

# WSTĘPNA OCENA AKTYWNOŚCI KERATYNOLITYCZNEJ SZCZEPÓW GRZYBÓW *CHRYSOSPORIUM* PRZENOSZONYCH PRZEZ WYBRANE PTAKI POLSKI W ODNIESIENIU DO WEWNĄTRZGATUNKOWEGO ZRÓŻNICOWANIA ICH STRUKTURY KLONALNEJ

<sup>1</sup>Justyna Bohacz, <sup>2</sup>Anita Ciesielska

<sup>1</sup> Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Pracownia Mikologiczna,  
<sup>2</sup> Uniwersytet Łódzki, Zakład Genetyki Drobnoustrojów

## WSTĘP

Keratynofilne grzyby z rodzaju *Chrysosporium* są destruentami natywnej keratyny w glebie, kompostach, gniazdach ptaków i innych środowiskach bogatych w ten substrat. Krażenie tych grzybów w środowiskach naturalnych warunkują m.in. ptaki drapieżne, które wypluwają tzw. zrzutki (wypluwki). Zawierają one nie strawione resztki pokarmu, na ogół w postaci szczątków innych zwierząt, zanieczyszczonych grzybami keratynofilnymi. Trudnodegradowalne elementy natywnej keratyny: pióra, włosy, sierść, paznokcie, rogi są rozkładane przez te grzyby na drodze sulfitolizy oraz proteolitycznego ataku z udziałem keratynaz.

