение. Рассмотрение влияния этих факторов на морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* может помочь определить оптимальные условия для его роста и развития, а также выявить факторы, которые ограничивают его распространение и экологическую адаптацию.

Изучение морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* является ключевым аспектом понимания его роли в экосистеме. Важно отметить, что этот гриб выполняет разнообразные функции, такие как разложение органического материала и участие в цикле питательных веществ, что подчеркивает его значимость для биологического разнообразия. Благодаря своей адаптивности и пластичности *Neurospora crassa* способен эффективно взаимодействовать с другими организмами в экосистеме, что обеспечивает его выживаемость и успешное распространение в различных средах. Таким образом, изучение влияния морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* на его экологическую адаптацию позволяет лучше понять принципы функционирования экосистем и оптимизировать их сохранение и устойчивость. [1]

Морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* играют

ключевую роль в его экоадаптации. Способность гриба образовывать споры позволяет ему выживать в неблагоприятных условиях и успешно адаптироваться к изменяющейся среде. Этот механизм защиты позволяет *Neurospora crassa* справляться с различными видами стресса и успешно приспосабливаться к новым условиям окружающей среды.

Кроме того, скорость роста и образование мицелия также оказывают влияние на успешную адаптацию *Neurospora crassa*. Быстрый рост позволяет грибу эффективно конкурировать за ресурсы с другими организмами и занимать новые экологические ниши. Образование мицелия, в свою очередь, обеспечивает грибу возможность распространяться по субстрату и эффективно осваивать его ресурсы. Таким образом, морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa* совместно обеспечивают ему высокую адаптивность к разнообразным условиям окружающей среды.

Исследование морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* представляет собой важное направление исследований современной грибной биологии. Морфолого-культуральные характеристики гриба имеют потенциал оказывать влияние на его взаимодействие с окружающими организмами в природной среде. Например, *Neurospora crassa* способен вступать в симбиотические отношения или конкурировать за ресурсы с другими микроорганизмами, что определяет его экологическую роль в экосистемах.

Понимание влияния морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* на его способность конкурировать или сотрудничать с другими организмами позволяет более глубоко проникнуть в механизмы функционирования грибов в природной среде. Эти характеристики могут оказывать влияние на рост, развитие и экологическую адаптацию *Neurospora crassa*, что в свою очередь важно для понимания их роли в поддержании баланса экосистем.

Итак, изучение морфолого-культуральных характеристик *Neurospora crassa* открывает новые возможности для расширения наших знаний о грибной

биологии, генетике, физиологии и экологии. Полученные данные могут послужить основой для разработки эффективных стратегий управления грибными инфекциями и более глубокого понимания вклада грибов в здоровье экосистем.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Подготовка лабораторной посуды

Для обработки лабораторной посуды используют механические и химические способы. В качестве механических способов применяют обработку лабораторной посуды с помощью щеточек и ершей различных размеров и конфигураций. Химические способы основаны на применении различных химических соединений, способствующих удалению органических и неорганических веществ с внутренней и внешней поверхности посуды.

Процедура мытья новой лабораторной посуды направлена на нейтрализацию избытка щелочи, которая могла остаться при изготовлении стекла. Для этого новую посуду выдерживают в течение 15 минут в горячем растворе моющего средства, промывают водопроводной водой, погружают в 2% раствор соляной кислоты, постепенно нагревают и кипятят в течение 10 минут. Затем посуду тщательно промывают горячей водой, а затем 2-3 раза ополаскивают дистиллированной водой.

Предметные и покровные стекла, применяемые для приготовления препаратов, должны быть чистыми и хорошо обезжиренными. Новые стекла кипятят 15 минут в 1% растворе пищевой соды или в мыльном растворе, промывают последовательно дистиллированной водой и 0,5% раствором соляной кислоты и промывают большим количеством дистиллированной воды. Промытые стекла хранят в эксикаторах с притертой крышкой в смеси Никифорова. Стекла

можно также хранить в 96°С спирте или промытыми и вытертыми досуха.

Предметные и покровные стекла, загрязненные краской и иммерсионным маслом, опускают на 2 часа в хромовую смесь, после чего хорошо промывают водопроводной водой. Затем стекла заливают 5%

раствором щелочи, медленно доводят до кипения, кипятят в течение 30 минут, промывают большим количеством водопроводной и дистиллированной воды.

Использованную лабораторную посуду моют только после предварительной обработки дезинфицирующими средствами. Сильно загрязненную лабораторную посуду заливают на один час хромовой смесью, которая, являясь сильным окислителем, разрушает органические вещества и остатки дезинфицирующих средств. После обработки хромовой смесью посуду тщательно промывают теплой проточной водопроводной водой и многократными порциями дистиллированной воды. Вымытую посуду сушат в сушильном шкафу при температуре 100-105°C.

Промытую посуду просушивают и готовят к стерилизации. Пробирки закрывают ватно-марлевыми пробками, которые состоят из плотно скрученных валиков ваты, покрытых слоем марли.

Посуду перед стерилизацией размещают в сушильном шкафу не слишком плотно, чтобы обеспечить циркуляцию воздуха, и следят, чтобы температура не превышала 180°C, так как при более высокой температуре бумага и вата будут обугливаться. После окончания стерилизации сушильный шкаф не открывают до тех пор. Пока температура в нем не снизится до 70-80°C, поскольку резкий перепад температур может привести к разрушению стекла.

