

«Διερεύνηση ποικιλότητας αλλοιωγόνων
μικροοργανισμών σε φιλέτα και ολόκληρη
τσιπούρα υπό ψύξη με ανάλυση γονιδίου
16S rRNA»

Φ. Παρλαπάνη, Κ. Κορμάς, Ι. Μποζιάρης

Τμ. Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου
Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Φυτόκο, 38446, Νέα Ιωνία,
Βόλος

Αθήνα 2012

Ξεκινώντας τη διερεύνηση....

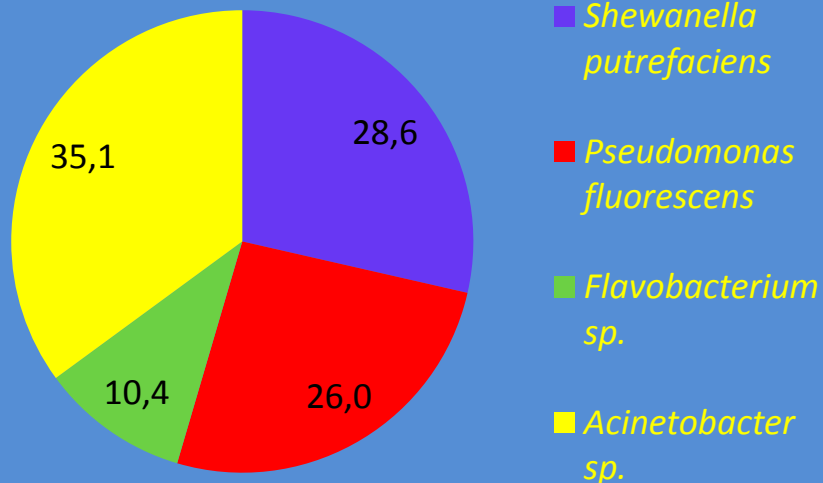
- Ποια είναι η αρχική μικροβιακή ποικιλότητα των νωπών ιχθύων;
- Μεταβάλλεται κατά τη συντήρηση
 - συνθήκες της αποθήκευσης (θερμοκρασία, ατμόσφαιρα),
 - μικροβιακές αλληλεπιδράσεις
- ποιοι μ/οί επικρατούν στο τέλος της συντήρησης;

Πειραματική προσέγγιση ... κλασσικά

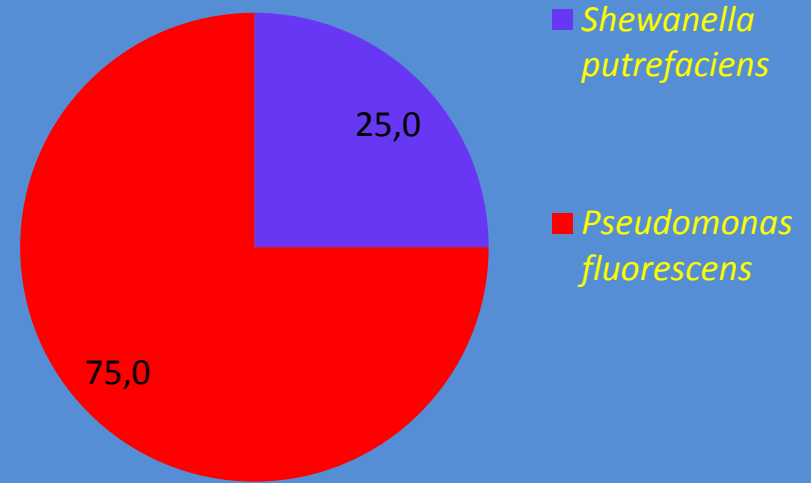
- Απομόνωση και καθαρισμός των μικροοργανισμών
- Χαρακτηρισμός των απομονωμένων βακτηρίων με τη χρήση κλασσικών δοκιμών (φαινοτυπικές-βιοχημικές δοκιμές όπως το API system)