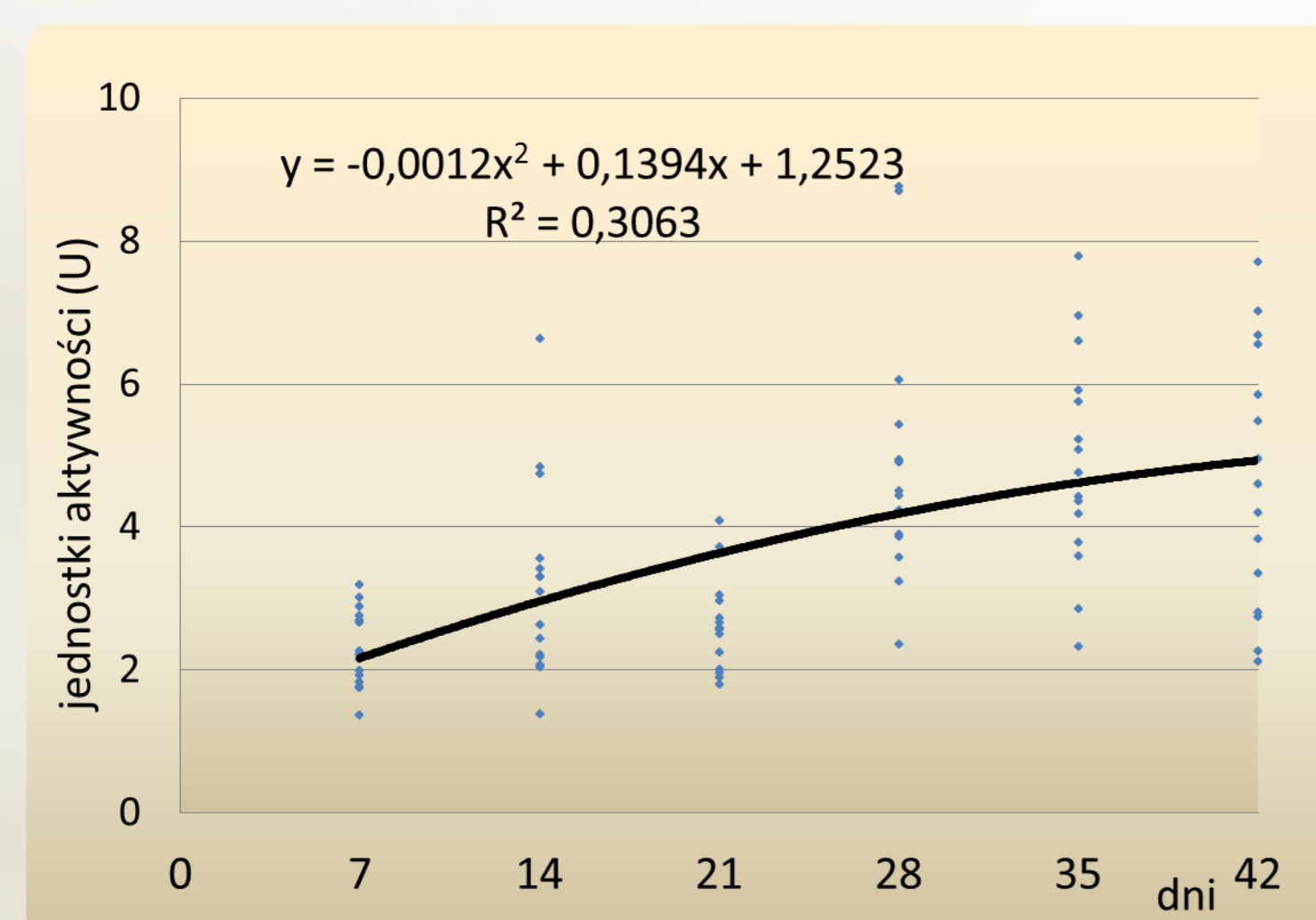
## CEL BADAŃ

Celem pracy była wstępna ocena aktywności keratynolitycznej wybranych szczepów *Chrysosporium* wyizolowanych z wypluwek ptaków drapieżnych w powiązaniu z ich różnorodnością wewnątrzgatunkową.

