

ЭКОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ**Смагина Д.Г., Смирнова В.И.***МБОУ «Гимназия им. И.А. Бунина», 10 «Б» класс**Руководитель: Кобзева И.В., МБОУ «Гимназия им. И.А. Бунина», учитель биологии*

Данная статья является реферативным изложением основной работы. Полный текст научной работы, приложения, иллюстрации и иные дополнительные материалы доступны на сайте VI Международного конкурса научно-исследовательских и творческих работ учащихся «Старт в науке» по ссылке: <https://school-science.ru/6/1/37578>.

Микроорганизмы распространены повсеместно. Весь земной шар «укутан» в живую пленку, большая доля в которой приходится на микробы. Нет места на нашей планете, где бы не было микроорганизмов. Исключения составляют лишь кратеры действующих вулканов и небольшие площадки в эпицентрах взорванных атомных бомб. 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, правда, в каждом случае разной по составу. Все живые существа – растения, животные и люди – постоянно взаимодействуют с микробами, являясь часто не только их хранилищами, но и распространителями. Горные породы, вода, иловые осадки и почвы также довольно плотно заселены микроорганизмами. Иначе говоря, микроорганизмы – это типичные обитатели – аборигены нашей планеты. Более того, они являются ее первопоселенцами, активно осваивающими самые неподатливые природные субстраты.

Целью нашего исследования является: практическим путем определить – действительно ли бактерии окружают нас повсюду и где бактерий больше всего, а также экспериментально подтвердить значение условий среды для роста и развития бактериальных колоний.

Объект исследования: бактерии.

Гипотеза исследования: бактерии окружают нас повсюду. На грязных поверхностях и предметах бактерий больше, чем там, где чисто.

Задачи исследования:

- Познакомиться со строением микроорганизмов (бактерий) и их классификацией;
- Опытным путём, в домашних условиях, «вырастить» колонии бактерий;
- Изучить роль соблюдения гигиенических правил.

Материалы:

- Питательные среды для выращивания колоний бактерий в разных условиях: (отвар пшеницы, пищевой агар-агар)
- Чашки Петри стеклянные
- Ватные палочки

Методы работы:

1. Теоретический (изучение дополнительной литературы и информации в сети Интернет по теме исследования)

2. Практические:

- Анкетирование учащихся МБОУ гимназия имени И.А. Бунина
- Приготовление в домашних условиях питательной среды для бактерий
- Взятие проб и выращивание колоний бактерий

Расселением, изучением структуры и функций особей и сообществ организмов в природной обстановке занята специальная отрасль биологии – экология. Исследование микробного мира находится в сфере экологии микроорганизмов. Основная суть этой науки улавливается даже из самого термина «экология» (от греч. «ойкос» – дом, местобитание). Поэтому экологические исследования микроорганизмов проводятся в «их доме». Поэтому мы и выбрали для себя такую тему – Экология бактерий.

Основная часть*1. Состояние вопроса**1.1. Строение и разнообразие бактерий*

Микроорганизмами (микробами) называют одноклеточные организмы размером менее 0,1 мм, которые невозможно увидеть невооруженным глазом. К ним относятся бактерии, микроводоросли, некоторые низшие мицелиальные грибы, дрожжи, простейшие. Их изучением занимается микробиология.

Истинным разделом микробиологии является бактериология. Она изучает исключительно прокариотические организмы – бактерии. В отличие от эукариот, к которым

относятся все многоклеточные организмы, а также простейшие, микроскопические водоросли и грибы, у прокариот отсутствует оформленное ядро, содержащее генетический материал и настоящие органоиды (постоянные специализированные структуры клетки) (рис. 1).

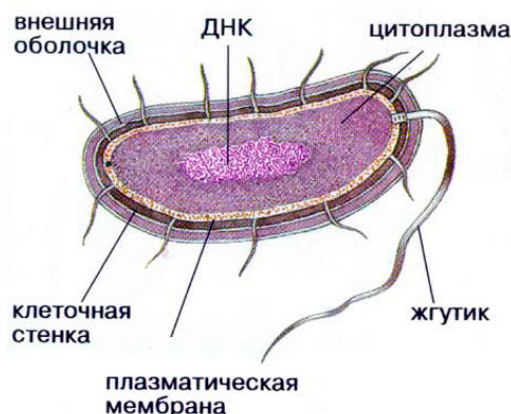


Рис. 1. Строение бактериальной клетки

Основными клеточными структурами бактерий являются: нуклеоид (генетический материал), предназначенные для синтеза белка рибосомы, цитоплазматическая мембрана (часть оболочки клетки), которая у многих представителей дополнительно сверху защищена клеточной стенкой, капсулой и слизистым чехлом

Бактерии различаются по следующим морфологическим особенностям:

Форма клеток (округлые, палочковидные, нитчатые, извитые, спиралевидные, а также различные переходные варианты и звездообразная конфигурация) (рис. 2).

