

VII Республиканский тур
Всероссийского конкурса достижений талантливой молодежи
«Национальное Достояние России»

Секция: **Биология**

Тема: **Трофические предпочтения и конкурентные способности плесневых грибов**

Автор: Шарыгин Алдар

Научный руководитель: Кушнарера Анжелика Павловна, учитель биологии

Место выполнения работы:

МБОУ «Музыкально-гуманитарный лицей им.Д. Аюшеева», республика
Бурятия, г. Улан-Удэ

Содержание

Введение	3
<i>Теоретическая часть</i>	4
Особенности строения и жизнедеятельности грибов родов Пеницилл и Аспергилл	
Использование пеницилла в медицине и сыроварении	5
<i>Практическая часть</i>	7
Заключение	11
Литература	13
<i>Приложение 1-5.</i> Фотодневник: Развитие плесневых грибов на различных питательных средах	14

Введение

Грибы – обширная группа организмов, насчитывающая около 100 тысяч видов. Они занимают особое положение в системе органического мира, представляя отдельное царство. Уникальность грибов заключается в том, что эти живые организмы объединяют в себе признаки растений, животных и собственно признаки грибов.

Достаточно интересную группу в плане изучения представляют плесневые грибы. Они встречаются не только в природе, но и в домах человека. В бытовых условиях, на забытых продуктах питания мы можем встретить белую и зеленую плесень.

Белая пушистая плесень – это гриб мукор. Внешне он похож на пушистую вату. Мукор мы чаще всего наблюдаем на хлебе, овощах, кашах. Зеленая плесень, как правило, образует плотную подушку и встречается преимущественно на сыре, лимоне, остатках зеленого чая, т.е. на субстратах, которые избегает мукор. Зеленая плесень может быть образована представителями двух родов пеницилл, или аспергилл. Значит, *представители разных родов плесневых грибов избирательны к питательному субстрату.*

Белая и зеленая плесень никогда не селятся вместе. Возможно, что *представители трех разных родов – мукор, пеницилл, аспергилл – способны подавлять друг друга.*

Различно и значение плесневых грибов в природе и жизни человека. Мукор и аспергилл – дикие грибы, способные вызывать порчу продуктов, отрицательно влиять на здоровье человека, вызывая у него аллергические реакции, снижение иммунитета. В отличие от них, штаммы рода пеницилл используют для получения антибиотиков, незаменимы они и в сыроварении. Возникает вопрос: *могут ли культурные формы плесневых грибов конкурировать с дикими?*

Цель работы – выявить трофические предпочтения и конкурентные способности плесневых грибов

Задачи:

1. изучение биологических особенностей грибов родов пеницилл и аспергилл;
2. получение первичного мицелия дикого аспергилла в домашних условиях;
3. выбор и подготовка различных питательных сред для развития дикого аспергилла и культурного штамма пеницилла;
4. наблюдение за развитием биомассы пеницилла и аспергилла на различных субстратах;
5. изучение конкурентных способностей плесневых грибов
6. формулирование выводов

Методы исследования: теоретическое исследование; эксперимент; наблюдение; цифровая фотосъемка

Объект исследования: дикие и культурные формы плесневых грибов

Предмет исследования: трофические предпочтения и конкурентные способности плесневых грибов родов мукор, пеницилл, аспергилл.

Теоретическая часть

Особенности строения и жизнедеятельности грибов родов Пеницилл и Аспергилл

На продуктах питания очень часто встречается зеленая плесень. Как правило, ее образуют грибы из рода Пеницилл и рода Аспергилл. Идентификация принадлежности к роду осуществляется по морфологическим признакам.

Вегетативное тело грибов **рода Пеницилл** представлено бесцветным многоклеточным ветвящимся мицелием. Конидиеносец пеницилла многоклеточный, ветвящийся; конечные ответвления – кисточки. Конидиальный аппарат в верхней части представляет собой кисточку различной степени сложности (отсюда его русское название – «кистевик»).

Конидиеносец **аспергилла** одноклеточный, на верхушке раздут в виде головки – от нее веером отходят короткие фиалиды, потому его называют еще «леечный гриб».