Μικροβιακή ποικιλότητα ολόκληρης τσιπούρας

Αρχική microbiota

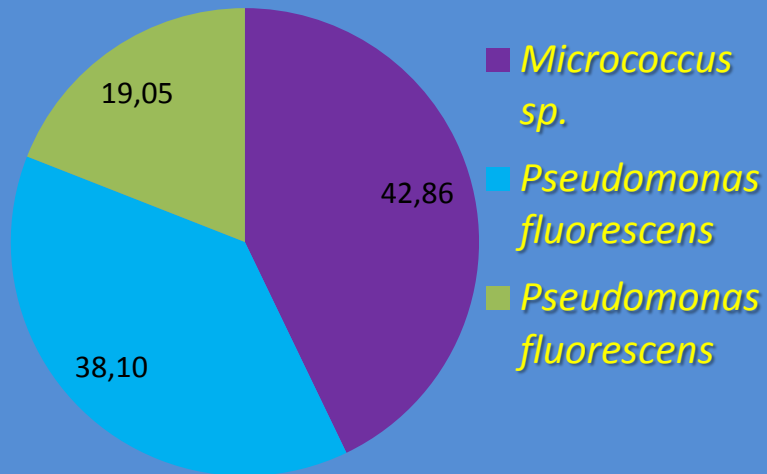


Microbiota αλλοίωσης στους 0oC

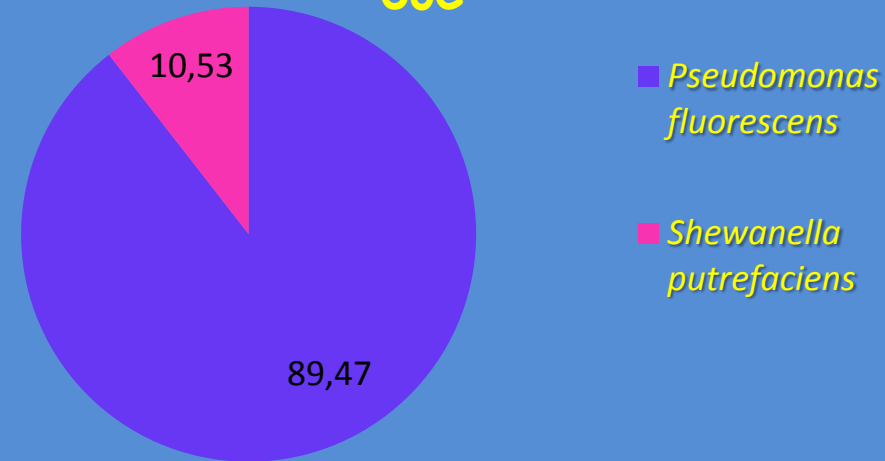


Μικροβιακή ποικιλότητα φιλέτων τσιπούρας

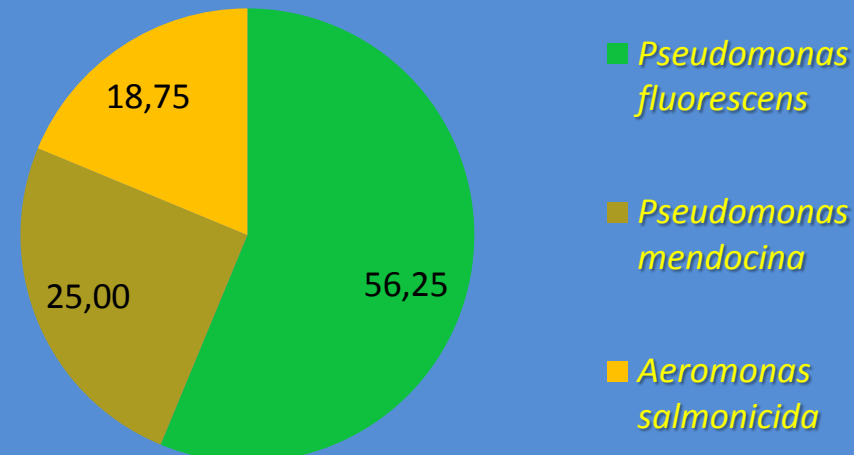