Стерилизацию паром под давлением проводят в паровых стерилизаторах (автоклавах). Автоклав загружают стерилизуемым материалом, закрывают крышку и кран, через который заливали воду, нижний кран временно отваливают открытым. Началом стерилизации считают момент, когда давление достигает заданной величины (по показателям манометра). Нагрев регулируют на протяжении всей стерилизации, поддерживая давление пара на одном уровне. По истечении времени стерилизации автоклав отключают. После остывания при нулевом показании манометра открывают кран для спуска пара.

2.1. Приготовление питательной среды для культивирования грибов

Культивирование грибов производится в аэробных условиях при температуре 22–37 °С на питательных средах, содержащих азотистые и углеродсодержащие вещества; наиболее благоприятный рН 6,0-6,5, но патогенные грибы могут расти и при более широком диапазоне рН - от 3 до 10.

Патогенные грибы нуждаются в различных факторах роста (витамины, аминокислоты) и микроэлементах (цинк, кобальт, соли железа, натрия, магния, меди, фосфора). По характеру роста на питательных агаровых средах патогенные грибы подразделяют на ряд типов:

- кожистые, гладкие, плотной консистенции, с трудом отделяемые от питательного субстрата;
- пушистые, рыхлые, ватообразной консистенции, большим трудом отделяемые от питательной среды;
- бархатисто-ворсистые колонии, покрытые очень коротким густым гифом;
- хрупкие, пленчатые, напоминающие ломкий картон, густомучнистые при спорообразовании;
- гипсовидномучнистые поверхностные колонии порошковидной консистенции;

- мелкозернистые или бугристые, кожистой консистенции колонии, плотно спаянные с питательным субстратом;

крупнобугристые строчковидные колонии очень хрупкой консистенции, легко отделяемые от субстрата;

- блестящие сальные или матовые колонии кремообразной консистенции.

На жидких средах многие виды грибов растут в виде волокнообразного осадка на дне, отмечается пристеночный рост. Грибы вырабатывают пигменты различного цвета: белые, желтые, коричневые, черные, синие, зеленые, красные и малиновые, одни из которых растворяются в воде, а другие в спирте, ацетоне, дихлорэтаноле, четыреххлористом углероде.

У паразитических форм грибов мицелий расположен, как правило, внутри пораженного организма. В частности, внутри растений гифы гриба проходят по межклетникам и иногда распространяются по всему растению

У промежуточных по степени паразитизма форм грибов мицелий также в основном расположен внутри субстрата, однако в некоторых растениях гифы идут не по межклетникам, а через клетки (сквозь них). Для того чтобы проникнуть в клетку растения-хозяина, гиф паразита воздействует на клеточную оболочку своими ферментами. Осмос питательных веществ в этом случае осуществляется всей поверхностью погруженных в субстрат гифов.

Своими ферментами паразитический гриб не только растворяет оболочку клеток растения-хозяина, благодаря чему проникает внутрь, но и обычно приводит их к гибели, после чего усваивает содержащиеся в клетках питательные вещества. Таким образом, внедрившись в них в качестве паразита, гриб затем питается за счет им же убитой клетки как сапрофит. Такой гриб можно назвать хищником.

Чем сильнее выражены паразитические свойства гриба, тем меньшим набором ферментов он обладает, в силу чего может поражать только ограниченное число субстратов, вплоть до отдельных сортов растений. Такая приуроченность к строго определенным субстратам называется паразитической специализацией, а паразитический гриб - узкоспециализированным. Специализация у грибов иногда принимает крайние пределы: известна приуроченность грибов даже к определенным органам растений. Такое явление носит название органотропности.

В качестве питательных субстратов грибов могут служить преимущественно объекты растительного (в том числе кормовые растения), реже

- животного происхождения (млекопитающие, птицы, рыбы, насекомые, черви, простейшие и т. д.).

В качестве среды использовали заранее приготовленную универсальную

среду для выращивания патогенных грибов Сабуро, плотная питательная среда. Также плотную питательную среду Сабуро с добавлением левомицетина для подавления роста бактерий препятствующих рост грибов.

Манипуляции культивирования культур дерматофитов проводили в ламинарном боксе для минимизирования фактора аэрогенного заражения т. к. дерматофиты относятся к 3 группе патогенности.

среду для выращивания патогенных грибов Сабуро, плотная питательная среда. Также плотную питательную среду Сабуро с добавлением левомицетина для подавления роста бактерий препятствующих рост грибов.

Манипуляции культивирования культур дерматофитов проводили в ламинарном боксе для минимизирования фактора аэрогенного заражения т. к. дерматофиты относятся к 3 группе патогенности.

Засеваемый патологический материал *Neurospora crassa* засекали на готовую плотные среды Сабуро, кровяной агар, Чапека и Эндо, а также плотные среды с добавлением левомецетина.

Для роста грибам необходимы соли фосфора и серы, накопить большую биомассу грибов для промышленных целей позволяют добавки ионов меди, магния и натрия, витаминов: биотина, рибофлавина, тиамина.

Сухую среду 54 г. Разводили в 1 л. дистиллированной воды. Далее кипятили до полного растворения среды. Далее разливали в стерильные колбы и стерилизовали в автоклаве при температуре 112 °С. После автоклавирования готовой питательной среды, разливали ее по чашкам Петри. Также использовали плотную питательную среду Сабуро с добавлением антибиотика левомецетина для подавления роста бактерий, препятствующих рост грибов. При приготовлении плотной питательной среды Сабуро с левомецетином, антибиотик добавляется перед этапом автоклавирования.

Метод световой микроскопии

Световая микроскопия обеспечивает увеличение до 2–3 тысяч раз, цветное и подвижное изображение живого объекта, возможность микрокиносъемки и длительного наблюдения одного и того же объекта, оценку его динамики и химизма. Изображение в световом микроскопе формируется вследствие того, что объект и различные его структуры избирательно поглощают свет с различной длиной волны (абсорбционный контраст) или вследствие изменения фазы световой волны при прохождении света через объект (фазовый контраст).