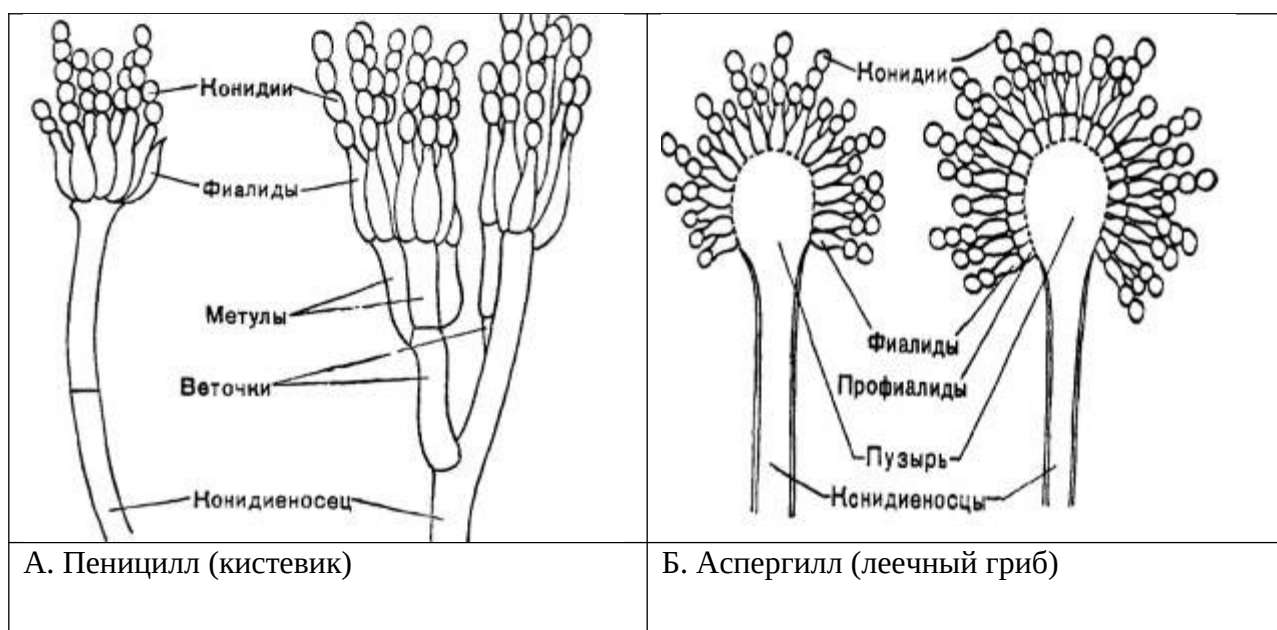


Рис.1 Морфологические особенности пеницилла и аспергилла

Обычно мицелий грибов целиком погружен в субстрат. Эти грибы – гетеротрофы и нуждаются в готовых органических веществах. Выделяя в субстрат гидролитические ферменты, расщепляющие полимеры субстрата (белки, углеводы, нуклеиновые кислоты), гриб извлекает питательные вещества всей поверхностью тела.

Пенициллы и аспергиллы наиболее часто обнаруживаются в виде бархатистых плесневых налетов на субстратах растительного происхождения.

Использование пеницилла в медицине и сыроварении

Лечебные свойства пеницилла

Внимание к пенициллам возросло, когда была открыта их способность образовывать антибиотик пенициллин. Это было выдающимся открытием в биологии, медицине, ветеринарии, фитопатологии.

Лечебные свойства плесеней были известны еще в Древнем Китае, где жители прикладывали плесень кранам. Впервые в медицинской практике о плесенях рода Пеницилл заговорили в 1871–1872 гг., когда русские ученые-врачи В.А. Манассеин и А.Г. Полотебнов использовали их для лечения кожных заболеваний.

В 1928г. в Великобритании профессор А.Флеминг обратил внимание на одну из чашек, где на питательной среде росли колонии стафилококка. Одна из колоний вдруг перестала расти, когда рядом с ней начался рост попавшей из воздуха сине-зеленой плесени. Флеминг выделил чистую культуру гриба, назвав его *Penicillium notatum*, и продемонстрировал его **способность продуцировать бактерицидное вещество, которое он назвал пенициллином**.

В 1941 г. Флори, Чейн и другие ученые описали методы получения и очистки пенициллина и итоги первых клинических испытаний этого препарата. Активные штаммы были выделены в СССР в 1942 г. профессором З.В. Ермоловой. Работа по получению активных штаммов ведется непрерывно. Лечебные свойства пенициллина очень разнообразны. Пенициллин не токсичен, эффективно действует на гноеродные бактерии, часто спасает жизнь, когда другие лечебные препараты бессильны.