Αρχική microbiota



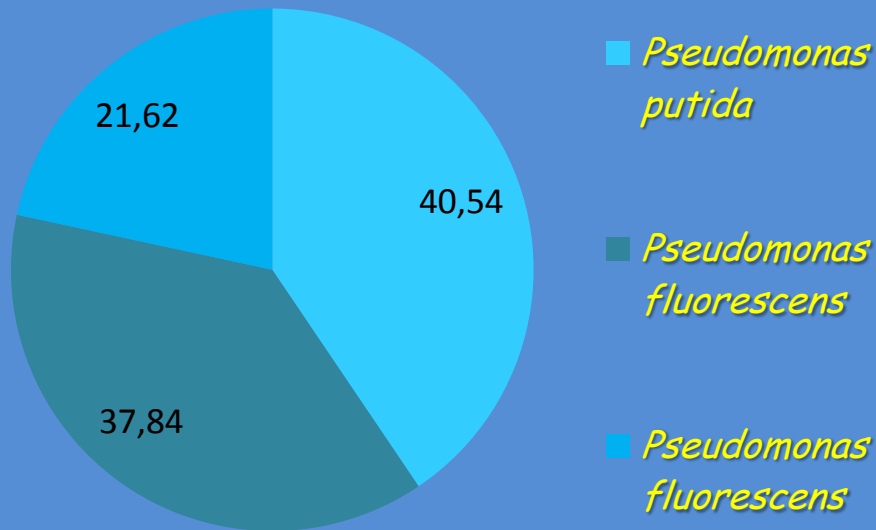
Microbiota αλλοίωσης, Αέρας 0οC



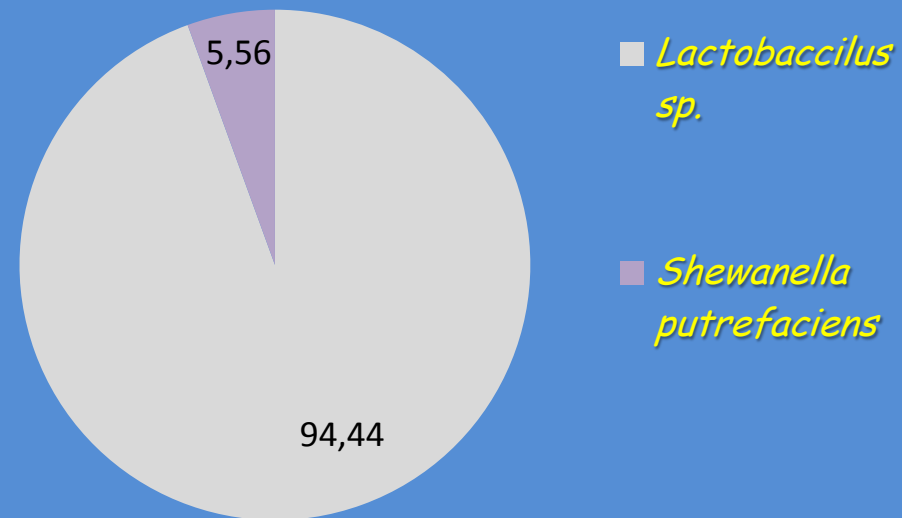
Microbiota αλλοίωσης, MAP 0οC



Μicrobiota αλλοίωσης, Αέρας 5οC



Μicrobiota αλλοίωσης, MAP 5οC



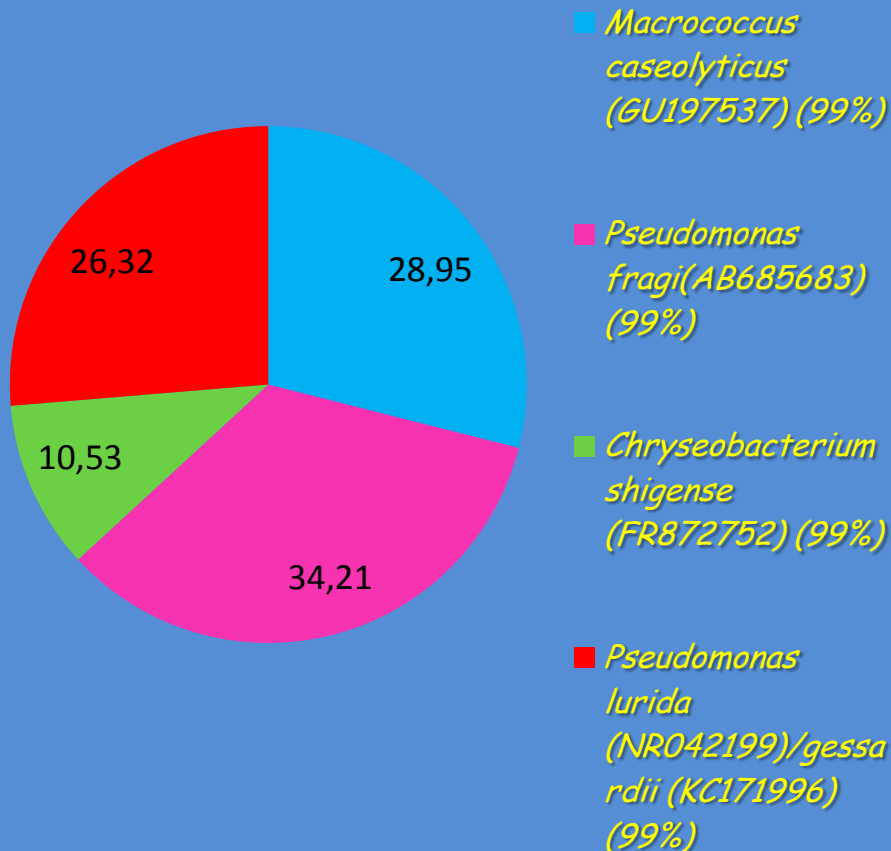
