

Научно-исследовательская работа

по биологии

направление: «Микология, микробиология, низшие растения»

## **Колонии дрожжей**

***Выполнила:***

*Романченко Юлия Алексеевна*

учащаяся 8А класса

МБОУ СОШ №14 мкр. «Павшинская Пойма» ГО Красногорск

***Руководитель:***

*Хлебанов Владислав Николаевич*

Учитель математики и физики

МБОУ СОШ №14 «Павшинская Пойма» ГО Красногорск

г. Красногорск 2019/2020 учебный год

## Аннотация

Пекарские дрожжи – одноклеточные грибы, но иногда при почковании они не отделяются друг от друга. Что это - атавизм или специально оставленная естественным отбором способность? Попытаемся ответить на этот вопрос.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение.....	2
2. Обзор литературы.....	3
2.1. Описание объекта исследования.....	3
2.2. Колонии дрожжей.....	3
2.3. Планирование эксперимента.....	3
3. Методы исследования.....	4
3.1. Выведение популяции дрожжей для эксперимента .....	4
3.2. Эксперимент по сравнению эффективности усвоения питательных веществ выведенной и контрольной групп дрожжей .....	5
3.3. Исследование выведенной и контрольной групп дрожжей на выживаемость в условиях повышенного содержания спирта в растворе .....	6
4. Результаты и обсуждения.....	6
4.1. Таблица №1 Ключ к расположению пробирок с культурами дрожжей.....	6
4.2. Таблица №2 Журнал переработки сахара культурами дрожжей .....	6
4.3. График динамики изменения выделения газов дрожжевыми культурами.....	7
4.4. Таблица №3 Измерение содержания спирта в растворе дрожжевых культур.....	7
5. Выводы.....	8
6. Список литературы.....	10

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) являются грибами, утратившими свою многоклеточность и перешедшими к одноклеточному существованию. Это связывают с переходом к обитанию в жидких средах, богатых органическими соединениями [1].

Известно, что иногда при почковании пекарские дрожжи (далее - дрожжи) не отделяются друг от друга и продолжают существовать неразделенными.

Почему же дрожжи вообще перешли к одноклеточному существованию? Если эта особенность давала какие-то преимущества при выживании, то почему до сих пор дрожжи иногда не разделяются при почковании? Почему это эпизодически проявляющееся свойство не было окончательно отбраковано в ходе естественного отбора?[2] Может, он не успел это сделать, и мы имеем дело с атавизмом? Или, возможно, иногда колониальное существование может давать колониальным дрожжам преимущество перед собратьями-одиночками?

**Рабочая гипотеза** состоит в том, что эпизодически проявляющаяся способность клеток дрожжей не разделяться при почковании в определенных условиях позволяет повысить их выживаемость по сравнению с отдельными клетками дрожжей.

**Предметом исследования** является выживание различных популяций пекарских дрожжей в различных условиях.

**Объектом исследования** являются пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*).

Исследование эволюционных механизмов на примере различных живых существ позволяет нам лучше понять окружающий мир и грамотнее использовать его блага. В настоящее время одним из самых перспективных направлений в биологии является генная инженерия, позволяющая создавать бактерии, растения и животных, которые по отдельным параметрам превосходят своих «натуральных» предков. Примерно этим же занимается селекция, но её методы крайне долгие и далеко не факт, что мы получим то, чего хотим. Генетически модифицированные организмы, полученные с помощью генной инженерии, намного превосходят по качеству, безопасности и скорости создания свои аналоги, появившиеся в результате селекции. Но для успешной генной модификации важно не только знать, что это за ген, и за что он отвечает. Необходимо также понимать, какими путями природа решает те или иные проблемы, так как это экономит людские силы и средства (не придется «изобретать велосипед»). Этим обусловлена **актуальность** данного исследования.

**Целью** исследования является определение условий, при которых эпизодически проявляющаяся способность клеток дрожжей не разделяться

при почковании позволяет повысить их выживаемость по сравнению с отдельными клетками дрожжей.

Для достижения поставленной цели было запланировано выполнение следующих **задач**:

- 1) Вывести популяцию дрожжей, клетки которой не разделяются при почковании (экспериментальная группа);
- 2) Сравнить способность усваивать питательные вещества и размножаться у экспериментальной группы дрожжей с контрольной «одноклеточной» группой;
- 3) Найти условия, при которых выведенная популяция дрожжей получит преимущество перед дрожжами контрольной группы.
- 4) Проанализировать полученные в ходе экспериментов результаты и сделать выводы.