Наличие приспособлений для движения (неподвижные, жгутиковые, за счет выделения слизи).

Сочленение клеток друг с другом (изолированные, сцепленные в виде пар, гранул, ветвящиеся формы).

Округлые по форме бактерии называются кокки. Среди структур, образуемых кокками выделяют клетки, находящиеся в паре после деления и остающиеся все время вместе (диплококки). Квадратичную структуру из четырех клеток образуют тетракокки, цепочку – стрептококки, гранулу из 8–64 единиц – сарцины, грозди – стафилококки.

Палочковидные бактерии представлены многообразием форм вследствие большой изменчивости длины (0,1–15 мкм) и толщины (0,1–2 мкм) клетки. Форма последних также зависит от способности бактерий к образованию спор – структур

с толстой оболочкой, позволяющей переживать микроорганизмам неблагоприятные условия. Клетки с такой способностью называются бациллами, а не обладающие такими свойствами просто палочковидными бактериями.



Рис. 2. Разнообразие бактерий по форме

Особыми видоизменениями палочковидных бактерий являются нитчатые (вытянутые) формы, цепочки и ветвящиеся структуры. Последнюю образуют актиномицеты на определенной стадии развития. «Кривые» палочки называют извитыми бактериями, среди которых выделяют вибрионы; спириллы, имеющие два изгиба (15–20 мкм); спирохеты, напоминающие волнистые линии. Их длины клеток 1–3, 15–20 и 20–30 мкм, соответственно.

1.2. Грамположительные и грамотрицательные бактерии

В 1884 году датчанин по имени Ганс Кристиан Йоахим Грам провел эксперимент, ставший революционным для микробиологии. Он разработал способ, позволяющий разделить все бактерии на грамотрицательные и грамположительные. Иначе говоря, выявить при помощи окрашивания микроорганизмы, способные длительно сопротивляться воздействию антибиотиков (Грам (-)) и наоборот, восприимчивые к их воздействию (Грам (+)), независимо от их формы – шаровидные или палочки.

На полученные различия бактерий влияет строение их оболочки. Чем клеточная стенка сложнее, тем пигменту труднее в нее проникнуть и закрепиться. В итоге метод был назван в честь врача и открыл перед

учеными новые перспективы, позволил проводить более оперативное и маневренное лечение пациентов, а также в значительной степени облегчил разработку новых медицинских препаратов.

1.3. Значение бактерий в природе и жизни человека

Значение бактерий в природе. Бактерии играют важную роль на Земле. Они принимают самое активное участие в круговороте веществ в природе. Все органические соединения и значительная часть неорганических подвергаются с помощью бактерий существенным изменениям. Эта их роль в природе по переработке любых органических веществ в органические имеет глобальное значение. Появившись на Земле раньше всех организмов (более 3,5 млрд лет назад), они создали живую оболочку Земли и продолжают активно перерабатывать живое и мертвое органическое вещество, вовлекая продукты своего обмена в круговорот веществ. Круговорот веществ в природе является основой существования жизни на Земле.

Распад всех растительных и животных остатков и образование перегноя и гумуса производится в основном бактериями. Бактерии – мощный биотический фактор в природе.

Огромное значение имеет почвообразовательная работа бактерий. Первая почва на нашей планете была создана бактериями. Однако и в наше время состояние и качество почвы зависит от функционирования почвенных бактерий. Особенно важны для плодородия почвы так называемые азотфиксирующие клубеньковые бактерии-симбионты бобовых растений. Они насыщают почву ценными азотными соединениями.

Бактерии выполняют функцию санитаров. Они очищают грязные сточные воды, расщепляя органические вещества и превращая их в безвредные неорганические. Это свойство бактерий широко используется в работе очистных сооружений.

Значение бактерий в жизни человека. Во многих случаях бактерии могут быть и вредны для человека. Так, сапрофитные бактерии портят пищевые продукты. Чтобы уберечь продукты от порчи, их подвергают специальной обработке (кипячение, стерилизация, замораживание, высушивание, химическая очистка и т. д.). Если этого не делать, могут произойти пищевые отравления.