Είναι όντως αυτά τα βακτήρια;

...από το κλασσικό στο μοντέρνο...

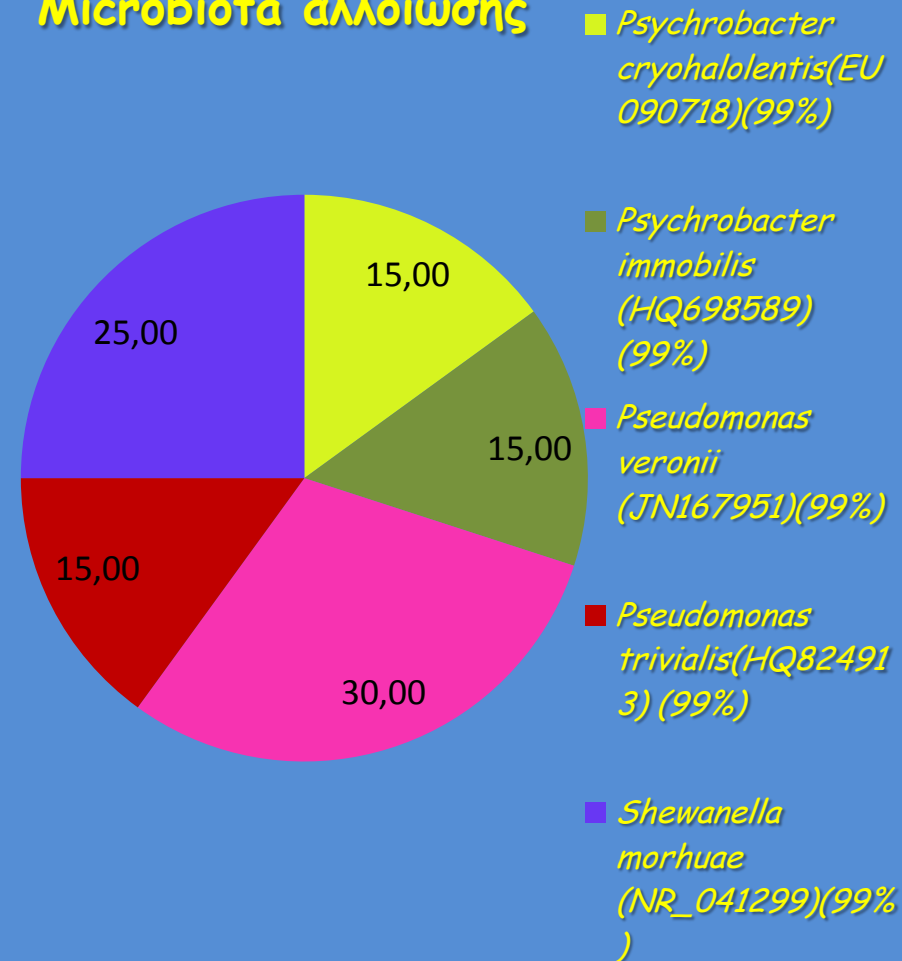
- Καθαρή καλλιέργεια
- Ενίσχυση γονιδίου 16S rRNA με 27fBAC και 907rBAC
- Καθαρισμός DNA με KIT MONTAGE PCR
- Αλληλούχιση
- Βάση δεδομένων (GEN BANK)