## **2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

Ввиду того, что использованная литература была взята из интернет-источников, где нумерация страниц не соответствует нумерации в бумажных версиях книг, в тексте отсутствуют ссылки на страницу источника.

### **2.1. Описание объекта исследования.**

Пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) – это одноклеточные грибы из класса сахаромицетов. Широко используется для производства хлебопекарных продуктов и спирта. Основным источником питания – сахар (глюкоза, сахароза). Диаметр клеток 5 – 10 мкм. Они размножаются вегетативно, путем почкования. Одна клетка способна образовать 20-30 почек.

Клетки этих дрожжей могут существовать в одном из двух стабильных состояний: гаплоидном и диплоидном, которые считаются различными поколениями. В течение каждой фазы пекарские дрожжи размножаются почкованием. По продолжительности жизни у пекарских дрожжей преобладает диплоидная фаза. Она переходит в гаплоидную фазу путём образования гаплоидных аскоспор в результате мейоза.

Гаплоидная фаза переходит в диплоидную путём слияния образовавшихся из аскоспор гаплоидных клеток [1]

### **2.2. Колонии дрожжей**

Известно, что на твердых субстратах пекарские дрожжи образуют причудливые по форме колонии. Взаимодействие между клетками в колонии осуществляется путем их «склеивания» друг с другом. Также дрожжи образуют колонии при недостатке питательных веществ (например, азота). [3]

В нашем случае для проведения корректного эксперимента требуется создать популяцию дрожжей, которые образуют колонию не путем «слипания» одиночных клеток, а с помощью незавершенного процесса почкования.

К сожалению, в литературе, находящейся в открытом доступе, не удалось найти какие-либо ответы на вопросы, поставленные во введении.

Данная исследовательская работа является попыткой исправить это положение.

Мы осознаем, что отсутствие в тексте работы ссылок на аналогичные предшествующие исследования является минусом с точки зрения требований конкурса. С другой стороны, полагаем, что именно из-за того, что предшествующих работ по этой теме не было, это может являться плюсом, т.к. говорит о новизне исследования.

### **2.3. Планирование эксперимента**

Для успешного проведения эксперимента необходимо выполнение следующих условий:

- Эксперимент должен проводиться над достаточно большим количеством культур дрожжей из экспериментальной и контрольной групп (большая выборка), чтобы какие-то случайные факторы не смогли сделать его некорректным. [4]
- Эксперимент должен быть «слепым», чтобы экспериментатор не смог произвольно исказить полученные результаты. К сожалению, люди склонны видеть то, что они хотят или ожидают увидеть. Чтобы такого не произошло, надо устроить так, чтобы экспериментатор не знал, с какой именно культурой он работает в данный момент. [4]
- Обработка результатов эксперимента должна проводиться с помощью методов статистики и теории вероятности для исключения ложноположительных результатов. [4]

Поскольку теория вероятности не входит в школьную программу 8 класса, выбор числа исследуемых культур дрожжей в эксперименте и подведение итогов были сделаны с учетом рекомендаций научного руководителя.

## **3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **3.1. Выведение популяции дрожжей для эксперимента.**

Для выращивания популяции дрожжей, используемых в эксперименте, нам потребовалось: банка объемом 800 мл, пачка пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), перетертый сырой картофель, сахарный песок.

Сам процесс выведения выглядел следующим образом. В банку была налита теплая вода, в которой был разведен тертый сырой картофель, дрожжи и сахарный песок. Оставшиеся дрожжи из пачки были положены в холодильник. Их позже использовали, как контрольную группу.

Каждые 2-3 дня банка взбалтывалась и примерно через полчаса после взбалтывания сливалась на 5/6 своего объема, потом доливалась водой, опять добавлялись тертый картофель и сахарный песок.

Идея была следующей: те дрожжи, которые не разделяются после почкования, будут оседать на дно банки быстрее. Таким образом, если постоянно удалять верхнюю часть раствора, где в основном содержатся одиночные клетки дрожжей, и оставлять нижнюю фракцию, то можно провести отбор на «многоклеточность».

Выведение устойчивой популяции дрожжей, не разделяющихся после почкования, занял примерно 3 месяца (с конца июня до конца сентября). В результате были получены дрожжи, формирующие колонии, видимые невооруженным глазом, диаметром около миллиметра. Образованные структуры напоминали «волосатые звездочки».