Ботулинические бациллы вызывают опасное пищевое отравление – ботулизм, часто приводящее к смерти человека. Бактерия, вызывающая ботулизм, попадает с плохо промытыми продуктами в консервы

и активно развивается в бескислородных условиях при обилии белка. В результате ее жизнедеятельности в мясных или грибных консервах накапливается страшный яд ботулин.

Болезнетворные бактерии. Среди бактерий имеется много болезнетворных (патогенных) видов, вызывающих заболевания у людей, животных или растений. Тяжелое заболевание брюшной тиф вызывает бактерия сальмонелла, дизентерию – бактерия шигелла. Болезнетворные бактерии разносятся по воздуху с капельками слюны больного человека при чихании, кашле и даже при обычном разговоре (дифтерия, коклюш). Некоторые болезнетворные бактерии очень устойчивы к высыханию и долго сохраняются в пыли (туберкулезная палочка). В пыли и почве живут бактерии рода клостридиум – возбудители газовой гангрены и столбняка. Некоторые бактериальные заболевания передаются при физическом контакте с больным человеком (венерические болезни, проказа). Часто болезнетворные бактерии передаются человеку с помощью так называемых переносчиков. Например, мухи, ползая по нечистотам, переносят на своих лапках тысячи болезнетворных бактерий, а затем оставляют их на продуктах, потребляемых человеком.

Будут ли микробы распространяться в нашем доме, во многом зависит от нас. Если мы не соблюдаем правила гигиены при очищении загрязненных бытовых поверхностей (например, используем грязную тряпку), то это может способствовать быстрому распространению микробов по всему дому. Сами того не зная, мы также можем переносить микробы на руках, откуда они попадают на поверхности, к которым мы прикасаемся, пока не помоем руки.

Аналогичным образом, если человек болен, то в тот момент, когда он кашляет, чихает или даже просто дышит, в воздухе оказывается огромное количество вредных бактерий. Они заражают любую поверхность, на которую попадают, а также инфицируют окружающих. Подобные процессы (случайная передача болезнетворных микробов и бактерий от одного человека к другому) называются цепной передачей инфекции.

2. Методика, объекты и объем выполненных исследований

2.1. Подготовительный этап

Изучив информацию по теме исследования, мы решили провести анкетирование среди учащихся гимназии имени И.А. Бунина. Школьникам мы предложили анкету

из 5 вопросов (приложение 1). В анкетировании приняли участие 168 учащихся 7–8 классов.

Школьники должны были ответить на вопрос: Какие правила гигиены следует соблюдать, чтобы избежать заражения инфекционными заболеваниями? Результаты опроса показали, что в целом ученики знают основные правила гигиены (приложение 2). Затруднились ответить на этот вопрос 9 человек. Остальные учащиеся называли основные правила гигиены. 64 человека назвали три и более правила гигиены. 36 человек знают как минимум два правила. Особенно интересными ответами нам показались следующие: мыть посуду, не пить из одной бутылки, не грызть ногти и колпачок ручки, слушать советы учителей и родителей. Но лидировал, конечно, ответ: мыть руки перед едой, после улицы и туалета. На втором месте по популярности стояли правила «не есть невымытые овощи и фрукты», «следить за чистотой тела», «чистить зубы».

На вопрос «Всегда ли вы соблюдаете правила гигиены?» учащиеся ответили так:

- а) всегда – 32
- б) часто – 97
- в) изредка – 28
- г) никогда – 9

На вопрос «Как часто ты моешь руки» учащиеся гимназии дали следующие ответы:

- а) перед едой – 30
- б) после туалета – 10
- в) три раза в день – 18
- г) более трех раз в день – 110

На вопрос «Почему нельзя есть грязные фрукты и овощи?» большинство опрошенных ответили, что вместе с грязью в наш организм могут попасть вредные вещества и бактерии.

Вывод: учащиеся знают основные правила гигиены, но не всегда их соблюдают. Многие учащиеся в анкетах отмечали, что следует мыть руки перед едой. Мы решили проверить насколько верно это утверждение.