Μικροβιακή ποικιλότητα ολόκληρης τσιπούρας αλλά...μοριακά

Αρχική microbiota

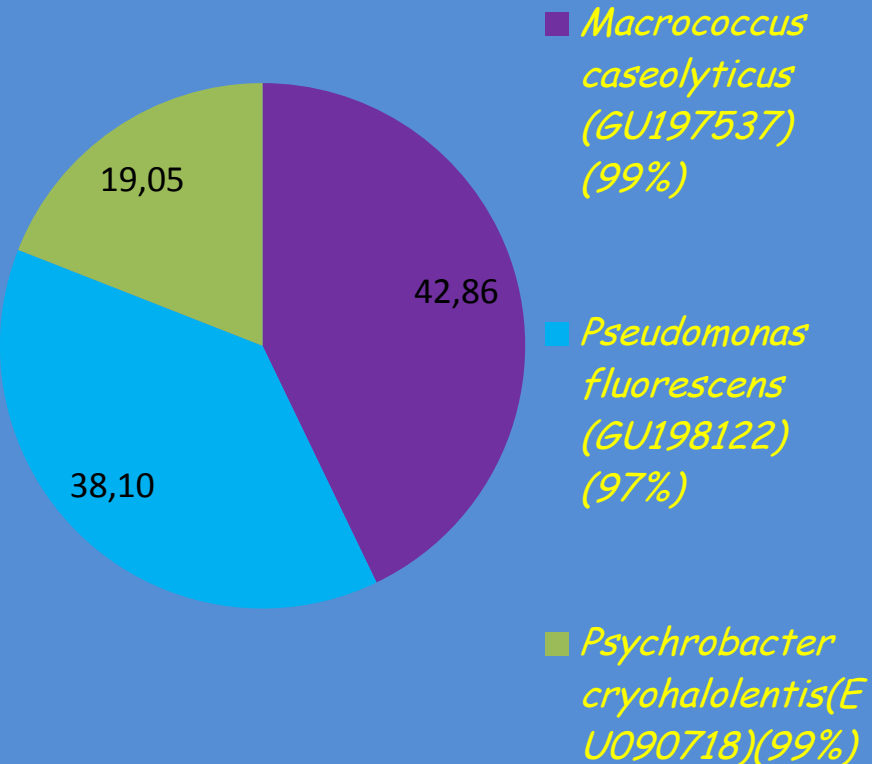


Microbiota αλλοίωσης

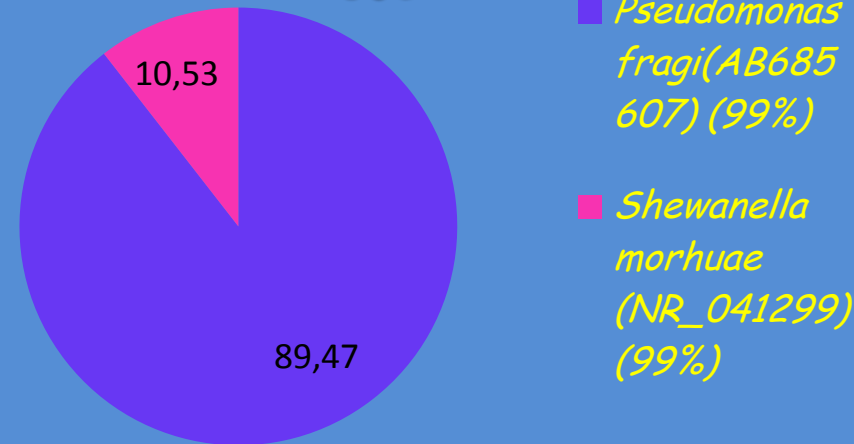


...και στα φιλέτα...