После того, как отбор на «многоклеточность» был прекращен, мы перешли к простому разведению этой популяции дрожжей (чтобы их хватило для проведения эксперимента). Они давали такое же «многоклеточное» потомство (растущая колония дрожжей «разваливалась» на две половинки), и таким образом мы получили культуру дрожжей, ведущих чисто колониальный образ жизни.

### **3.2. Эксперимент по сравнению эффективности усвоения питательных веществ выведенной и контрольной групп дрожжей.**

Для эксперимента нам потребовалось: 20 пробирок, 2 штатива для пробирок, популяция ранее выведенных колониальных дрожжей, популяция контрольной группы дрожжей, вода, сахарный песок, 2 пипетки, 20 воздушных шариков.

После того, как колонии дрожжей достаточно размножились, их поместили в 10 пробирок, добавили воды и сахарного песка. В другие 10 пробирок были помещены дрожжи из контрольной группы (все это время пролежавшие в холодильнике), разведенные в воде с добавлением сахарного песка.

Чтобы сделать эксперимент слепым, мы попросили научного руководителя произвольно разместить пробирки с культурами экспериментальной и контрольной групп дрожжей в штативах и составить ключ, где было бы прописано, на каком месте в штативе какая культура дрожжей находится. После этого научный руководитель пронумеровал каждую пробирку в штативах по порядку от 1 до 20, обернув вокруг каждой кусок тетрадного листа с номером, чтобы содержимое пробирки не было видно. Ключ к расположению пробирок указан в таблице №1.

Затем на пробирки были надеты воздушные шарики. По степени их раздутости планировалось оценивать интенсивность потребления дрожжами сахара. Чем больше раздувается шарик, тем интенсивней дрожжи перерабатывают сахар. Данное достаточно грубое решение, позволяющее делать лишь качественную оценку, было применено ввиду отсутствия иных возможностей, имеющихся у нас в наличии, оценить развитие дрожжей в ходе эксперимента.

С периодичностью в 3-4 дня оценивалась степень раздутости шарика для каждой пробирки, и данные заносились в журнал (таблица №2).

К сожалению, нам был доступен только качественный анализ, поскольку у нас не было прибора для оценки количества газа в шарике. Для оценки мы использовали трехранговую качественную шкалу («много», «средне» и «мало»).

После записи в журнал в пробирки досыпался сахарный песок, из шариков выпускался газ, и они заново надевались на пробирки.

### **3.3. Исследование выведенной и контрольной групп дрожжей на выживаемость в условиях повышенного содержания спирта в растворе.**

Для проведения исследования потребовалось: пробирки с культурами экспериментальной и контрольной групп дрожжей, оставшиеся после предыдущего эксперимента; кусочек пенопласта; кусок металлической скрепки.

Прекращение выделения газов в пробирках свидетельствовало о том, что концентрация выработанного дрожжами спирта достигла такого уровня, который привел к прекращению метаболизма или их гибели. Таким образом, у нас появилась возможность проверить, какая популяция дрожжей (экспериментальная или контрольная) лучше переносит неблагоприятные условия в виде повышенной концентрации спирта.

Для этих целей потребовалось изготовить спиртометр, отсутствующий среди оборудования школьных лабораторий. Из пенопласта был вырезан кусочек цилиндрической формы диаметром втрое меньшим, чем диаметр пробирки. Вдоль цилиндра шариковой ручкой по линейке были нанесены деления примерно через каждый миллиметр. В один из концов пенопластового цилиндра был вставлен кусочек металлической скрепки, играющей роль грузила, позволяющего цилиндру держаться в растворе вертикально.

Принцип действия такого устройства заключается в том, что спирт и вода имеют различную плотность. Чем больше концентрация спирта в растворе, тем меньше выталкивающая сила, и тем больше погружен в раствор пенопластовый цилиндр. К сожалению, мы не смогли откалибровать изготовленный нами прибор, и наши измерения носят качественный характер. Результаты измерений представлены в таблице №3.

