

Научно-исследовательская работа
Биология

**«Изучение условий существования колоний
микроорганизмов»**

Выполнила:
Болсуновская Дарья Олеговна,
учащаяся 6 «б» класса
МБОУ Емельяновской средней
общеобразовательной школы №1.

Руководитель:
Зорина Анастасия Валерьевна,
учитель естественнонаучных дисциплин
МБОУ Емельяновской средней
общеобразовательной школы №1.

Емельяново, 2021

Содержание

| | |
|--|----|
| Введение | 3 |
| Основная часть | |
| 1. Питательные среды для размножения бактерий: условия, виды | 5 |
| 1.1. Основные питательные среды | 5 |
| 1.2. Подсчет колоний, выросших на питательной среде в чашках Петри и определение микробного числа. | 6 |
| 2. Практическая часть | 9 |
| Заключение | 11 |
| Список использованных источников | 12 |

Введение.

Полезные и опасные, милые и ужасные, смертоносные и дающие жизнь. Они вокруг и их невозможно увидеть. Непросто отыскать более интересный объект для исследований. По количеству невероятных сюжетов мир бактерий можно сравнить с миром привидений. Но в отличие от изучения привидений, из информации о бактериях можно извлечь массу практической пользы, чем научное сообщество и занимается вот уже более ста лет.

Учёные прогнозируют, что результаты изучения жизни бактерий в будущем приведут к:

- открытию секрета долголетия и даже бессмертия (во льдах найдены бактериальные сообщества, в которых обнаружены представители возрастом более миллиона лет);
- получению альтернативных источников энергии, в том числе и пищи;
- получение новых материалов биологического происхождения;
- формированию новых экосистем.

Знакомясь с новинками, человек получает возможность не только оперировать более значительным объемом средств в достижении утилитарных целей, но и самостоятельно заглянуть в прошлое планеты Земля и в ее будущее.

Проблема заключается в том, что микроорганизмы распространены повсеместно. Все живые существа - растения, животные и люди - постоянно взаимодействуют с микробами, являясь часто не только их хранилищами, но и распространителями. Ни сверхнизкие температуры Антарктики, ни кипящие струи гейзеров, ни насыщенные растворы солей в соляных бассейнах, ни сильная инсоляция горных вершин, ни резкие колебания кислотности среды, ни многое другое не мешают существованию и развитию микрофлоры в природных субстратах. Взаимодействие человека с бактериальной микрофлорой неизбежно, а его характер зависит от биологической и экологической грамотности человека. Это делает **актуальной** тему исследования «Изучение условий существования микроорганизмов».

Гипотеза: рост и развитие колоний микроорганизмов зависит от абиотических факторов окружающей среды.

Цель исследования: изучение условий существования колоний микроорганизмов.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности влияния абиотических факторов на рост и развитие колоний микроорганизмов.
2. Экспериментальным методом выявить оптимальные условия существования колоний микроорганизмов.

3. Провести идентификацию колоний микроорганизмов, выращенных на питательной среде агар агар.

4. Выявить практическую значимость результатов исследования.

Объект исследования: колонии микроорганизмов, выращенные на питательной среде агар агар.

Предмет исследования: влияние абиотических факторов среды на рост колоний микроорганизмов.

Методы исследования: поисковый метод; наблюдение; эксперимент, анализ, синтез, сравнение; обобщение.

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1. Питательные среды для размножения бактерий

Бактерии – живые организмы. Выращивать их хоть и трудно, но интересно. Микробиология до сих пор еще не научилась культивировать большую часть известных видов бактерий. Именно получение нужных питательных сред и создание оптимальных условий, обеспечивающих рост микроорганизмов в искусственных условиях, – одна из основных задач этой науки. Бытовой же интерес к культивированию микробов формируется из двух основных составляющих: желания научиться самостоятельно идентифицировать микроорганизмы и попытки использовать их для решения собственных утилитарных задач. Для успешной постановки эксперимента исследователю необходимо выделить чистую культуру и подобрать оптимальную питательную среду для бактерий.

Требования к питательным средам, для выращивания бактерий в лабораторных условиях, исследования их разнообразных свойств, длительного хранения используют питательные среды: они должны отвечать определенным стандартам, создавая оптимальные условия для роста, размножения и жизнедеятельности микроорганизмов.

Основные требования к питательным средам: прозрачность; стерильность; лёгкая усвояемость; определенный состав азотистых веществ, углеводов, витаминов; определённая вязкость.

1. 1. Основные питательные среды.

Многочисленные потребности микроорганизмов предопределяют большое разнообразие питательных сред, а для отдельных видов бактерий существуют специальные среды.

Среды разделяются на естественные и искусственные. Для создания естественных сред используют свернутую сыворотку, молоко, яйца, мышечную ткань.

