

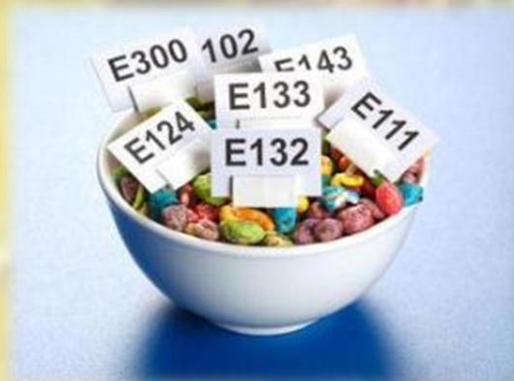
"Эндофитные дрожжевые группировки в соплодиях ананаса"

Авторы:

обучающиеся 10 и 11 классов
ФГКОУ МКК Пансион
воспитанниц МО РФ



Экологически чистые продукты



Цель проектной работы:

- Исследовать эндофитные дрожжевые сообщества в соплодиях ананаса;
- Сделать предположение о вероятной роли эндофитных дрожжей в сочных плодах и дать оценку возможного влияния на здоровье человека.



Задачи проектной работы:

- Используя метод посева выделить дрожжевые грибы из внутренних сочных тканей плодов;
- С помощью макро- и микроморфологических признаков, а также современных молекулярно-генетических методов идентифицировать выделенные штаммы дрожжей.



Гипотеза проектной работы:

Так ли безопасно употребление в пищу продуктов, содержащих эндофитные дрожжи?

Какое влияние эти микроорганизмы оказывают на человека?

Возможное пагубное воздействие эндофитных дрожжей на организм и здоровье человека.



Что такое дрожжи?

Антони ван Левенгук

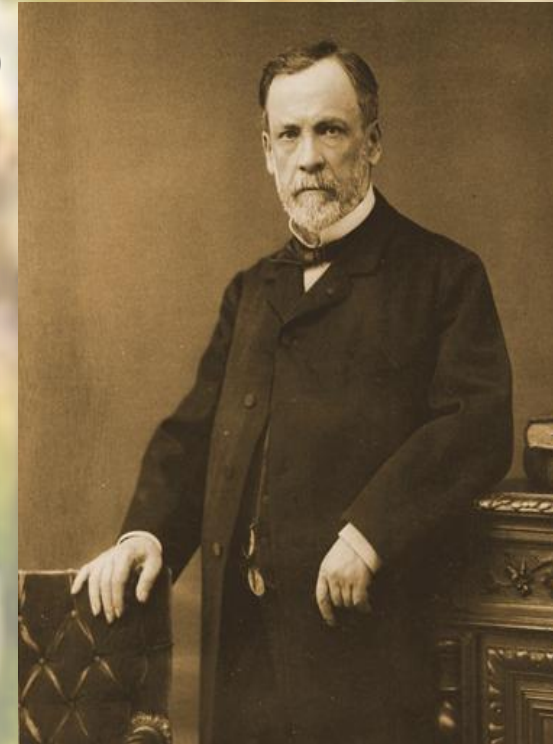


Дрожжи

(от общеслав. «осадок, гуща»)
- сборная группа
одноклеточных грибов из
различных классов.

- Размножаются преимущественно почкованием;
- Многие вызывают спиртовое брожение.

Луи Пастер



Спиртовое брожение — не просто химическая реакция, как считалось ранее, а биологический процесс, производимый дрожжами!