## **4. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ**

### **4.1. Таблица №1 Ключ к расположению пробирок с культурами дрожжей**

<b>№ пробирки</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<b>культура</b>	к	о	о	к	о	о	к	к	о	о	о	к	к	о	к	к	о	о	к	к

**к** – экспериментальная культура колониальных дрожжей

**о** – контрольная группа одноклеточных дрожжей, ведущих одиночный образ жизни.

### **4.2. Таблица №2 Журнал переработки сахара культурами дрожжей**

<b>№ пробирки</b>	<b>31.09</b>	<b>02.10</b>	<b>05.10</b>	<b>09.10</b>	<b>12.10</b>	<b>15.10</b>	<b>19.10</b>
<b>1</b>	<b>Н а ч</b>	<b>мало</b>	<b>средне</b>	<b>средне</b>	<b>средне</b>	<b>средне</b>	<b>мало</b>

2		много	много	средне	средне	мало	мало
3		много	много	много	средне	мало	мало
4		средне	средне	средне	средне	средне	средне
5		много	много	средне	мало	мало	мало
6		много	много	много	мало	мало	мало
7		средне	средне	средне	средне	мало	мало
8		мало	мало	средне	средне	средне	средне
9		много	много	средне	средне	мало	мало
10		много	много	много	средне	мало	мало
11		много	много	средне	средне	средне	мало
12		средне	мало	средне	средне	средне	мало
13		мало	мало	мало	средне	мало	мало
14		много	много	средне	мало	мало	мало
15		мало	средне	средне	средне	мало	мало
16		мало	средне	средне	средне	мало	мало
17		много	много	средне	мало	мало	мало
18		много	много	средне	средне	средне	мало
19		средне	средне	средне	средне	мало	мало
20		средне	средне	средне	средне	средне	мало

21.10.2019 Выделение газов прекратилось во всех пробирках (отсутствовал характерный ток пузырьков). 22.10.2019 было проведено измерение содержания спирта в пробирках.

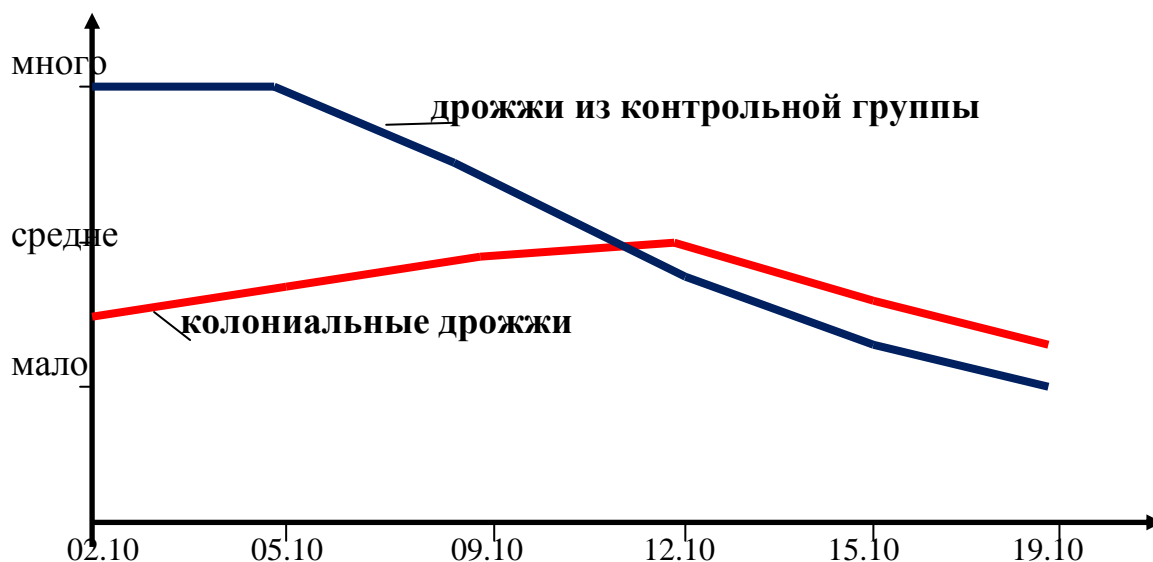
Следует отметить, что 09.10.2019 был обнаружен дефект воздушного шарика в пробирке № 13 (в шарике была дырка). Шарик был заменен и записи в журнале продолжены. Как видно из последующей интерпретации результатов, это событие не сильно отразилось на общей картине.

Динамика изменения выделения газов дрожжевыми культурами представлена на графике №1.

#### **4.3. График динамики изменения выделения газов дрожжевыми культурами**

Каждому состоянию шарика было присвоено число («мало» - 1, «средне» - 2, «много» - 3). После этого высчитано среднее арифметическое, и построен график зависимости интенсивности употребления сахара от времени для каждого типа дрожжевых культур, который представлены ниже.