Искусственные среды создают путем комбинирования разнообразных субстратов, которые обеспечивают те или другие потребности микроорганизмов.

В зависимости от своей плотности, среды разделяются на жидкие, полужидкие и плотные.

В зависимости от потребностей бактериологов питательные среды разделяются на пять основных групп (прил.1 таблица 1).

Первая группа – универсальные (простые) среды.

Вторая группа – специальные среды. Они используются в тех случаях, когда микроорганизмы не растут на простых.

Третья группа – элективные среды, на которых микроорганизмы определенного вида растут быстрее, более интенсивно, опережают в своем развитии другие виды бактерий.

Четвертая группа селективные среды, которые благодаря добавлению определенных компонентов (желчь, краски, антибиотики и др.) способны подавлять развитие одних видов микроорганизмов, но не влияют на другие виды.

Пятая группа – дифференциально-диагностические среды. Это большая группа сред, которые позволяют определить определенные биохимические свойства микроорганизмов и проводить их дифференциацию.

В своей работе я буду использовать универсальную среду, т.е. агаризированную питательную среду.

Агар - это желеобразная субстанция, используемая для выращивания культур бактерий. Делается агар из красных и бурых водорослей, он представляет собой идеальную среду для многих разных видов микроорганизмов.

Я воспользовалась порошковым агаром. Взяли $\frac{1}{2}$ чайной ложки на каждую 10-сантиметровую чашку Петри. В теплоупорной емкости развела порошковый агар. Поместила емкость с водой и порошком в микроволновку, и довела воду до кипения, кипятила ее в течение минуты. Питательная среда считается готовой, когда порошок полностью растворился, а сама жидкость стала прозрачная. Дала питательной среде остыть, затем перешла к следующему шагу.

Достала чашки Петри из упаковки и разделила половинки. Залила питательную среду в нижнюю половинку чашки тонким слоем, только лишь покрывающим дно. Дала чашкам Петри спокойно постоять минут 30-120, пока питательная среда не остынет и не затвердеет (готовая питательная среда напоминает желе).

Следующий мой шаг, я посадила бактерии в питательную среду: взяла бактерии с улицы, в квартире, ванной комнате и возле батареи, взяла среду добавила лимонный сок, раствор мыла и раствор сахара, так же добавила хлоргексидин и мирамистин (антисептические растворы).

Поместив бактерии на питательную среду, я закрыла чашку крышкой и запечатала ее скотчем. Подписала, что и откуда растет в каждой конкретной чашке. Поместила чашки Петри в теплое и темное место, на несколько дней, чтобы бактерии могли спокойно расти.

1.2 Подсчет колоний, выросших на питательной среде в чашках Петри и определение микробного числа.

Колонии, как правило, подсчитывают с помощью лупы, не открывая чашек Петри. Для удобства отмечают просчитанную колонию точкой на наружной стороне дна чашки, пользуясь стеклоглафом или чернилами по стеклу. Колонии подсчитывают следующими способами: если они изолированы друг от друга, крупные и в небольшом количестве, то обычно их считают по всей поверхности чашки; при большом количестве выросших колоний

дно чашки Петри делят на секторы (4-6-8 и т. д.). Подсчитывают в 2-3 секторах, находят, среднее арифметическое на один сектор, а затем умножают на количество секторов. Или подсчитывают количество колоний в каждом секторе и результаты суммируют; если колонии очень мелкие и их много, то следует пользоваться счетным аппаратом Вольфхюгеля. Аппарат состоит из черной: доски и стеклянной пластинки, разделенной на квадраты площадью 1 см². Чашки необходимо поставить на доску вверх дном, покрыть стеклянной пластинкой и подсчитать колонии в квадратах по диагонали (10-12), затем рассчитать среднее арифметическое на один квадрат и пересчитать на площадь всей чашки, используя формулу $S = \pi r^2$.

Очень удобны для подсчета колоний полуавтоматические счетчики. Для подсчета колоний чашку Петри помещают на специальный столик, подсвечиваемый снизу, и подсчитывают колонии пером с пружинным острием. Острием пера касаются стекла в участке, где расположена колония, и нажимают на перо. В результате на стекле остается метка, а держатель поднимается вверх, замыкая цепь, и показания счетчика увеличиваются на единицу.

Лучшее разведение то, при высеве из которого на плотной питательной среде вырастает от 50 до 100 колоний.