Использование пеницилла в сыроделии

Сыроварение – один из древнейших процессов, основанных на ферментации. Считается, что сыроделие зародилось в Юго-Западной Азии около 8 тыс. лет назад. В мире сегодня насчитывается более 500 видов и 2000 сортов сыра.

Разнообразие сыров определяется массой факторов. Сыр производят из коровьего, козьего, овечьего молока и их сочетаний. Сыры различают по жирности. На вкусовые качества сыра влияет корм животных и климат пастбищ. Поэтому сыры, изготовленные по одной технологии, но в разных регионах, различаются по вкусу.

Сыры делят на мягкие и твердые по количеству содержащейся в них воды. Мягкие содержат 50–60% воды (Смоленский, Медынский, Бри, Камамбер, Рокфор, Адыгейский и др.), твердые 13–34% (Костромской, Российский, Голландский, Пошехонский, Гауда, Эдам, Чеддер).

Другая классификация сыров подразделяет их на свежие и созревающие. Свежие получают из молока, свернувшегося под действием кислоты или нагревания; их употребляют в пищу сразу после приготовления и не хранят (Домашний сыр, Сливочный,

Моцарелла). Для получения созревающих сыров молоко заквашивается молочнокислыми бактериями и сворачивается под действием фермента реннина. Свернувшаяся масса прессуется для удаления молочной сыворотки, солится и выдерживается в контролируемых условиях. Продукт приобретает характерные для сорта сыра вкус, аромат, консистенцию. Подавляющее большинство сыров – созревающие.

Независимо от сорта сыра весь процесс сыроварения можно разделить на девять этапов: 1) подготовка молока; 2) свертывание молока, образование сгустка; 3) измельчение сгустка; 4) нагревание сырной массы; 5) отделение лишней сыворотки; 6) посол сырной массы; 7) введение специальных микроорганизмов; 8) прессование; 9) созревание сыра. От условий проведения каждой стадии зависят свойства конечного продукта.

Плесневые сыры

Плесневые сыры относятся к мягким. Они обладают необычными ценными оттенками вкуса, аромата, цвета из-за присутствия в них культурных штаммов рода Пеницилл. Большинство сыров с голубой плесенью производится из коровьего молока. Исключение составляет знаменитый сыр Рокфор, для изготовления которого используется овечье молоко. Молоко для этого вида сыров должно сворачиваться при температуре 30 С. После этого сырную массу аккуратно перекладывают в выложенную материей форму и закрывают деревянной пластиной. Затем время от времени сырныи круги поворачивают, чтобы обеспечить лучшее стекание сыворотки. Через 1–2 недели сыр вынимают из формы и периодически переворачивают, чтобы сыворотка продолжала стекать. Получается невареная и непрессованная сырная масса, которую затем натирают солью и *прокалывают длинными иглами с грибочками плесени для развития зелено-голубых прожилок внутри сыра.* Представители сыров с голубой плесенью: Рокфор, Горгонзола, Данаблу, Фурм д'Амбер, Блэ д'Овернь, Блэ д'Косс, Блэ д'Бресс, Дор Блю.

Плесневые белые сыры имеют тонкую белую корочку, покрытую плесенью. Эти сыры жирные и мягкие. Сырная масса – текучая и имеет бледно-желтый цвет. После сгущения молока с помощью сычужного фермента, молочнокислых бактерий или растительного сгустителя сырную массу либо прессуют, либо обжигают. Затем сыр солят и обрызгивают раствором специального грибка. Этот грибок всходит затем плесневым газоном на кругах сыра, образуя в процессе созревания корочку. Для созревания мягкие сыры помещаются в погреб на 2–6 недель. По форме они бывают круглыми, овальными или квадратными. Основные представители мягких сыров с благородной белой плесенью – Бри и Камамбер.

Практическая часть

В предыдущем исследовании, представленном на конференции прошлого года, мы выявили наиболее значимые абиотические факторы, влияющие на рост и развитие мукора. В ходе экспериментального исследования нами было установлено, что мукор предпочитает влажные, рыхлые, углеводные питательные среды. Фруктовые и молочные кислоты ограничивают, а наличие фитонцидов полностью подавляет рост гриба. Для исследования этого года были актуальны вопросы:

- Имеет зеленая плесень ли те же трофические предпочтения, что и белая плесень?
- Различны ли трофические предпочтения культурных штаммов и диких форм зеленых плесневых грибов?