Основными характеристиками любого микроскопа являются разрешающая способность и контраст. Разрешающая способность – это минимальное расстояние, на котором находятся две точки, демонстрируемые микроскопом раздельно. Разрешение человеческого глаза в режиме наилучшего видения равно 0,2 мм. Контраст изображения – это различие яркостей изображения и фона. Если это различие составляет менее 3–4 %, то его невозможно уловить ни глазом, ни фотопластинкой; тогда изображение останется невидимым, даже если микроскоп разрешает его детали. На контраст влияют как свойства объекта, изменяющие световой поток по сравнению с фоном, так и способности оптики уловить возникающие различия в свойствах луча. Возможности светового микроскопа ограничены волновой природой света. Физические свойства света – цвет (длина волны), яркость (амплитуда волны), фаза, плотность и направление распространения волны изменяются в зависимости от свойств объекта. Эти различия и используются в современных микроскопах для создания контраста.

Увеличение микроскопа определяется как произведение увеличения объектива на увеличение окуляра. У типичных исследовательских микроскопов увеличение окуляра равно 10, а увеличение объективов – 10, 40 и 100. Соответственно, увеличение такого микроскопа составляет от 100 до 1 000. Некоторые из микроскопов имеют увеличение до 2 000. Еще более высокое увеличение не имеет смысла, так как при этом разрешающая

способность не улучшается. Напротив, качество изображения ухудшается.

Числовая апертура используется для выражения разрешающей способности оптической системы. Числовая апертура — это характеристика оптической системы, которая определяет ее разрешающую способность. Она указывается на оправе объектива и определяет количество света, проходящего через линзу. Если линза граничит с воздухом, ее числовая апертура не может превышать 1 из-за показателя преломления воздуха. Однако эту характеристику можно увеличить, например, поместив между объективом и объектом каплю жидкости с показателем преломления выше, чем у воздуха. Это может быть, например, вода, глицерин или кедровое масло, которые имеют показатель преломления от 1,3 до 1,5. Существуют специальные иммерсионные объективы для каждого из этих видов жидкостей. Таким образом, увеличивая числовую апертуру, можно улучшить разрешающую способность оптической системы.

Метод культурального посева на чашках Петри

В культуральном исследовании необходимо выделить возбудителя из исследуемого материала. При этом необходимо учитывать, что сроки культивирования могут варьироваться в зависимости от вида гриба и составлять от 2–4 дней до 4 недель, а для диморфных грибов может потребоваться до 8 недель. Для культивирования грибов в микологической лаборатории используются различные среды, в том числе основными являются среда Сабуро, которая может быть как жидкой, так и плотной. Для обеспечения оптимальных условий для роста грибов в среду добавляют антибиотики другие препараты.

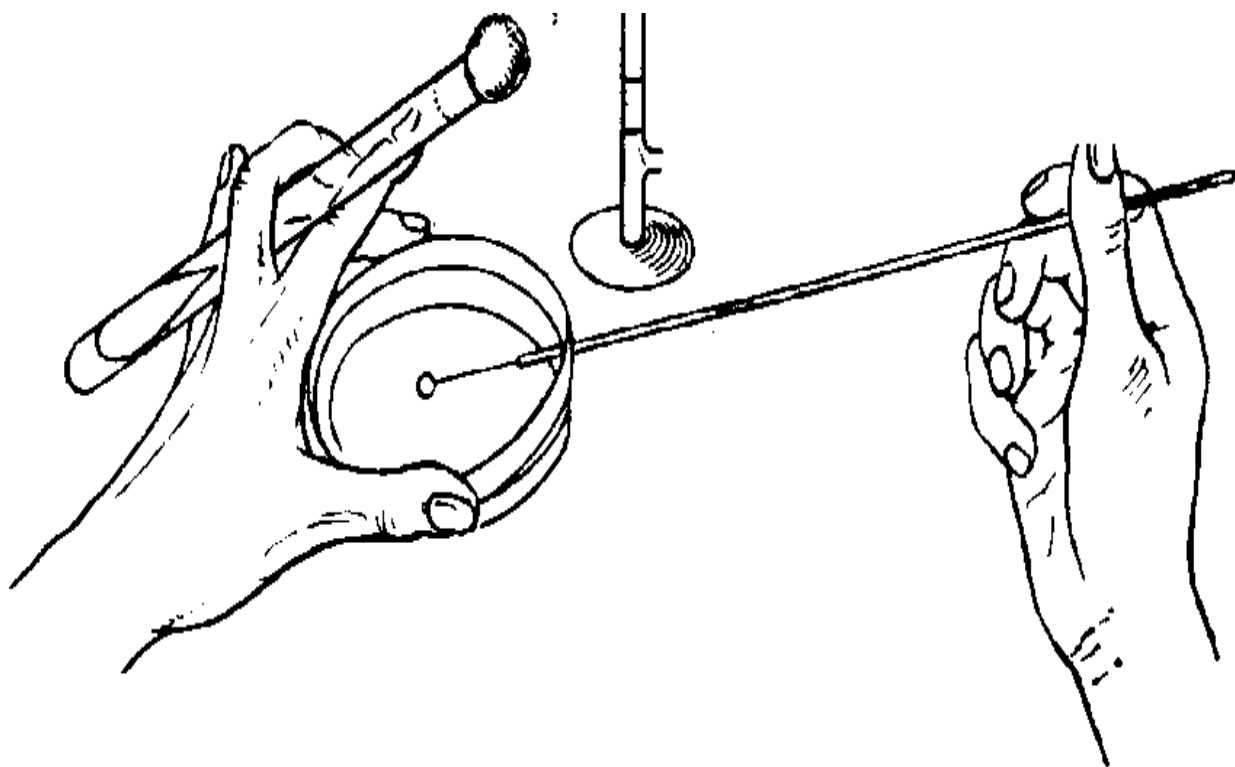
Для большинства патогенных грибов оптимальная температура для культивирования составляет 30°C, но в случае подозрения на диморфные грибы температура может быть повышена до 37°C. Длительность инкубации может составлять до 6 недель, и если в течение этого времени рост не наблюдается, то результатом считается отрицательный. При подозрении на диморфные грибы культуру выдерживают 8 недель и только после этого