Чтобы определить степень обсемененности изучаемого объекта (микробное число) необходимо результат подсчета количества колоний в чашках Петри, помножить на знаменатель соответствующего разведения и вычислить среднее арифметическое число из полученных цифр. Среднее арифметическое число высчитывается только из цифр одного порядка. Например, при анализе посева получили следующее количество колоний в чашках Петри: I - 150, II - 95, III - 8. Полученные цифры умножаем на знаменатель соответствующего разведения:

| | | | | | |
|-----|---|---------|---|-----------|-------|
| I | - | 150x100 | = | 15000 | |
| II | - | 95x1000 | = | 95000 | |
| III | - | 7x10000 | = | 70000 | |
| | | | | 180000:3= | 60000 |

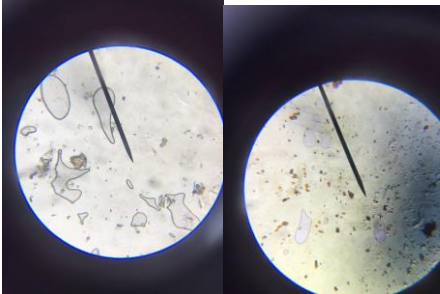


Следовательно, во взятой навеске исследуемого продукта содержится 60000 бактерий. По полученным результатам рассчитывают количество бактерий в 1 г или 1 см² исследуемого продукта. Основные этапы исследования оформляются в таблицу.


При оценке микробной обсемененности поверхностей рабочих столов санитарное состояние считается отличным, если общее количество микроорганизмов на 1 см² от 0 до 100, хорошим - от 100 до 1000, удовлетворительным - более 1000, плохим - более 10000. Воздух нестерильных помещений считается чистым при микробном числе до 1500, загрязненным - свыше 2500.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

В ходе проведенного исследования, мною выращены и идентифицированные следующие виды колоний микроорганизмов

Таблица 1. Идентификация и количественный состав исследуемых колоний микроорганизмов из проб воздуха.

| Вид фактора | абиотического | Название колоний микроорганизмов | Фото |
|-------------|-------------------|---|--|
| 1. | Температура | <p>0⁰С - палочковидные бактерии.</p> <p>Количество менее 1500 в 1 м³.</p> <p>18⁰ С – колонии микрококки.</p> <p>Количество более 2000 в 1 м³.</p> |  <p style="text-align: center;">0⁰С 18⁰ С</p> |
| 2. | Влажность воздуха | <p>Спириллы</p> <p>Количество более 2000 в 1 м³.</p> |  <p style="text-align: center;">Повышенная влажность Недоста влажность</p> |
| 3. | Среда | <p>Вибрионы</p> <p>Количество менее 1000 в 1 м³ в кислой среде.</p> <p>Количество более 4500 в 1 м³ - в щелочной среде.</p> |  <p style="text-align: center;">Кислая Щелочная Нейтральная</p> |

| | | | |
|----|---|---|--|
| | | Количество более 2500 в 1 м ³ - в нейтральной среде. | |
| 4. | Влияние антисептического препарата | Микроорганизмы не идентифицированы. |  <p>Хлоргекседин</p> |

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного проекта сформулированная *цель и задачи исследования достигнуты, гипотеза подтверждена.*

Выводы

Оптимальным режимом для каждого фактора явилось:

- 1. Температура – от 18 – 30⁰ С.**
- 2. Влажность воздуха – избыточная.**
- 3. Среда – щелочная.**
- 4. Влияние антисептического препарата – подавляет рост числа бактерий.**

Работа по теме исследования «Анализ условий питательной среды для бактерий» способствовала развитию у меня умений экспериментировать, делать выводы, рассуждать, анализировать и систематизировать.

Материалы проведенного исследования выходят за рамки программы курса по биологии на уровне среднего общего образования, будут полезны учащимся при подготовке к итоговой аттестации, а также могут быть использованы на уроках биологии при изучении темы «Бактерии».

Значимость результатов исследования:

1. Экспериментальным путем установлены оптимальные условия для искусственного выведения полезных видов бактерий.
2. В связи со сложившейся пандемией вирусных инфекций (ОРВИ, COVID 19) в работе подтверждены разработанные основные меры профилактики (часто мыть руки с мылом, пользоваться антисептическими препаратами).

Список использованных источников

1. Актуальные вопросы эпидемиологии и инфекционных болезней. / Н.А. Семина. - М.: Медицина, 1999
2. Борисов Л.Б., Козьмин- Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С.. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. /Под ред. Борисова Л.И. – М.: Медицина, 1993.-С. 42-56, .79-90.. 3. Джавец Э., Мельник Дж. Л., Эйдельберг Э.А. Руководство по медицинской микробиологии. 1 т. Пер. с англ. – М.: Медицина, 1982.
4. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. М 1976
5. Прозоркина Н. В. ,Рубашкина П. А. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии, 2002
6. Френкель К., "Основы учения о бактериях"
7. <http://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=458689>
8. <http://www.vevivi.ru/best/Pitatelnye-sredy-dlya-bakterii-ref168812.html>