Современные молекулярно – биологические исследования



Шампиньон



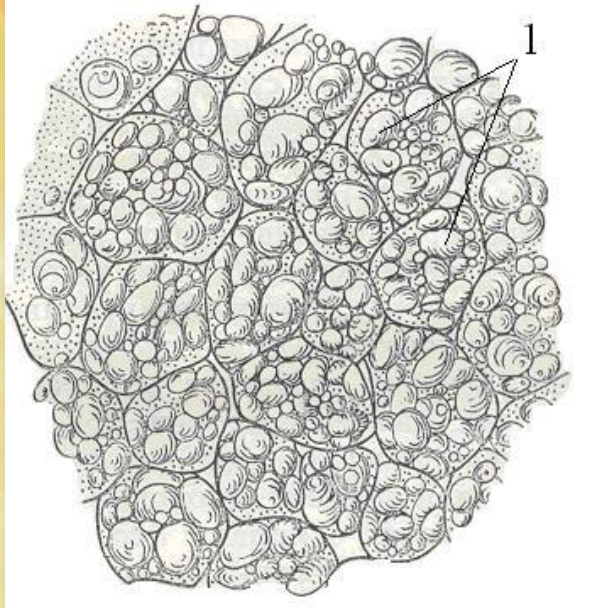
Дрожжи



Сморчок конический

Границы между дрожжами и мицелиальными грибами становятся очень нечеткими, а их классификация сливается с общей системой грибов.

Эндофитные дрожжи



Эндофиты — симбиотические грибы или бактерии, живущие внутри растений. Их *присутствие бессимптомно* и не сопровождается патологическими изменениями. Данное взаимодействие принято называть комменсальным или мутуалистическим.

Дрожжи предпочитают среду, где находится много углеводов и крахмала, другими словами, запасющую ткань растения



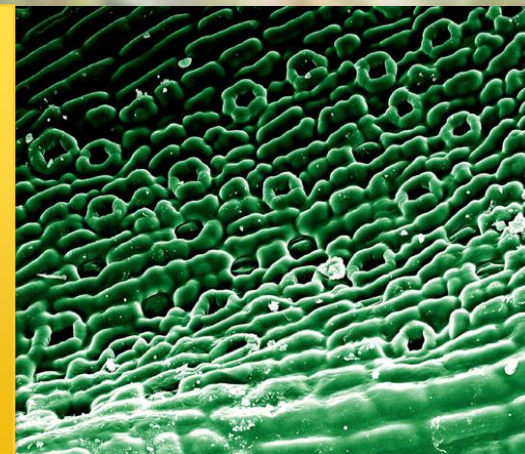


Дрожжи стимулируют рост и развитие растений, а также защищают их от фитопатогенов и фитофагов

Считается, что возникновение истинного эндофитного образа жизни у некоторых бактерий и мицелиальных грибов связано именно с избеганием негативного влияния факторов, ограничивающих рост эпифитных микроорганизмов.