делают заключение о наличии или отсутствии роста. Существуют также готовые среды с циклогексимидом, которые позволяют подавлять рост сапрофитных грибов.

Культуральное исследование основано на выделении возбудителя из исследуемого материала. Сроки культивирования различны для разных видов грибов (от 2–4 дней до 4 недель), при подозрении на диморфные грибы культуру выделяют до 8 недель. Основными средами для культивирования в микологической лаборатории является среда Сабуро: декстрозный агар Сабуро (плотная среда), бульон Сабуро (жидкая среда). Для подавления роста бактериальной флоры в среду Сабуро добавляют антибиотики (хлорамфеникол, гентамицин, реже стрептомицин, пенициллин). Для подавления роста сапрофитных грибов в среду добавляют циклогексимид, хлорамфеникол. Существуют готовые среды с циклогексимидом (Mycobiotic Mycosel).

Оптимальным режимом культивирования для большинства патогенных грибов является 30° С, 20-25° С, реже 37° С – при подозрении на диморфные грибы. Длительность инкубации для большинства грибов составляет до 6 недель; если по прошествии этого времени роста не наблюдается, то дают отрицательный ответ. В случае подозрения на диморфный микоз при отсутствии роста в течение 6 недель, культуру выдерживают 8 недель и только после этого дают отрицательный результат.

При посеве патологического материала на поверхность плотной питательной среды Сабуро, инфицированные волосы пушковые, длинные и щетинистые помещали на поверхность агара трех чашек и оставляли в термостате при температуре 28°С. Через трое суток в чашках с пушковыми и длинными волосами выросли светлые колонии с пушком. В чашках с щетинистыми волосами рост колоний наблюдали через девять дней. Колонии были восковидные, складчатые от желтого до кремового цвета



ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Культуральный метод



Рисунок 3.1 - *Neurospora crassa* на среде Сабуро

Форма колний — амёбовидная

Профиль колонии — кратерообразный

Край колоний — ворсинчатый

Структура колоний — волокнистая

Размер колоний — 20-30мм

Блеск и прозрачность — мучнистая

Цвет — пигментированный (белый)

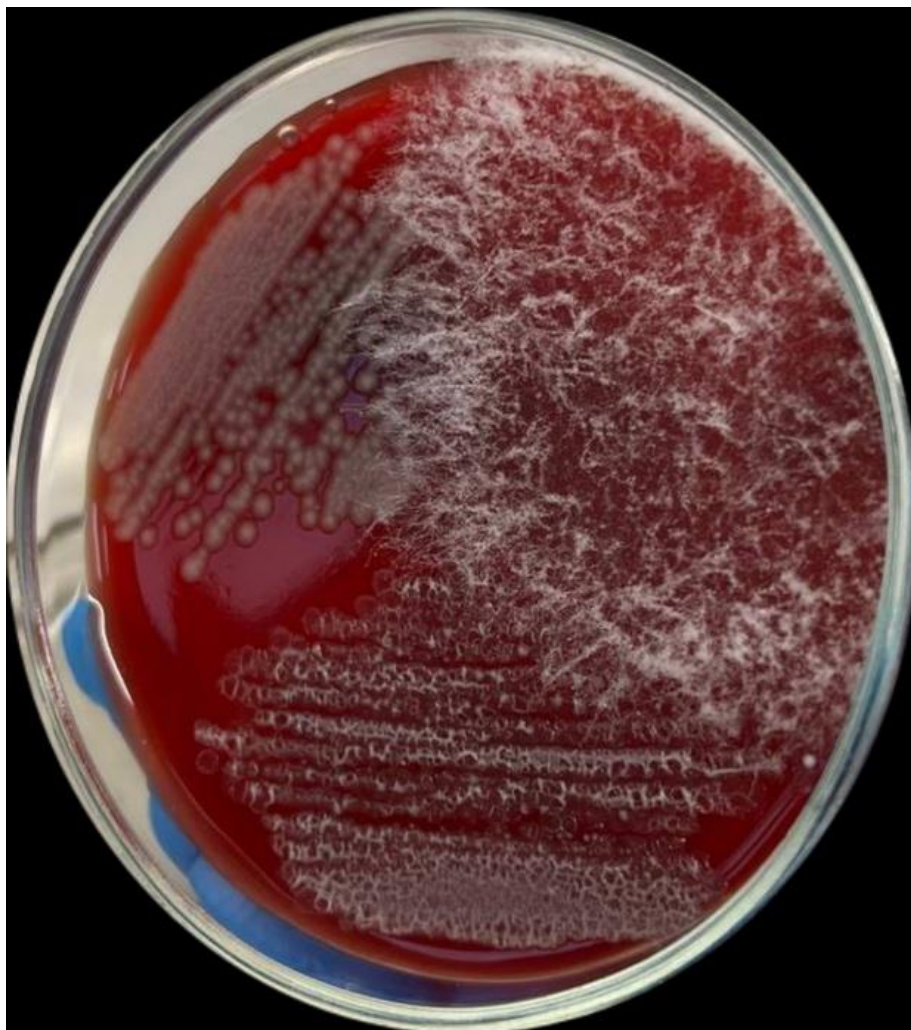


Рисунок 3.2 *Neurospora crassa* на среде кровяной агар

Известно, что на кровяном агаре нейроспора, выделенная из растений, не культивируется.