На 1 этапе исследования нами были отсеяны гриб рода *Penicillium* из сыра Монт Блю и *Aspergillus* из смешанной культуры, которая выросла сама по себе на хлебе.



А. Опытный образец хлеба с различными видами аспергилла



Б. Опытный образец сыра Монт Блю, обогащенный культурным штаммом пеницилла

На 2-ом этапе для исследования трофических предпочтений грибов были выбраны 5 основных типа питательных сред:

1. Среды богатые углеводами:

- хлеб увлажненный
- картофельное пюре
- суп

2. Среды богатые белками:

- йогурт
- мягкий сыр «Адыгейский»

твердый сыр «Костромской»

3. Углеводно-белковая среда:

- сырник

4. Углеводные среды, содержащие фруктовые кислоты:

- яблоко
- апельсин
- лимон

5. Среда, богатая фитонцидами:

- Чеснок



Каждая из выбранных сред была помещена в чашку Петри 14.11.2013 г. После чего с помощью пинцета мы подселили на разные половины каждой чаши одновременно кусочки мицелия аспергилла дикого и культурную форму пеницилла из сыра Монт Блю. Чашку накрыли крышкой и оставили в классной комнате при температуре 22°C. Половина чаши Петри, на которой размещен штамм пеницилла помечена розовым маркером.

Наблюдение велось в течение 13 календарных дней с фиксацией происходящих изменений с помощью цифровой фотосъемки (*Приложение 1-5*).

На всех типах сред, активное заселение субстрата произошло на вторые сутки. Исключение составили: чесночная среда, которая на протяжении 13 дней не заселилась ни одним из видов зеленой плесени (*Приложение 5*). Наибольшая скорость заселения произошла на фруктовом йогурте – уже на 1 сутки грибы захватили практически большую часть своей территории.

Наблюдение1: Заселение углеводовных сред (Приложение 1)

- Первоначально мицелий дикого аспергилла и культурного пеницилла проявили себя в виде небольших диаметром до 0,5 см белых пятен, которые в дальнейшем приобрели характерную окраску. Мицелий аспергилла окрасился в ярко-зеленый цвет. Мицелий пеницилла в темно-зеленый болотный цвет.
- С течением времени мицелии обоих грибов приобрели складчатость. Полагаем, что это необходимо для увеличения площади всасывающей поверхности и активного питания.
- На хлебе развивался только аспергилл. Его мицелий рыхлый, порошкообразный. Наверняка это связано с пористостью хлеба. Пеницилл на хлебе не развивался. Очевидно, это связано с недостатком влаги и белка, необходимых для развития культурного штамма, выведенного для сыра.
- На картофельном пюре и супе наблюдается миграция мицелия грибов и взаимозахват территорий обоими грибами. На картофельном пюре равноправны оба гриба в соотношении 50 : 50. На супе победил аспергилл, его мицелий освоил примерно 80% от общей территории. Возможно это связано с наличием животного белка в бульоне.

Наблюдение2: Заселение белковых сред (Приложение 2)

По нашему предположению, белковые среды, представленные твердым костромским и мягким Адыгейским сыром – идеальная среда для развития сырного штамма пеницилла.

- На мягком Адыгейском сыре мицелий аспергилла не развивался из-за недостатка углеводов. Мицелий пеницилла развивался, но очень слабо. Возможно, что это произошло по двум причинам. Культурный пеницилл выведен для другого сорта мягкого сыра. На четвертые сутки на указанном субстрате произошел интенсивный рост мукора, занесенного случайным путем. Возможно, что мукор подавил рост зеленых плесеней.
- На твердом Костромском сыре и йогурте активно развивался дикий аспергилл. Постепенно он захватил 100% территории и подавил рост требовательного к питательной среде аспергилла.

Наблюдение 3: Заселение белково-углеводной среды (Приложение 3)

- На данном типе питательной среды скорость роста дикого аспергилла превышала скорость роста культурного пеницилла. Уже на вторые сутки аспергилл атаковал

территорию пеницилла. Однако полностью подавить рост пеницилла ему не удалось. Наличие белка привело к тому, что мицелий культурного пеницилла образовался, хотя и в виде обособленного темно-зеленого складчатого пятна. На пятые сутки оба вида зеленых плесеней подверглись атаке со стороны случайно занесенного мукора, который на 13 сутки рос поверх колоний пеницилла и аспергилла. Это еще раз доказывает повышенную жизнеспособность белей плесени по сравнению с зелеными.