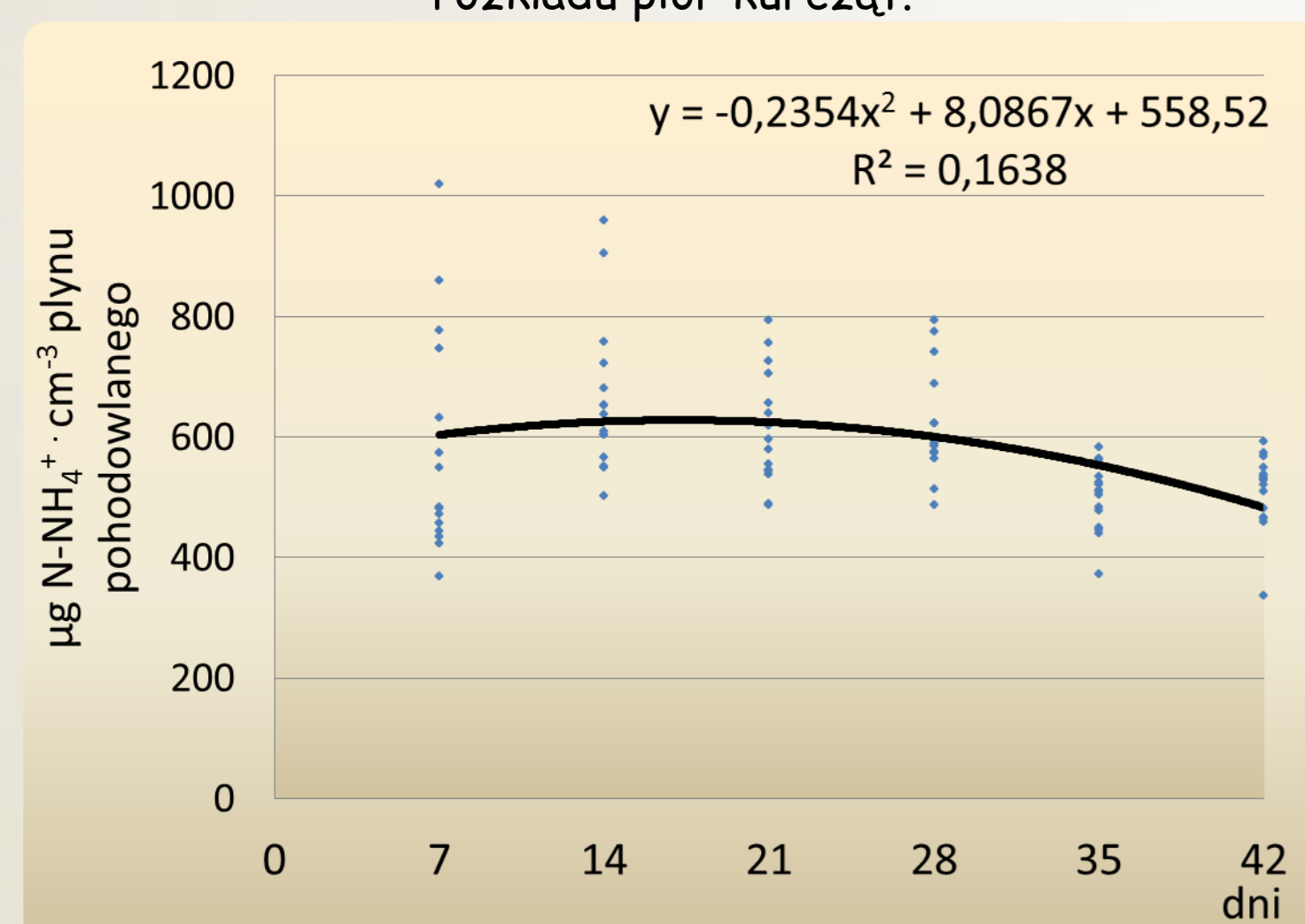
## MATERIAŁ I METODYKA

Badaniami objęto 7 szczepów *Chrysosporium pannicola* (po weryfikacji molekularnej *Ch. tropicum*) oraz 8 szczepów *Ch. keratinophilum* wyizolowanych z wypluwek: pustulki *Falco tinnunculus*, myszółowa *Buteo buteo* oraz sowy uszatej *Asio otus*, występujących w różnych siedliskach w województwie lubelskim. Aktywność keratynolityczna badanych szczepów grzybów analizowana była okresowo w hodowlach płynnych zawierających pióra kurcząt jako jedyne źródło C i N i obejmowała oznaczanie: zawartości N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, aktywności keratynazy, stopnia wykorzystania substratu, pH płynów hodowlanych. Do zróżnicowania wewnątrzgatunkowego zastosowano metodę PCR-RAPD używając starter GACA 4.