Форма колний — нитевидная

Профиль колонии — бугристый

Край колоний — неправильные

Структура колоний — волокнистая

Размер колоний — 30-50мм

Блеск и прозрачность — мучнистая

Цвет — пигментированный (белый)



Рисунок 3.3 *Neurospora crassa* на среде Чапека

Форма колний — с ризоидным краем

Профиль колонии — кратерообразный

Край колоний — ворсинчатый

Структура колоний — волокнистая

Размер колоний — 30-40мм

Блеск и прозрачность — мучнистая

Цвет — пигментированный (белый)

Микрофотография *Neurospora crassa*

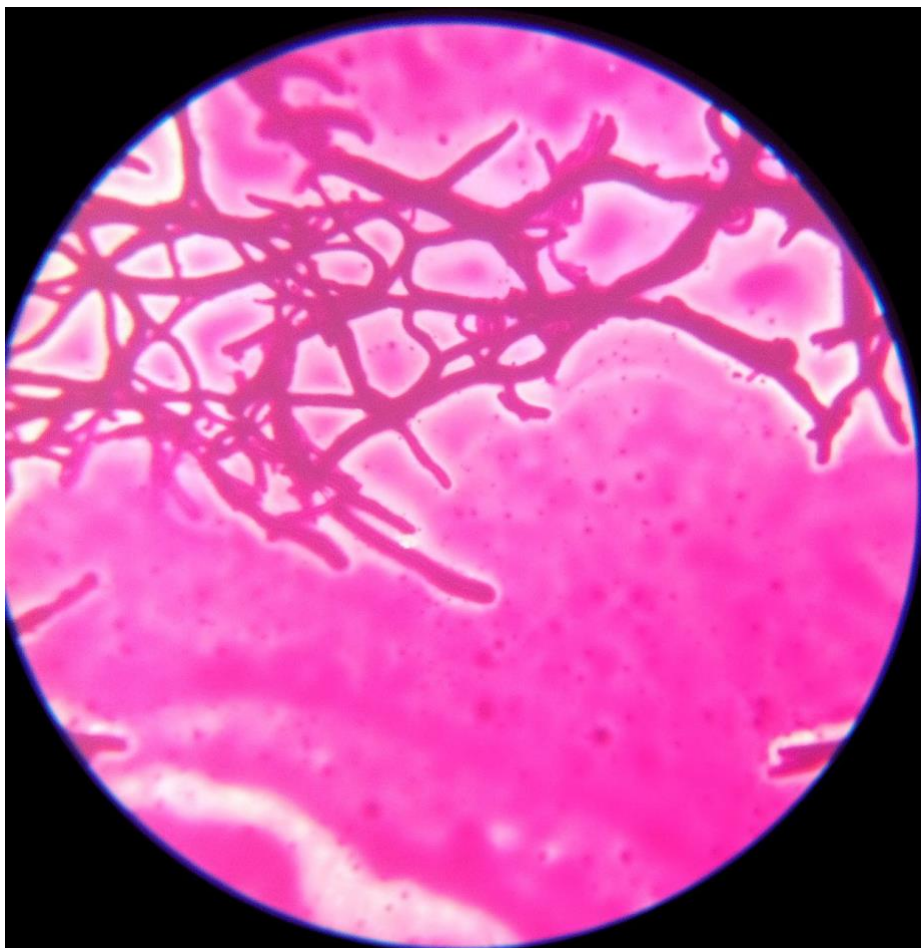


Рисунок 3.4 – Микрофотография *Neurospora crassa* (иммерсия 100X)

Очень хорошо виден обильно ветвящийся густой мицелий, но споры настолько маленькие что на таком увеличении их трудно разглядеть