Наблюдение 4: Заселение углеводов сред, богатых фруктовыми кислотами

(Приложение 4)

По результатам наблюдений, наличие фруктовых кислот не препятствует росту зеленых плесеней. Этот тип среды активно заселился и культурной и дикой формой. Мицелий пеницилла образовал глубокие сладкие темно-зеленого цвета, ярко-зеленый мицелий аспергилла имеет выраженную бугорчатую форму.

На углеводных средах, богатых фруктовыми кислотами мы наблюдали интересное явление - заселение субстратов еще одним неизвестным видом плесени – черной плесень, которая проявила себя, после развития мицелия зеленых плесеней и могла сосуществовать с ними.

На яблочной среде на 4-е сутки появился мукор, который захватил всю территорию и распространил свой мицелий поверх мицелия зеленых плесеней.

Наблюдение 5: Борьба колоний белой и зеленых плесеней на углеводном субстрате

(Приложение 6)

В предыдущих опытах мы наблюдали, что появившийся случайным образом на субстратах мукор, способен подавить рост дикой и культурной формы зеленых плесеней. В нашей экспериментальной работе мы продемонстрировали борьбу вышеперечисленных грибов, одновременно поселив их мицелии на булку белого свежего хлеба. По сравнению с зелеными плесенями мукор продемонстрировал высокую скорость роста и накопления биомассы. За 14 дней он захватил практически всю территорию и уничтожил питательный субстрат. Рост культурного пеницилла был полностью подавлен. Аспергилл проявил себя только на 5-е сутки в виде отдельных колоний ярко-зеленого цвета. Однако этот гриб расселился достаточно широко - по всей площади субстрата. Но по накопленной биомассе аспергилл отставал от мукора. Следовательно, мукор и аспергилл могут существовать совместно. Дикие формы плесневых грибов наиболее приспособлены по сравнению с выведенными человеком штаммами.

Заключение

Грибы – уникальное царство природы, объединяющее живые организмы, унаследовавшие признаки животных, растений и имеющие собственные черты. Особую группу среди грибов представляют плесневые грибы родов мукор, пеницилл и аспергилл. Представители этих родов широко распространены в природе и имеют существенное практическое значение, они активно используются в промышленности и лабораторных исследованиях. Эти грибы часто обнаруживаются в повседневной жизни, в бытовых условиях в виде плесневых налетов белого, зеленого, голубого цветов на продуктах питания растительного происхождения – влажном хлебе, варенье, плодах.

В исследовательской работе на протяжении двух последних лет были изучены *трофические предпочтения* дикого аспергилла и мукора, а также культурного штамма пеницилла.

✓ В ходе исследования установлено, что трофические предпочтения диких аспергилла и мукора, а также культурного пеницилла во многом совпадают. Эти грибы-сапротрофы предпочитают богатые углеводами, рыхлые, хорошо увлажненные питательные субстраты. На таких средах грибы диких и культурной формы показали быстрый рост, высокую скорость накопления биомассы, миграцию внутрь соседних колоний.

✓ Наибольшее сходство в трофических предпочтениях выявлено между аспергиллом и мукором. Эти грибы хорошо развивались на углеводных, белково-углеводных и углеводных средах, богатых фруктовыми кислотами. Фитонцидные среды оказывали на них губительное воздействие.

✓ В ходе эксперимента была также установлена последовательность заселения питательного субстрата плесневыми грибами. Мицелий мукора в присутствии зеленых плесеней прорастал во вторую очередь, но скорость его развития была настолько высока, что в дальнейшем мукор получал 100% территориальное преимущество. Нами установлено, что мукор может развиваться поверх мицелия аспергилла и пеницилла.

✓ Культурный пеницилл – штамм выведенный для сыра «Монт Блю» предпочитал влажные углеводные и, избирательно, белковые среды. В ходе наблюдений, мы отметили, что завоевание территорий культурным пенициллом шло на меньшей скорости, по сравнению с дикими грибами. Мицелий культурной формы увеличивался постепенно радиально, складчато. Рост гриба прослеживался в увеличении площади вокруг первоначального мицелия. В то время как дикий аспергилл проявил другую

«агрессорскую» стратегию в захвате территорий. Гриб разбрасывал максимальное количество очагов мицелия по всему субстрату, а не обрастал вокруг одной точки.



