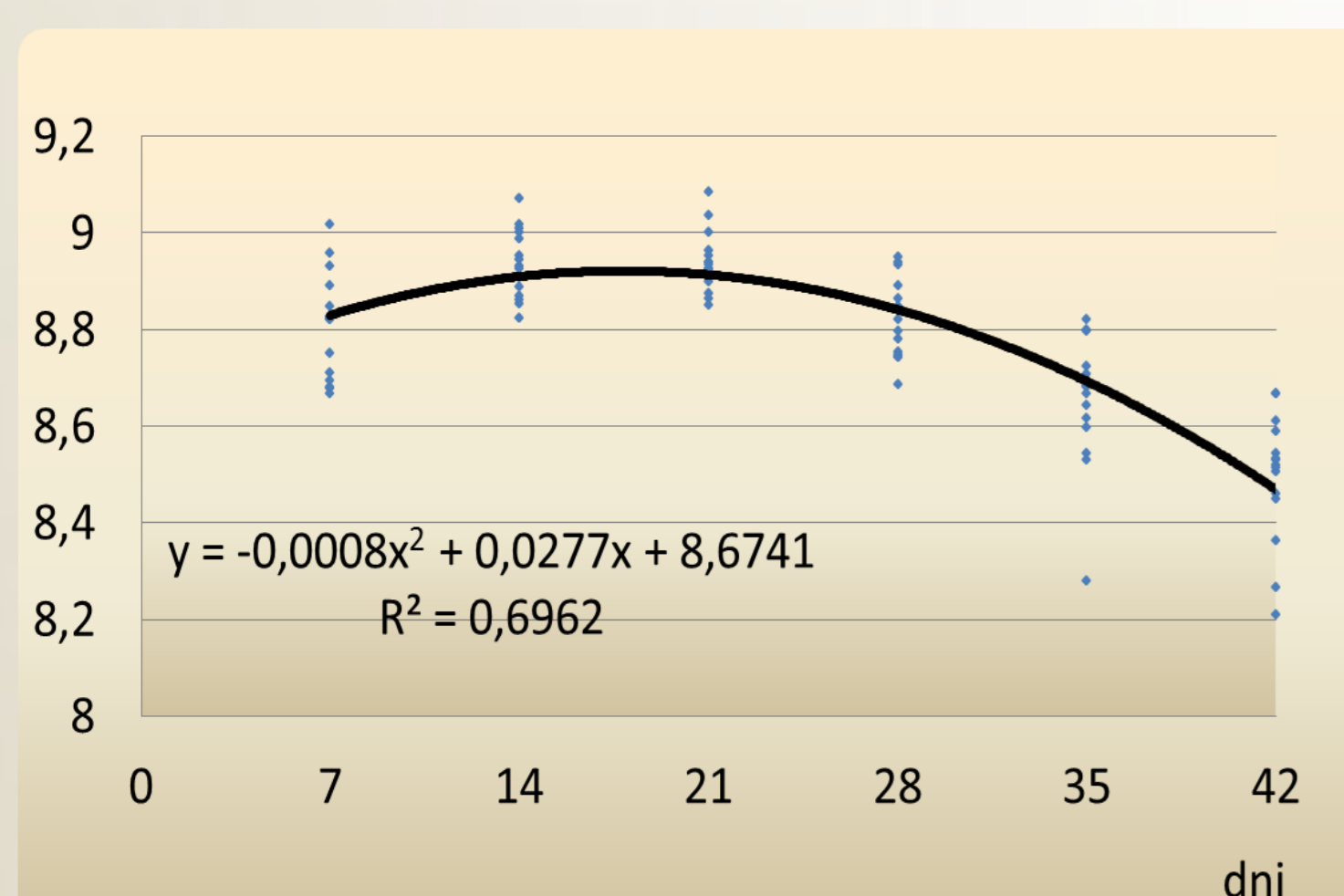
## WYNIKI



Rys.1. Kształtowanie się aktywności keratynazy w podłożu hodowlanym badanych szczepów *Chrysosporium* podczas rozkładu piór kurcząt.



Rys.2. Uwalnianie N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> w hodowlach badanych szczepów *Chrysosporium* podczas rozkładu piór kurcząt.



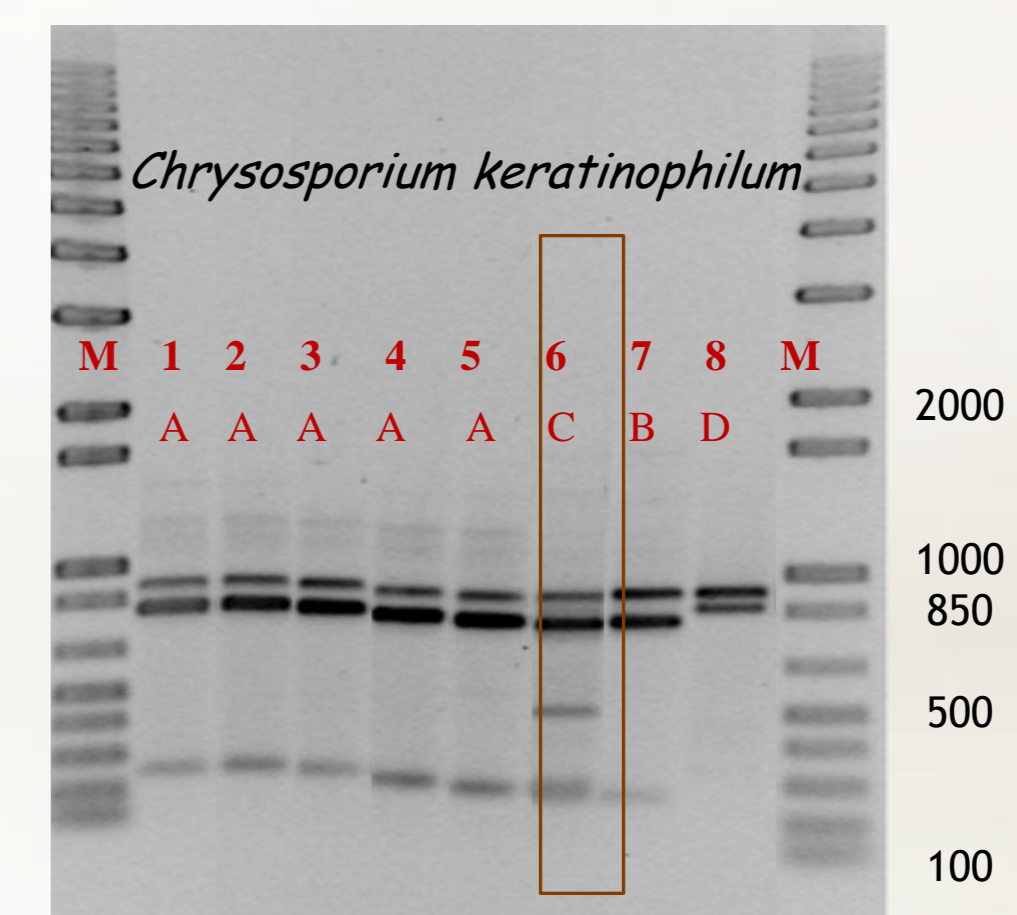
Rys.3. Zmiany pH podłoża w hodowlach badanych szczepów *Chrysosporium* podczas rozkładu piór kurcząt.