Ультрамикротография *Neurospora crassa*

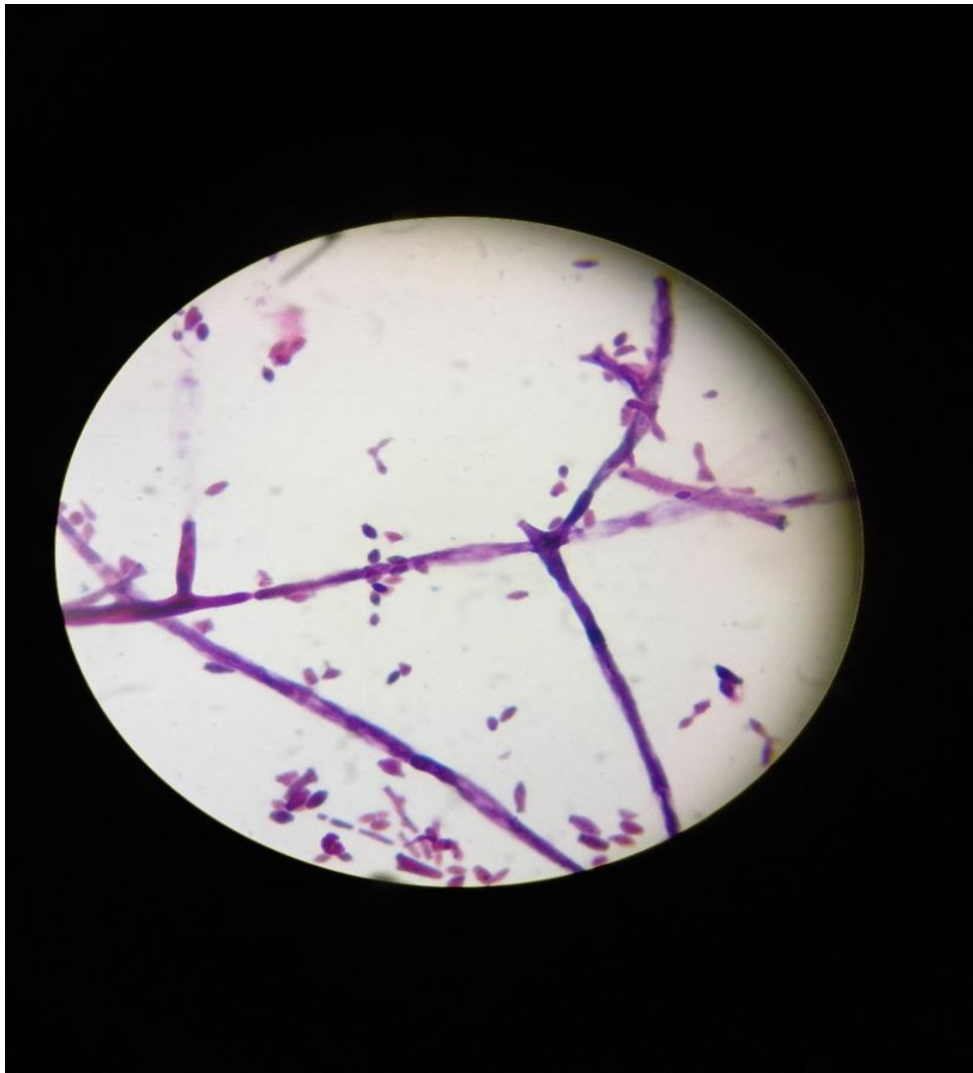


Рисунок 3.5 Ультрамикротография *Neurospora crassa*

На Ультрамикротографии видно больше:

1. Клеточная стенка в молодых гифах толщиной чуть больше 100 нм, трёхслойная;
2. Клетки гиф всегда одноядерные;
3. Жизненный цикл гаплофазный;
4. Преобладает конидиальное спороношение.