2.2. Приготовление питательной среды для бактерий

Питательные среды – субстраты, используемые в лабораторной практике для выращивания микроорганизмов и других биологических объектов. Рост микроорганизмов зависит от наличия в питательной среде достаточного количества органических и неорганических веществ в виде различных солей, витаминов и др. Питательные среды должны обладать также оптимальными физико-химическими свойствами: pH, вязкостью, влажностью, осмотическими свойствами. По консистенции среды могут

быть жидкими, полужидкими и плотными. Плотные среды получают путем свертывания натуральных биологических субстратов, например сыворотки крови, или путем добавления к соответствующим жидким средам желеобразующих веществ. Чаще всего в качестве желеобразующих веществ используют желатин или агар-агар. Добавление к жидкой среде 2% агар-агара дает плотную среду, а 0,5–0,7% – полужидкую. Плотные питательные среды используют для получения чистых культур микроорганизмов, для точного определения количества микробов в исследуемом материале и для изучения свойств и морфологии бактериальных колоний.

Для нашего эксперимента мы выбрали питательную среду на основе зернового отвара. Взяли 100 мл зерна (у нас были пшеница и овес), высыпали в емкость, залили 500 мл воды (использовали обычную воду из-под крана), довели смесь до кипения и варили около 30 минут. За это время лишняя вода испарилась, а раствор стал светло-коричневого цвета (приложение 3). Процедили раствор через марлю и воронку и снова поставили на огонь. Когда раствор закипел, добавили к нему агар-агар (половину ложки). Аккуратно помешивая, добились полного растворения агара. Подготовили чашки Петри. Прозеинфицировали их спиртом. Разлили в них готовую среду слоем примерно 3–5 мм (приложение 4).

2.3. Посев бактерий на стерильную поверхность питательной среды

Для своего эксперимента мы решили взять пробы бактерий с 5 разных поверхностей и сравнить полученный результат. Для этого стерильной ватной палочкой мы провели несколько раз по поверхности и затем оставили отпечаток на питательной среде в чашке Петри (приложение 5).

Проба №1 Воздух в кабинете биологии. Для этого мы на несколько минут оставили чашку Петри открытой.

Проба №2 Грязные руки. Для этого прикасались грязными руками к питательной среде, оставляя отпечатки

Проба №3 Чистые руки. Руки вымыли с антибактериальным мылом. И так же, как и в предыдущем опыте оставили свои отпечатки на питательной среде.

Проба №4 Парты в кабинете биологии. Для этого опыта ватной палочкой провели по парте, а затем прикоснулись ей к питательной среде.

Проба №5 Поверхность мобильного телефона. Ватной палочкой провели сначала по поверхности телефона, а потом оставили отпечатки на питательной среде.

После взятия проб, чашки Петри были закрыты. Бактериям необходимы особые условия, поэтому мы поместили чашки в теплое место в кабинете биологии и в течение нескольких суток наблюдали за изменениями на поверхности питательной среды. Все наблюдения мы записывали в лабораторный журнал.

2.4. Окраска бактерий по Граму

В микробиологии этот метод приравнивается к сложным. На бактерии действуют основным и дополнительным красителями, а также обесцвечивающим веществом. Наглядно весь процесс окрашивания можно представить следующими шагами:

Предметное стекло очищают от жира и покрывают тонким слоем собранного мазка, после чего высушивают его естественным путем.

Фиксируют физическим или химическим способом, вызывая коагуляцию белков.

Через фильтр-бумагу наносят первый краситель и оставляют в покое на пару минут.

После чего убирают пигмент, добавляют на стекло раствор Люголя и выдерживают одну минуту.

Удаляют йодистый раствор, а бактерии промывают этиловым спиртом до обесцвечивания.

Ополаскивают стекло дистиллированной водой около минуты.

Наносят на стекло второй краситель и оставляют его не более чем на 5 минут.

Снова ополаскивают и высушивают фильтр-бумагой.

Реакция микроорганизмов на окрашивание

Основным красителем выступает метиловый фиолетовый или другой пигмент из трифенилметановой группы. Одной из характеристик грамположительных бактерий служит их способность создавать с этим веществом связь, которая усиливается при воздействии йода и не разрушается уксусной или спиртовой. Это делает невозможным их повторное окрашивание при дополнительном использовании сафранина или фуксина. Благодаря различиям в биохимии клеточных стенок, грамположительные бактерии хорошо прокрашиваются в фиолетовый или насыщенный синий цвет. Их оболочки лишены дополнительного липопротеидного слоя, противостоящего неблагоприятным условиям. А потому эти бактерии являются подверженными воздействию бактериостатиков и антисептиков.