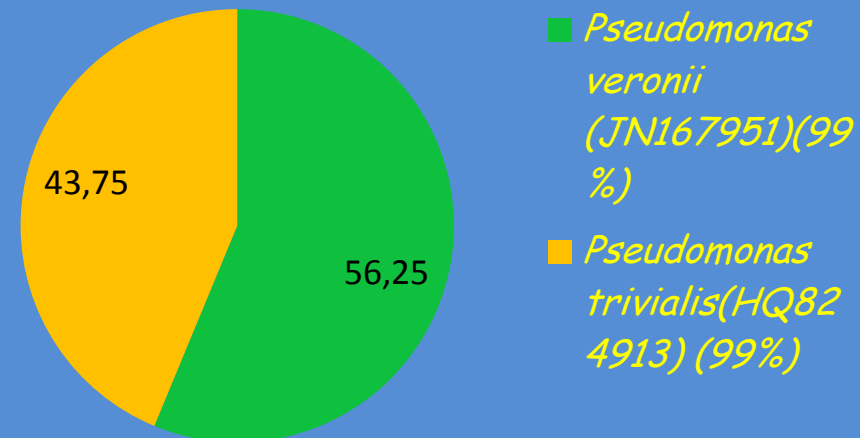
Αρχική microbiota



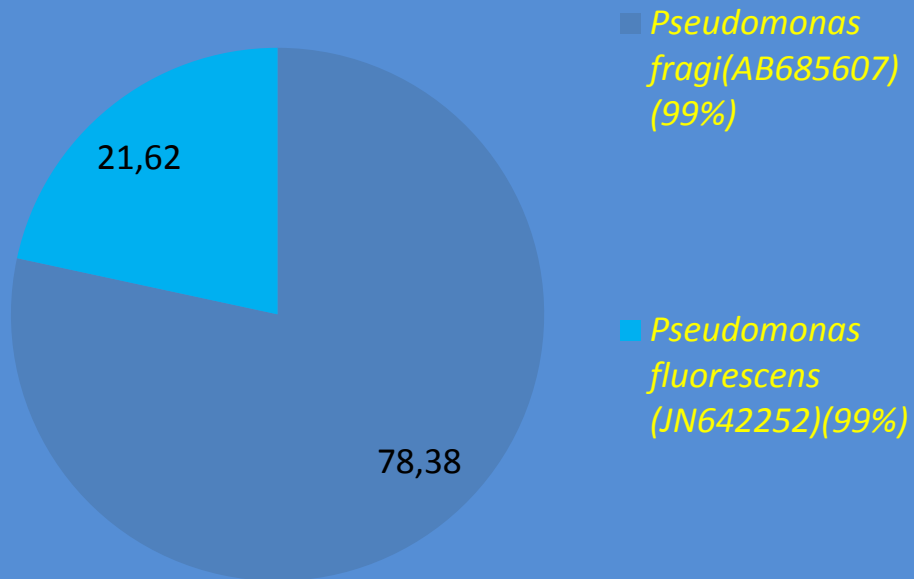
Microbiota αλλοίωσης, Αέρας 0oC



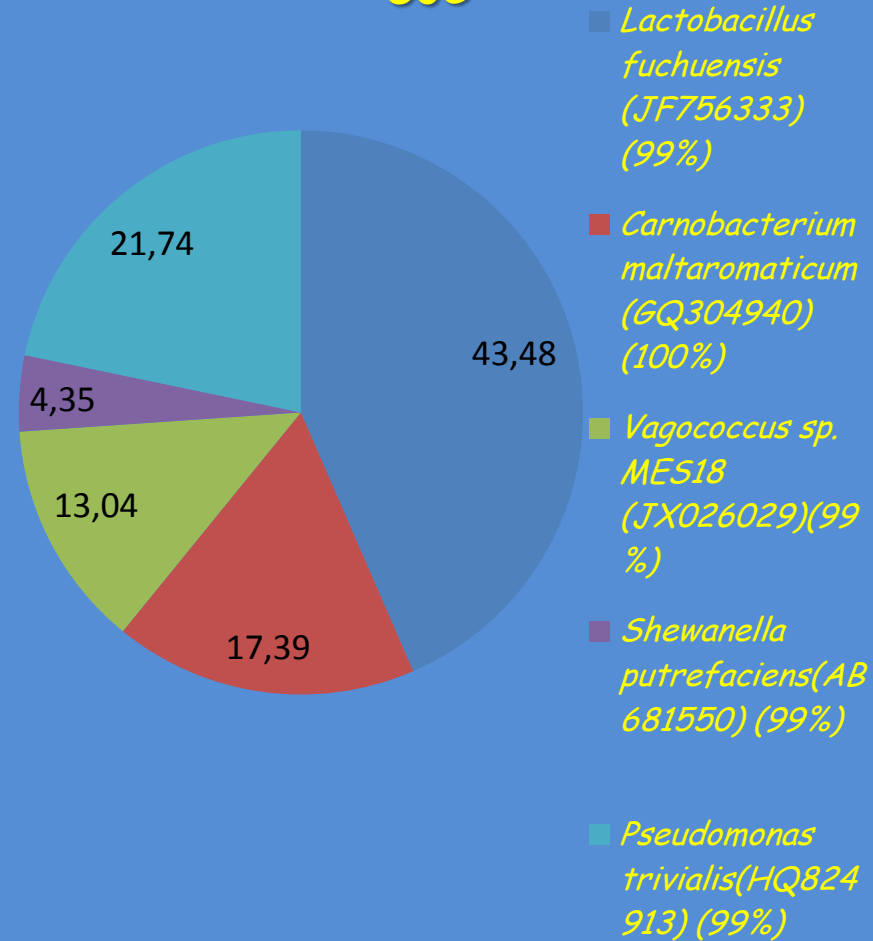
Microbiota αλλοίωσης MAP 0oC



Microbiota αλλοίωσης, Αέρας 5οC



Microbiota αλλοίωσης, MAP 5οC



Μεσόγειος & Ελληνικά Αλιεύματα

...μέχρι στιγμής

...Κυρίαρχοι στο χρόνο αλλοίωσης

Αέρας 0 & 5°C

➤ *Pseudomonas*

MAP 0°C & 5°C

➤ Lactic Acid Bacteria

➤ *Brochothrix*

και τώρα...

Κλασσική

Ολόκληρη τσιπούρα

- *Pseudomonas* sp.

Φιλέτο σε Αέρα 0oC

- *Pseudomonas fluorescens*

5oC

- *Pseudomonas* sp.

Φιλέτο σε MAP 0oC

- *Pseudomonas fluorescens*

5oC

- *Lactobacillus* sp.

Μοριακή

Ολόκληρη τσιπούρα

- *Pseudomonas* spp
- *Psychrobacter immobilis* /*cryohalolentis*
- *Aeromonas* (απευθείας εκχύλιση)

Φιλέτο σε Αέρα 0oC

- *Pseudomonas fragi*

5oC

- *Pseudomonas* spp

Φιλέτο σε MAP 0oC