Tabela 1. Gatunki ptaków i odpowiadające im szczepy grzybów keratynofilnych.

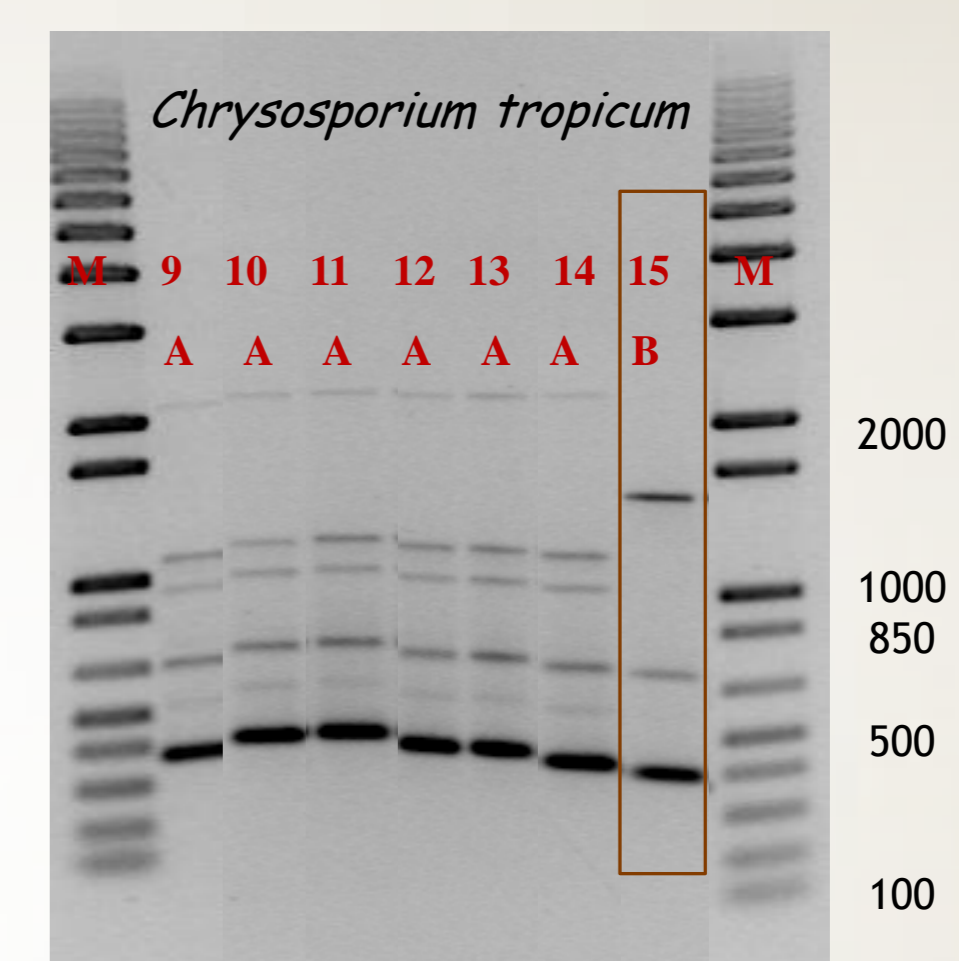
Numer szczepu	Nazwa gatunkowa	wypluwka	Miejscowość/profil RAPD
wł 1/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Dęblin/A
wł 2/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Dęblin/A
wł 3/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Dęblin/A
wł 5/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Dęblin/A
wł 6/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Dęblin/A
wł 7/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	myszółów <i>Buteo buteo</i>	Dęblin/A
wł 8/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	myszółów <i>Buteo buteo</i>	Dęblin/A
wł 9/2	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Chełm/A
wł 10/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Chełm/A
wł 11/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Chełm/A
wł 12/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	pustulka <i>Falco tinnunculus</i>	Chełm/A
wł 14/2	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	myszółów <i>Buteo buteo</i>	Dominów (gm. Mełgiew) /C
wł 19/2	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	myszółów <i>Buteo buteo</i>	Dominów (gm. Mełgiew) /C
wł 22/1	<i>Chrysosporium pannicola</i>	myszółowa <i>Buteo buteo</i>	Dominów (gm. Mełgiew) /B
wł 25/1	<i>Chrysosporium keratinophilum</i>	sowa uszata <i>Asio otus</i>	Rzeszów I/D