Обладают
липолитическими и
пектинолитическими
ферментами



Эндофитные группировки

**1. В сочных
сахаристых
плодах**



**2. В корневых
запасающих
меаморфозах**

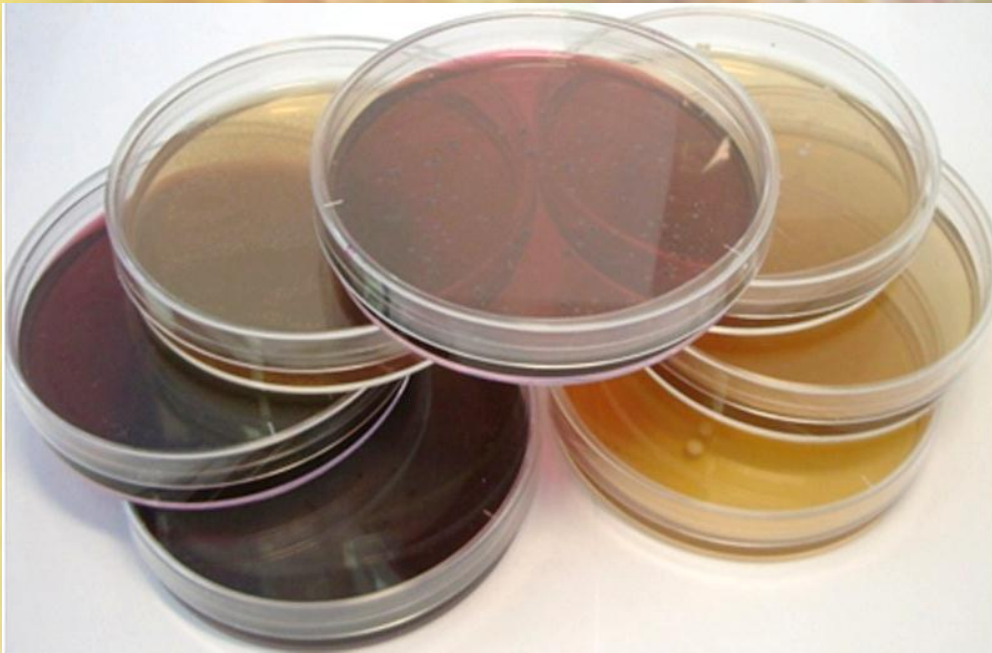


**3. В крахмало -
содержащих
семядолях**



Внутри сочных плодов, корнеплодов или клубней растений почти всегда живут одноклеточные грибы, способные к активному размножению

Метод посева на плотные питательные среды



Состав:

- глюкоза – 20 г/л,
- пептон – 10 г/л,
- дрожжевой экстракт – 5 г/л,
- агар – 20 г/л



Первый способ



Ход работы:

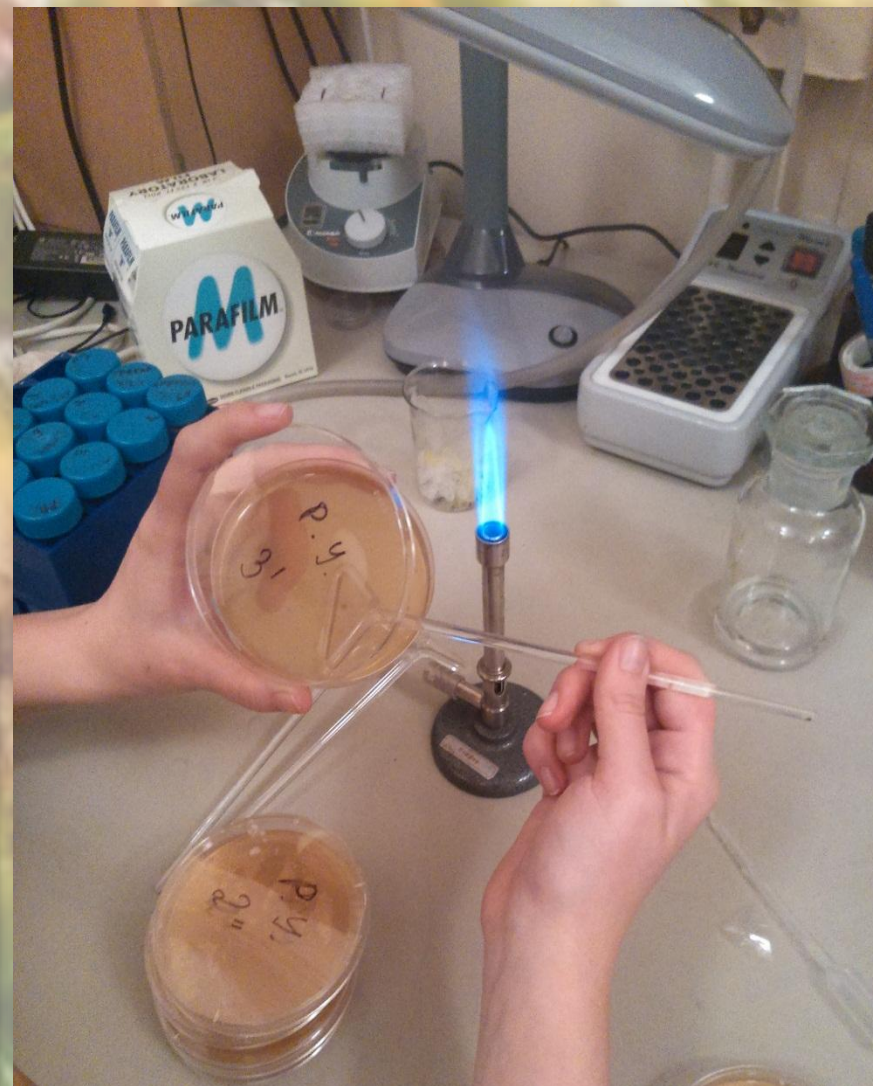
1. Выделить сок ананаса с помощью шприца;
2. Нанести каплю сока на поверхность среды и тщательно растереть.