- *Pseudomonas veronii* /*trivialis*

5oC

- *Lactobacillus fuchuensis*
- *Carnobacterium maltaromaticum*
- *Vagococcus* sp.

Επομένως...

- ✓ Οι μοριακές τεχνικές φαίνεται να συμπληρώνουν την πληροφόρηση που δίνουν οι κλασσικές, με αποτέλεσμα η εικόνα που λαμβάνεται πλέον (με κλασσικές & μοριακές τεχνικές) να είναι 'ικανοποιητικότερη' της προηγούμενης (με κλασσικές τεχνικές μόνο)
- ✓ Με την απευθείας εκχύλιση DNA από τη σάρκα του ιχθύος είναι πιθανόν να ανευρεθούν μικροοργανισμοί οι οποίοι να αποτελούν μέρος της αλλοιωγόνου μικροβιακής σύνθεσης αλλά για κάποιο λόγο (π.χ. εκλεκτικότητα/επιλεκτικότητα θρεπτικών υλικών) πολλές φορές να διαφεύγουν των τεχνικών που χρησιμοποιεί η κλασσική μικροβιολογία
- Η ταυτοποίηση βακτηρίων με μοριακές τεχνικές πιο αληθής

...Ευχαριστίες

- «Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου».

Ευχαριστώ
για την προσοχή σας