Грамотрицательные бактерии же, наоборот, почти не образуют соединений с первым красителем, даже в присутствии йода. Все возникшие связи легко разрушаются

спиртом, в результате чего происходит их полное обесцвечивание в мазке. Именно на их обнаружение направлено использование дополнительного красителя.

Под его воздействием у грамотрицательных бактерий появляются красный, розовый или малиновый цвет. При этом погибшие микроорганизмы окрашиваются ярко и целиком, а живые лишь частично и довольно бледно. Их оболочка служит прочной защитой не только от пигментных веществ или антибиотиков, но и от желудочного сока, слюны и других ферментосодержащих организменных жидкостей.

Значение для медицины. Разработанный Грамом этиологический тест оказался востребованным не только в микробиологии. Информация, полученная благодаря ему, также продвинула на новый уровень медицину, в особенности лечение пациентов, зараженных грамотрицательными бактериями. Несмотря на то, что gram-negative bacteria (грамнегативные палочки) врачи причисляют к условно-патогенной микрофлоре, ошибочно считать их безобидными. Они вызывают бурную ответную реакцию организма и обладают высокой резистентностью, что часто приводит к летальным исходам.

3. Результаты исследований

3.1. Сравнительный анализ роста колоний бактерий

Спустя сутки на поверхности питательной среды стали происходить изменения (приложение 6).

Через 24 часа в чашке №1, №2 и №4 стали появляться первые колонии бактерий белой окраски. В чашке №1 они были рассеяны, а в двух других сконцентрировались в тех местах, где мы прикасались рукой и ватной палочкой. В чашке №5 колоний было меньше, а в чашке №3 они почти не появились.

Спустя 48 часов от начала эксперимента в чашках №1, №2 и №4 число и размер колоний заметно увеличились (приложение 7), увеличилось число колоний и в чашке №5. В чашке №3 появились 2 колонии.

Спустя 72 часа от начала эксперимента в чашке №2 (грязные руки) появились следы плесневых грибов, бактериальные колонии увеличились в размере, появились новые, имеющие оранжевую и розовую окраску. В чашке №3 (чистые руки, вымытые с мылом) колонии бактерий присутствуют, однако в сравнении с предыдущим образцом их гораздо меньше. Большое число колоний наблюдаем в чашке №4 (парты в кабинете). Колонии там крупные, разнообразные

по окраске, их много. Таким образом, можно сделать вывод, что самыми грязными поверхностями являются поверхность парты и грязные руки, на втором месте – поверхность мобильного телефона. Меньшее число бактерий было выявлено в воздухе. На поверхности рук, которые были вымыты с антибактериальным мылом, бактерии присутствуют, однако их число не так велико.

3.2. Окраска методом Грама

Мы нанесли культуру бактерий из чашки Петри на предметное стекло тонким слоем. Над пламенем горелки зафиксировали препарат (2 раза провели предметным стеклом над пламенем горелки). Окраску по Граму мы осуществляли в четыре этапа (приложение 8).

А. На первом этапе фиксированный мазок окрашивали генциановым фиолетовым в течение 2 минут. Мазок окрасился в фиолетовый цвет.

Б. На втором этапе мазок в течение 2 минут обработали раствором Люголя, который формирует с генцианвиолетом красящий комплекс, локализующийся на цитоплазматической мембране. Мазок приобрел темный цвет.

В. На третьем этапе мазок обесцветили этиловым спиртом примерно 20 минут и промыли большим количеством воды.

Г. На четвертом этапе мазок окрашивали водным фуксином 2 минуты. Полученный препарат рассмотрели в микроскоп на увеличении в 800 раз (приложение 9).

3.3. Итоги и выводы проведенной исследовательской работы

По итогам проведенной исследовательской работы можно сделать вывод о том, что гипотеза была подтверждена. Бактерии действительно окружают нас повсюду: они есть и в воздухе, и на предметах быта, и даже на нашей одежде и коже. На грязных поверхностях и предметах бактерий больше, чем там, где была проведена уборка или было вымыто. Возможно, среди грамотрицательных бактерий были и возбудители опасных для человека заболеваний. Значит, необходимо соблюдать правила гигиены: следует перед едой и после туалета обязательно мыть руки, следить за чистотой в доме и в кабинете, чаще делать влажную уборку, не хранить грязные тряпки и чаще проветривать помещение. Такой простой комплекс полезных привычек поможет избежать встречи с болезнетворными бактериями и сохранить здоровье и хорошее настроение.