✓ Культурный пеницилл проявил себя как гриб, наиболее требовательный к белковому питательному субстрату. Несмотря на то, что этот штамм создан человеком, приспособленность гриба к условиям дикой среды, его конкурентные способности расцениваются нами как достаточно высокие. От диких форм этот гриб отличается только поступательно-локальной стратегией расселения. Возможно, что в неконтролируемых условиях дикой природы это повлияло бы снижению конкурентоспособности.

В процессе выполнения исследовательской работы, мы обратили внимание, что на одном питательном субстрате могут одновременно селиться несколько разновидностей плесени, которые отличаются друг от друга цветом. В наших опытах сосуществовали друг с другом ярко-зеленые, болотные, желтые и даже черные плесени. Полагаем, что все они являются разными видами рода *Аспергилл* или *Пеницилл*. Поэтому, одним из перспективных направлений темы исследования может быть изучение возможности сосуществования грибов в пределах одного рода.



















Литература

1. Большая школьная энциклопедия. М.: Махаон, 2001.
2. Блукет Н.А. Ботаника с основами физиологии растений. М.: Колос, 2004.
3. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. М.: Мир, 2004.
4. Дьяков Ю.Т. Биология. Курс альгологии и микологии. М.: МГУ, 2007.
5. Иллюстрированный энциклопедический словарь / Под ред. А.П. Горкина. – М.: Просвещение, 2005.
6. Кудряшов Л.В. Ботаника с основами экологии. М: Просвещение, 1988.
7. Марфенина О., Иванова А. Многоликая плесень // Наука и жизнь. – 2009. - №10.
8. Смирнов А. Мир растений. М.: Молодая гвардия, 1982.
9. Хардинг П. Грибы. – М.: АСТ, 2002.
10. Я познаю мир. Детская энциклопедия. – М.: АСТ, 1996.

Рост пеницилла и аспергилла на углеводных средах

	14.11.2013	16.11.2013	18.11.2013	19.11.2013	21.11.2013	26.11.2013
Белый хлеб						
Картофельное пюре						
Суп						





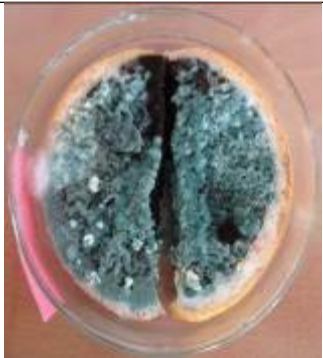




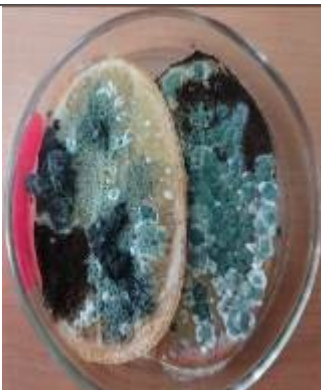








Рост пеницилла и аспергилла на белковых средах

	14.11.2013	16.11.2013	18.11.2013	19.11.2013	21.11.2013	26.11.2013
Сыр адыгейский						
Сыр Костромской						
Йогурт ягодный						

Рост пеницилла и аспергилла на белково-углеводной среде

	14.11.2013	16.11.2013	18.11.2013	19.11.2013	21.11.2013	26.11.2013
Сырник						

Рост пеницилла и аспергилла на углеводных средах богатых фруктовыми кислотами




	14.11.2013	16.11.2013	18.11.2013	19.11.2013	21.11.2013	26.11.2013
Апельсин						
Лимон						
Яблоко						

Рост пеницилла и аспергилла на средах, содержащих фитонциды

	14.11.2013	16.11.2013	18.11.2013	19.11.2013	21.11.2013	26.11.2013
Чеснок						

Борьба колоний плесневых грибов на углеводном субстрате

13.11.2013	
14.11.2013	
15.11.2013	

18.11.2013	 <p>A photograph of a slice of bread heavily covered in grey and white fuzzy mould. There are some yellowish-brown spots on the surface, and the bread appears to be in a clear plastic container.</p>
21.11.2013	 <p>A photograph of the same slice of bread, showing more extensive growth of grey and white mould. The texture of the bread is more obscured by the thick layer of fungus.</p>
26.11.2013	 <p>A photograph of the bread slice, now almost completely covered in a dense, dark grey and black mould. The original shape of the bread is barely visible through the thick growth.</p>