Второй способ



Ход работы:

1. Вырезать часть мякоти из внутренней части плода;
2. Сделать навеску и обработать на вортексе;
3. Нанести суспензию на поверхность среды и растереть с помощью шпателя;



10 полей зрения

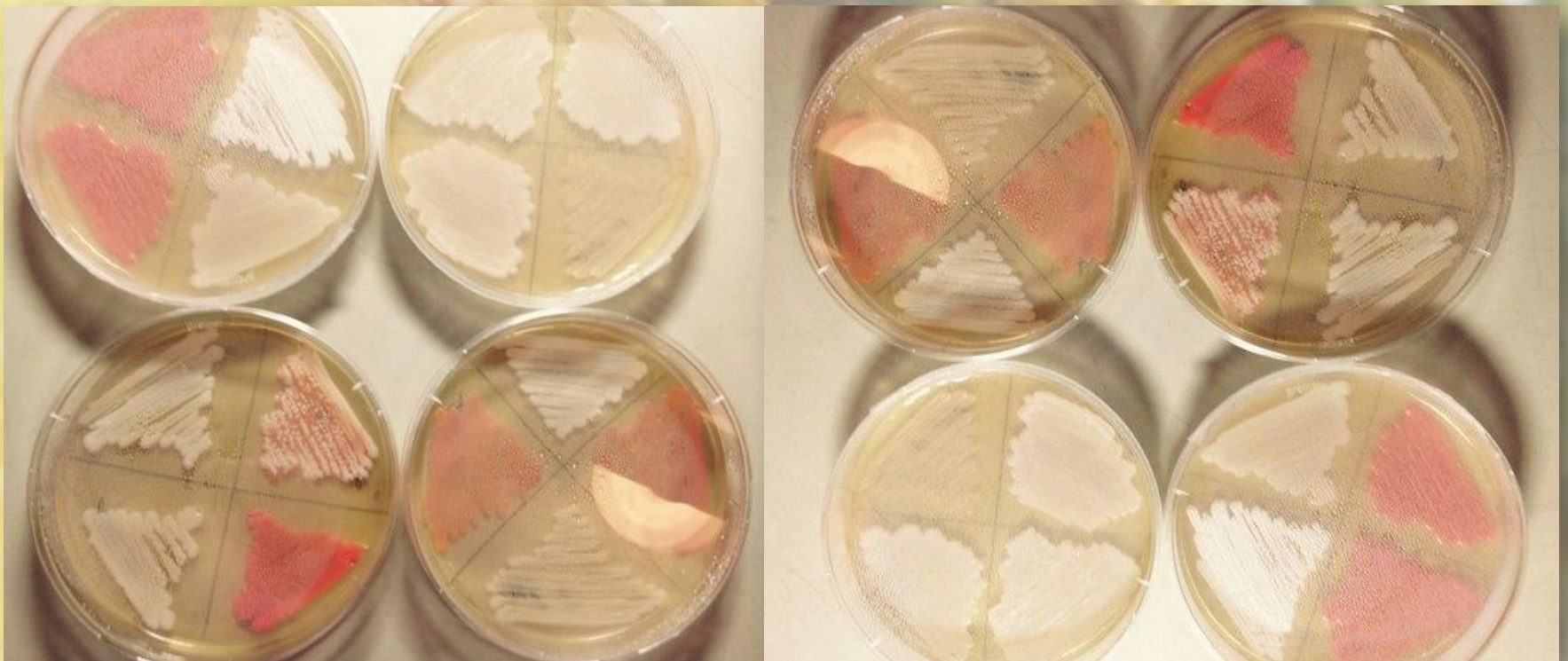


Ход работы:

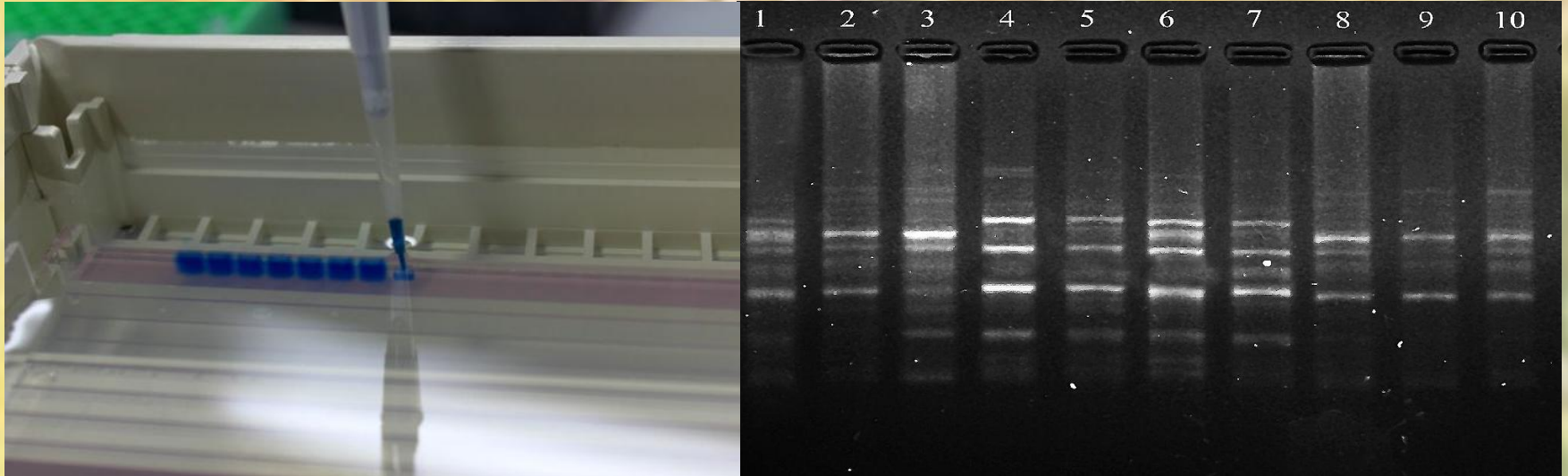
1. Просчитать среднее количество колоний;
2. Измерить диаметры чашки и поля зрения;
3. Определить их площади ($S = \pi r^2$);
4. Составить пропорцию ($S_1/S_2 = N_1/N_2$);
5. Найти реальное количество колоний.



**Представителей каждого типа колоний
выделяли в чистую культуру и
идентифицировали по морфологическим
признакам и с помощью анализа
нуклеотидных последовательностей ДНК**



Часть полученного раствора, содержащего ДНК, была использована для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР)



- ✓ Результат проведения ПЦР проверяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле.
- ✓ При обнаружении полосы (фрагмента ДНК) размером около 1000 пар нуклеотидов считали проведенную реакцию ПЦР успешной.

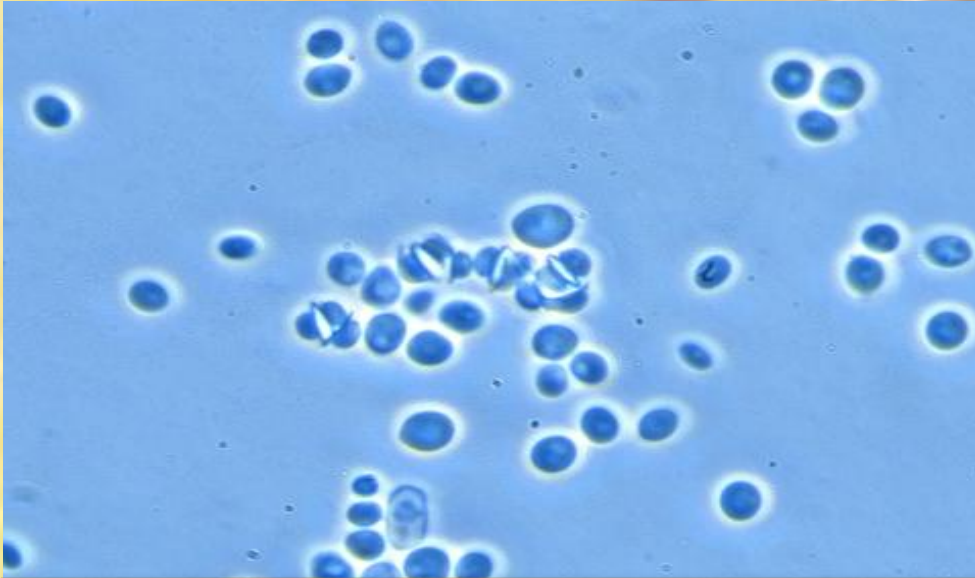
Результаты:

1. Коста-Рика – образцы 3, 4, 6, 7 - Wickerhamomyces anomalus (Candida pelliculosa);
2. Коста-Рика – образец 1 - *Meyerozyma caribbica* (*Candida fermentati*) - **патогенные свойства не обнаружены.**
3. Эквадор - образец 2 (красный) - Rhodosporidium diobovatum(Rhodotorula glutinis);
4. Эквадор – образец 2 (белый) - Meyerozyma guilliermondii(Candida guilliermondii);
5. Эквадор - образцы 10, 11 - Candida parapsilosis

Выводы:

- С помощью макро- и микроморфологических признаков, а также современных молекулярно-генетических методов мы идентифицировали выделенные штаммы дрожжей.
- Установили роль эндофитных дрожжей в сочных плодах.
- Выявили их патогенные свойства и определили возможное влияние данных видов на здоровье человека.

Wickerhamomyces anomalus (Candida pelliculosa)



- **Фунгемия** — грибковая инфекция, попадающая в кровоток.
- **Кандидоз** — одна из разновидностей грибковой инфекции, вызывается микроскопическими дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

Патогенные свойства

Гриб *Candida pelliculosa* – редкий возбудитель кандидоза, известны случаи диссеминированных инфекций, в том числе фунгемии, катетер-ассоциированной инфекции, выделяется от больных СПИД.

О патогенных свойствах телеоморфы данных нет.



Rhodosporidium diobovatum (Rhodotorula glutinis)



- **Фунгемия** — грибковая инфекция, попадающая в кровоток.
- **Сепсис** — ситуация, при которой один и тот же микроорганизм выделен и с катетера, и из крови.
- **Микоз** — заболевание человека и животных, поражающее кожу и внутренние органы, а также заражающее ядовитыми токсинами продукты и корма.

Патогенные свойства

Rhodotorula glutinis – редкий возбудитель микозов человека со слабыми патогенными свойствами. Описаны случаи фунгемии, сепсиса после использования загрязненного катетера. Обычный сапрофит различных субстратов.

О патогенных свойствах телеоморфы данных нет



Meyerozyma guilliermondii (Candida guilliermondii)



- **Кандидоз** — одна из разновидностей грибковой инфекции, вызывается микроскопическими дрожжеподобными грибами рода *Candida*.
- **Отомикоз** - микоз, характеризующийся поражением уха.

Патогенные свойства

Гриб *Candida guilliermondii* – возбудитель глубоких и диссеминированных форм кандидоза, включая кандидемию, катетер-ассоциированных инфекций, инфекций кожи и ногтей, возбудитель отомикозов. Гриб выделяется из почвы, воды, из гниющих органических остатков, растений; способен контаминировать продукты брожения, фруктовые соки, молочные продукты, рыбу. Выделяется в последние годы с возрастающей частотой.

Candida parapsilosis



- **Кандидоз** — одна из разновидностей грибковой инфекции, вызывается микроскопическими дрожжеподобными грибами рода *Candida*.
- **Онихомикоз** — грибковое поражение ногтя.

Патогенные свойства

Гриб *Candida parapsilosis* - возбудитель инвазивных и диссеминированных форм кандидоза – все чаще выделяется при сепсисе, ассоциирован с ожогами и эндокардитом, возбудитель онихомикоза. Лидирует среди других болезнетворных грибов *Candida* как возбудитель инфекций с экзогенным источником. Выделяется с кожи, полости рта и из кишечника человека, из экскрементов птиц и человека, морской воды, способен контаминировать засоленное мясо, овощи, рассолы и приправы.