Антагонистические свойства

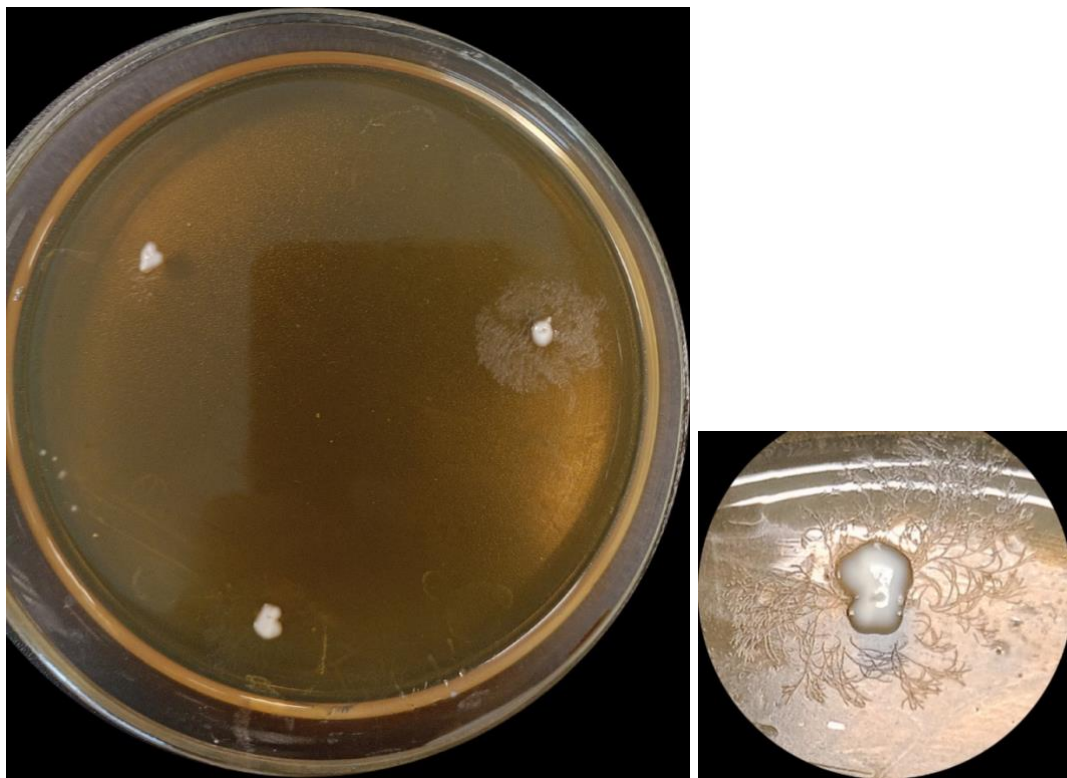


Рисунок 3.6 Посев бактерии *Staphylococcus hominis* с грибом *Neurospora crassa*

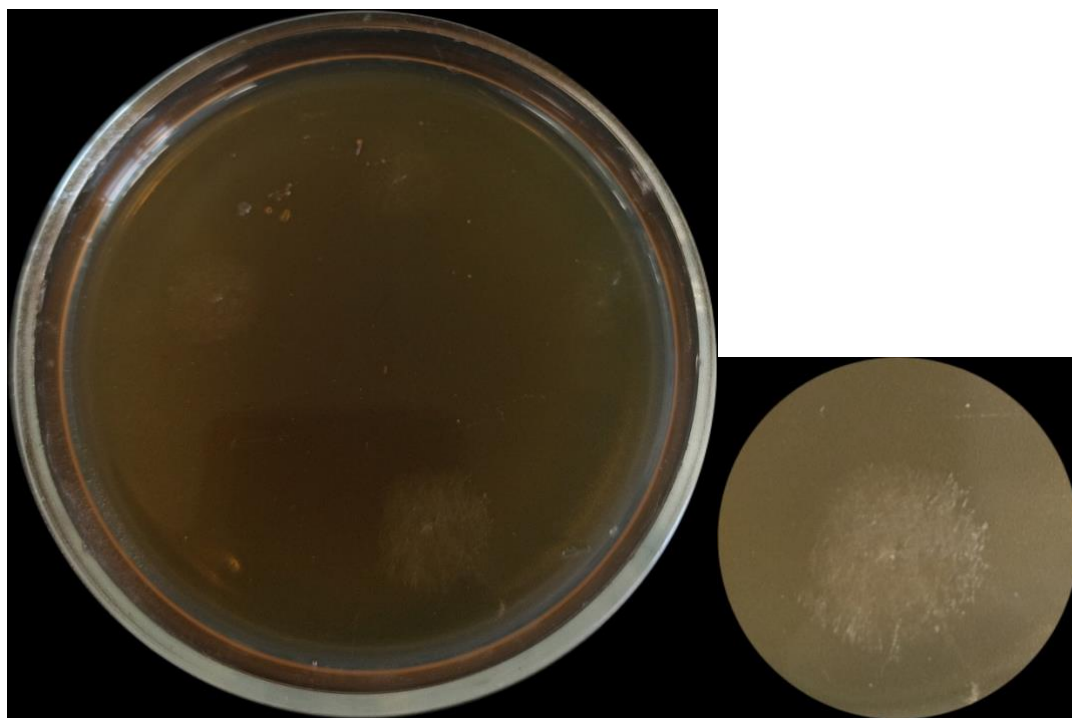


Рисунок 3.7 Посев бактерии *Streptococcus oralis* с грибом *Neurospora crassa*

При посеве бактерий *Staphylococcus hominis* и *Streptococcus oralis* с грибом *Neurospora crassa*, наблюдали отсутствие роста бактерий

Резистентность *Neurospora crassa* к различным антимикотикам.



Рисунок 3.8 Фунгистатической активностью из 6 исследуемых антимикотиков обладали кетоконазол и амфотерицин

Для исследования эффективности группы антимикотиков был проведён сравнительный анализ влияния кетоконазола, амфотерицина, флуконазола, цефотаксима, доксициклина, цефалеперазона на рост *Neurospora crassa*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При выполнении дипломной работы были освоены методы выделения возбудителя на средах Сабуро, Чапека, кровяной агар, эндо. Также изучили макроморфологические свойства культуры гриба и были изучены микроскопические характеристики данного гриба. Рассмотрели антибиотические свойства гриба по отношению к возбудителям бактериальной природы и метод определения устойчивости к различным антимикотикам

В дипломной работе были поставлены следующие задачи:

- 1) Получить культуру гриба и охарактеризовать его морфологию .
- 2) Исследовать особенности роста гриба на различных средах.
- 3) Определить антибиотическую активность к клинически значимым бактериям.
- 4) Выявить резистентность *Neurospora crassa* к различным антимикотикам.

Данное исследования показало, что *Neurospora crassa* выделенная из организма человека не прозрачная, колонии белого цвета в отличии от пигментированной, имеющий оранжевый цвет, культуры данного гриба выделенного из хлеба. Культивирование этого гриба показало различия в морфологии гриба на средах Сабуро и Чапека. Нейроспора которая была получена у онкобольного, растет на среде предназначенной для роста бактерий (кровяной агара). Также была выявлена антибиотическая активность к бактериям, а антимикотический эффект имел кетоконазол, что в стандартных дозах имел положительный эффект, а уже к амфотерцину для лечения понадобится повышенные дозы лекарственного препарата

Проведённые исследования создают предпосылки для выявления новых штаммов грибов на культивирование на различных средах и выявление определенных способах лечения

ВЫВОДЫ

1. Культуральный метод показал, что нейроспора, выделенная из организма человека, не прозрачная, колонии белого цвета в отличие от пигментированной, имеющий оранжевый цвет, культуры гриба *Neurospora crassa*, выделенной из природного источника – хлеба.

2. Культивирование *Neurospora crassa* показало различия в морфологии гриба на средах Сабуро и Чапека. Нейроспора, полученная у онкобольного, растет на среде, предназначенной для роста бактерий (кровяной агар).

3. Выявлена антибиотическая активность *Neurospora crassa* к бактериям *Staphylococcus hominis* и *Streptococcus oralis*, дрожжеподобный гриб *Candida albicans* и бактерия *Escherichia coli* оказались устойчивыми к росту гриба.