Заключение

На основе проведенного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Бактерии – это микроорганизмы микроскопического строения, разнообразной формы, существующие на нашей планете ни один миллиард лет. Живут они везде: в воде, почве, организмах растений, животных, человека, в воздухе.

2. Болезнетворные бактерии – вызывают инфекционные заболевания человека, выделяя в его организм токсины – ядовитые продукты жизнедеятельности. Могут попасть в организм человека, например, через мельчайший порез или ссадину.

3. Одним из способов профилактики бактериальных инфекций и борьбы с бактериями является соблюдение правил гигиены.

В ходе данного исследования было доказано, что применение антибактериального мыла губительно действует на микроорганизмы, или в несколько раз снижает их численность.

Список литературы

1. Алтынов П.И., Андреев П.А., Балжи А.Б. Краткий справочник школьника. 5–11 кл. – М.: Дрофа, 2006.
2. Большая медицинская энциклопедия. – М.: АСТ Астрель, 2007.
3. Мать и дитя: большая энциклопедия. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2007.
4. Большая энциклопедия народной медицины – М.: Изд-во Эксмо, 2007г.
5. Микроорганизмы воздуха: учеб.-метод. пособие / Новосибир. гос. аграр. ун-т. Биол.-технолог. фак.; сост.: Л.А. Литвина, И.Ю. Анфилофьева. – Новосибирск, 2016. – 27 с.
6. Энциклопедический словарь медицинских терминов / Медицина, 2001.
7. Биология: энциклопедия для детей. Т.2. – М.: Аванта+, 1994.
8. Энциклопедический словарь Юного Биолога. – М.: Педагогика 1986.
9. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%98%D0%BE%D0%B4>.
10. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%97%D0%B5%D0%BB%D1%91%D0%BD%D0%BA%D0%B0>.
11. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%B8..>
12. <http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%90%D0%BD%D1%82%D0%B8%D1%81%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0>.
13. <http://www.google.ru/search?q=%D0%B0%D0%BD%D1%82%D0%B8%D1%81%D0%B5%D0%BF%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B0&ie=utf-8&oe=utf-8&aq=t&rls=org.mozilla:ru:official&client=firefox>.

Приложение 1

Анкета

1. Как часто ты моешь руки?
– перед едой

- после туалета
- три раза в день
- более 3 раз в день
- 2. Как часто ты чистишь зубы?
- один раз в день
- два раза в день
- когда заставят
- 3. Почему нельзя есть грязные фрукты и овощи?

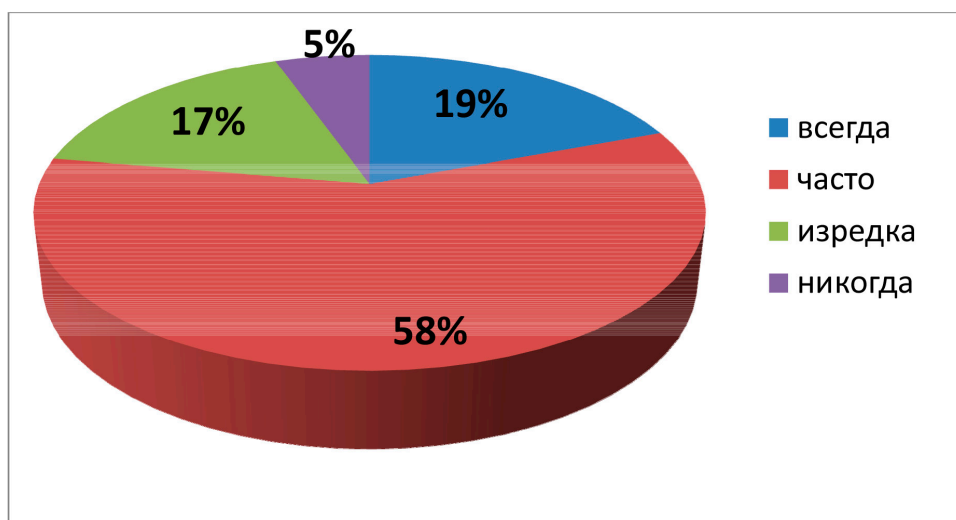
4. Какие правила гигиены следует соблюдать, чтобы избежать заражения инфекционными заболеваниями?

5. Всегда ли ты соблюдаешь правила гигиены?

- всегда
- часто
- изредка
- никогда

Приложение 2

Вопрос 1. Всегда ли Вы соблюдаете правила гигиены?



Вопрос 2. Как часто Вы моете руки?