Tabela 2. Ubytek masy substratu (%) w 42 dniu hodowli.

Numer szczepu	Ubytek masy substratu (%)
wł 1/1	65,9
wł 2/1	67,9
wł 3/1	67,2
wł 5/1	73,8
wł 6/1	68,1
wł 7/1	74,8
wł 8/1	54,1
wł 9/2	65,6
wł 10/1	71,1
wł 11/1	67,8
wł 12/1	70,7
wł 14/2	75,6
wł 19/2	70,7
wł 22/1	71,4
wł 25/1	72,9



Fot.1. Rozdział elektroforetyczny w 1% żelu agarozowym produktów PCR-RAPD otrzymanych dla analizowanej kolekcji grzybów keratynofilnych  
1. wł 3/1; 2. wł 5/1; 3. wł 7/1; 4. wł 8/1; 5. wł 10/1; 6. wł 14/2; 7. wł 19/2; 8. wł 25/1; M-marker 1kb+



Fot.2. Rozdział elektroforetyczny w 1% żelu agarozowym produktów PCR-RAPD otrzymanych dla analizowanej kolekcji grzybów keratynofilnych  
9. wł 1/1; 10. wł 2/1; 11. wł 6/1; 12. wł 9/2; 13. wł 11/1; 14. wł 12/1; 15. wł 22/1; M-marker 1kb+

## WAŻNIEJSZE WYNIKI I WNIOSKI

- Wszystkie badane szczepy grzybów keratynofilnych (tab.1) charakteryzowały się aktywnością keratynolityczną. Świadczyły o tym wartości liczbowe wskaźników tej aktywności tj. ubytek masy substratu keratynowego, uwalnianie N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, aktywności keratynazy oraz zmiany pH podłoża (Rys. 1,2,3; tab.2)
- Najwyższą aktywnością keratynolityczną charakteryzowały się szczepy: *Chrysosporium keratinophilum* 6.(wł 14/2) oraz *Chrysosporium tropicum* wyizolowane z wypluwek myszółowa 15.(wł 22/1) (Dominów gm. Mełgiew).
- Szczepy te wykazywały inny profil RAPD niż pozostałe badane grzyby z rodzaju *Chrysosporium* (Fot. 1, 2).