4. Фунгистатической активностью из 6 исследуемых антимикотиков обладали кетоконазол и амфотерицин. Кетоконазол может иметь лечебный эффект при использовании стандартных доз препарата. К амфотерицину *Neurospora crassa* умеренно устойчива и для лечения понадобятся повышенные дозы лекарственного средства.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коллекции микроорганизмов, их использование и развитие / К. Х. Алмагамбетов[и др.]// Микробиология. Вып.7. 2014. С. 16-20
2. Горленко М.В. Жизнь растений. В 6-ти тт. Т. 2. Грибы // Под ред. проф. М. В. Горленко. — М.: Просвещение, 1976. — С. 146—147.
3. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология: Пер. с нем.— М.: Мир, 1995.
4. Roche C. M. et al. *Neurospora crassa*: looking back and looking forward at a model microbe // American journal of botany. – 2014.
5. Абдулахадова Гулнора, Зухритдинова Нигора, Тураева Бахора, Кутлиева Гузал ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ // Universum: химия и биология. 2022. №9-1 (99). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vydelenie-novyh-shtammov-molochnokislyh-bakteriy-i-izuchenie-ih-probioticheskikh-svoystv>
6. Алимова Б.Х, Пулатова О.М, Камбаралиева М.И, Хасанова Л.Ю, Шарипов М.Р, Холиков А.Ф, Махсумханов А.А, Давранов К.Д МОРФОЛОГО КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ БАКТЕРИЙ РОДА RHODOCOCCLUS, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЗАГРЯЗНЁННЫХ УЧАСТКОВ УЗБЕКИСТАНА // SAI. 2023. №Special Issue 8. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologo-kulturalnye-i-fiziologo-biohimicheskie-harakteristiki-bakteriy-roda-rhodococcus-vydelennyh-iz-ekologicheskikh-uchastkov-uzbekistana>
7. Гусейнова С.Р., Решетник Г.В., Сидякин А.И. Морфолого-культуральные и физиологические особенности новых штаммов *Azospirillum formosense* // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologo-kulturalnye-i-fiziologicheskie-osobennosti-novyh-shtammov-azospirillum-formosense>

8. Иркитова А. Н. Морфолого-культуральные свойства коллекционных штаммов *Lactobacillus acidophilus*, перспективных для включения в состав пробиотических кисломолочных продуктов // ТППП АПК. 2014. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/morfologo-kulturalnye-svoystva-kollektsionnyh-shtammov-lactobacillus-acidophilus-perspektivnyh-dlya-vklyucheniya-v-sostav>

9. Левитин М.М., Афанасенко О.С., Гагкаева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б., Гультяева Е.И., Мироненко Н.В. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГРИБОВ - ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР // Вестник защиты растений. 2019. №4 (102). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/populyatsionnye-issledovaniya-gribov-vozbuditeley-bolezney-zernovykh-kultur>

10. Маслова Марина Витальевна КУЛЬТУРАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОДВОЙНЫХ ФОРМ ЯБЛОНИ // Наука и образование. 2022. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/kulturalno-morfologicheskie-priznaki-bakteriy-vydelennyh-iz-podvoynyh-form-yabloni>

11. Орлова Татьяна Николаевна, Функ Ирина Андреевна, Дорофеев Роман Викторович, Отт Екатерина Фёдоровна, Шевченко Кристина Евгеньевна ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ // Ползуновский вестник. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vydelenie-i-identifikatsiya-molochnokislyh-bakteriy-dlya-fermentirovannyh-molochnyh-produktov>

12. Поединок Н. Л. Использование искусственного света при культивировании грибов // Biotechnol. acta. 2013. №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-iskusstvennogo-sveta-pri-kultivirovanii-gribov>

13. Поляков В.А., Погоржельская Н.С. Инновационное развитие пищевой биотехнологии // Индустрия питания / Food Industry. 2017. №4 (5).

URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/innovatsionnoe-razvitie-pischevoy-biotehnologii>

14. Ржевская В.С., Отурина И.П., Теплицкая Л.М. Изучение биологических свойств штаммов молочнокислых бактерий // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. 2014. №1 (66). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-biologicheskikh-svoystv-shtammov-molochnokislyh-bakteriy>

15. Хабирова С. Р., Шуралев Э. А., Мукминов М. Н. Методы исследования почвенных микромицетов при оценке биологических эффектов загрязнения среды. — 2022. URL: https://kpfu.ru/staff_files/F_2062515357/Khabirova_UchebPosobie.pdf

16. Шуралев Э. А. и др. Методы исследования почвенных микромицетов при оценке биологических эффектов загрязнения среды: учебное пособие. URL: https://dspace.kpfu.ru/xmlui/bitstream/handle/net/170683/F_Khabirova_UchebPosobie.pdf?sequence=1

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Башкирский государственный медицинский
университет

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Хафизова Аделя Эльмаровна
Самоцитирование
рассчитано для: Хафизова Аделя Эльмаровна
Название работы: Морфолого-культуральные характеристики *Neurospora crassa*
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ

РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ	<div><div></div></div>	18.14%	СОВПАДЕНИЯ	<div><div></div></div>	18.14%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	<div><div></div></div>	74.12%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	<div><div></div></div>	81.86%
ЦИТИРОВАНИЯ	<div><div></div></div>	7.74%	ЦИТИРОВАНИЯ	<div><div></div></div>	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	<div><div></div></div>	0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ	<div><div></div></div>	0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 25.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 25.06.2024 08:59

Структура документа:

Проверенные разделы: библиография с.48-50, основная часть с.4-47

Модули поиска:

Цитирование; Перефразирования по коллекции IEEE; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования*; Перефразирования по коллекции издательства Wiley; Шаблонные фразы; ИПС Адилет; Издательство Wiley; Диссертации НББ; IEEE; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Публикации eLIBRARY; СМИ России и СНГ; Коллекция НБУ; Медицина; Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Перефразирования по Интернету; Кольцо вузов; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Сводная коллекция ЭБС; СПС ГАРАНТ: аналитика; Публикации РГБ; Переводные заимствования издательства Wiley; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Библиография; Перефразирования по Интернету (EN);

Работу проверил: Халитова Рита Камилевна

ФИО проверяющего

Дата подписи:

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться
в подлинности справки, используйте QR-код,
который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.