Как видно из графика, дрожжи из контрольной группы, ведущие одиночный образ жизни, на начальном этапе более активно перерабатывали сахар, а, следовательно, быстрее росли и активнее размножались. Это можно объяснить тем, что у одиночных одноклеточных дрожжей практически вся их поверхность соприкасается с питательным субстратом, в отличие от колониальных форм, у многих клеток которых доступ к питательным веществам субстрата ограничен. По видимому, именно это обстоятельство обусловило переход дрожжей от многоклеточного к одноклеточному существованию, и одноклеточность была поддержана естественным отбором.

Тем не менее, дрожжи из экспериментальной группы, были активны дольше, нежели дрожжи из контрольной группы.

Подъем кривой, соответствующей экспериментальной популяции дрожжей, в начале измерений возможно связан с тем, что хоть в пробирки с помощью пипетки помещалось одинаковое количество раствора, содержащего дрожжи из экспериментальной и контрольных групп, но концентрация дрожжей в этих растворах могла отличаться. Эта картина роста в начале эксперимента, которую мы наблюдаем, могла получиться, если концентрация дрожжей из экспериментальной группы была ниже, чем в контрольной.

Также свою роль сыграла грубость оценки (качественная шкала). При более точных измерениях картина могла бы получиться более яркой.

Не смотря на это можно утверждать, что дрожжи экспериментальной группы оказались более «живучими» на основании следующего эксперимента, результат которого представлен ниже.

#### 4.4. Таблица №3 Измерение содержания спирта в растворе дрожжевых культур

№	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
пробирки										0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0
культур	к	о	о	к	о	о	к	к	о	о	о	к	к	о	к	к	о	о	к	к

<b>а</b>																				
<b>№ деления на спирто-метре</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>5</b>

Как видно из таблицы, есть четкая связь между культурой дрожжей и содержанием спирта в растворе. Колониальные дрожжи выдерживали большую концентрацию спирта, что дало им некоторое преимущество по сравнению с обычными одиночными дрожжами. Когда одноклеточные дрожжи прекращают питаться и размножаться, колониальные продолжают это делать в отсутствии конкурентов.

## 5. ВЫВОДЫ

Проведенные эксперименты показали: **Во-первых**, существенное преимущество, которое получают одноклеточные дрожжи по сравнению с многоклеточными. Оно заключается в том, что одноклеточные одиночные дрожжи эффективней питаются и размножаются. **Во-вторых**, эпизодически проявляющаяся способность клеток дрожжей не разъединяться после почкования дает им преимущество в ситуации, когда концентрация спирта в питательном субстрате становится критической. Следовательно, есть основания утверждать, что этот признак не атавизм, а одна из адаптаций, все же поддерживаемая естественным отбором и неисчезнувшая в процессе эволюции не просто так.

Необходимо заметить, что полученные в результате исследовательской работы результаты вполне согласуются с предсказаниями доминирующей в научном мире в настоящий момент синтетической теории эволюции (СТЭ).

Таким образом, задачи, поставленные в данной исследовательской работе, были выполнены, цель достигнута, и рабочая гипотеза получила подтверждение.

В перспективе планируется продолжить работу по изучению колониальных культур дрожжей. Во-первых, необходимо продумать, как более точно можно проводить измерения с помощью имеющихся в распоряжении школы средств. Во-вторых, в планах провести эксперимент в различных условиях, как то: сравнить экспериментальную и контрольную группы при повышенных и пониженных температурах, в условиях недостатка разных типов питательных веществ, в присутствии конкурентных организмов (например, кишечной палочки *Escherichia coli*).

Также рассматривается возможность исследовать эту культуру с точки зрения дифференциации клеток, характерной для многоклеточных организмов. Если удастся обнаружить ее зачатки, то это позволит лучше понять, как шла эволюция многоклеточных.

## 6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабьева И. П. Чернов И.Ю. «Биология дрожжей» / Москва: Просвещение, 2004 — 239 с.
2. Латюшин В. В., Шапкин В. А. «Биология. Животные. 7 класс» / Москва: Дрофа, 2013 – 306 с.
3. [www.elementy.ru/kartinka\\_dnya/248/Slozhnye\\_kolonii\\_pekarskikh\\_drozhzhey](http://www.elementy.ru/kartinka_dnya/248/Slozhnye_kolonii_pekarskikh_drozhzhey)
4. [www.scbmt.ru/mag/osn-bio/section\\_iv.pdf](http://www.scbmt.ru/mag/osn-bio/section_iv.pdf)