

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

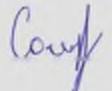
Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование
Профили подготовки Биология. Химия
Форма обучения очная

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
на тему:
**«ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ШКОЛЬНИКОВ»**

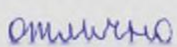
Студент  Долганова Марина Владимировна

Руководитель  Заплатин Б.П.

Нормоконтролер  Солдатов С.А.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 11.06.20 № 12)

Заведующий кафедрой  Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой 

(протокол заседания ГЭК от 29.06.20 № 2)

Секретарь ГЭК  Солдатов С.А.

Пенза, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Научно-исследовательская деятельность в организации работы в школе	7
1.2 Общая характеристика молочнокислых бактерий	10
1.3 Взаимодействие молочнокислых бактерий с другими видами микроорганизмов	12
1.4 Механизмы антагонистической активности микроорганизмов	16
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	18
2.1 Объекты исследования	18
2.1.1 Характеристика бактериальных заквасок.....	18
2.1.2 Характеристика молочнокислых бактерий	19
2.1.3 Характеристика тест-штаммов	20
2.2 Методы исследования.....	21
2.2.1 Приготовление питательных сред	21
2.2.2 Разведение бактериологических заквасок.....	22
2.2.3 Приготовление культур тест-штаммов	22
2.2.3 Методы определения антимикробной активности	23
2.2.4 Приготовление фиксированных препаратов	24
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ	25
3.1 Анализ роста молочнокислых бактерий на различных питательных средах	25
3.2 Изучение экологических взаимоотношений молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами	28
ГЛАВА 4. НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА ШКОЛЬНИКОВ ..	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	41

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	43
------------------------	----

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Микроорганизмы в современной биологии играют важнейшую роль – они являются модельным объектом для изучения самых общих свойств жизни. Вместе с тем, они имеют огромное практическое значение – так, например, молочнокислые бактерии нашли применение в пищевой промышленности при изготовлении кисломолочных продуктов, кислых спиртных напитков (кваса, белого пива), колбасных изделий, в хлебопечении, консервировании фруктов и овощей, сквашивании капусты [6].

Важную роль молочнокислые бактерии играют в сельском хозяйстве при консервировании кормов. Создание качественного корма, на основе молочнокислых бактерий, оказывает благоприятное влияние на здоровье и продуктивность сельскохозяйственных животных [14].

Областью применения этих бактерий является также медицина и фармакология. Молочнокислые бактерии применяются в виде препаратов, которые направлены на улучшение микрофлоры кишечника [6].

Так как, молочнокислые бактерии широко распространены в природе, то они имеют большое значение и в природных экосистемах. В природе молочнокислые бактерии обнаруживаются на поверхностях растений и на разлагающихся растительных остатках, в молоке, а также в кишечнике и на слизистых оболочках человека и животных [5].

Однако, несмотря на важнейшую научное, практическое и экологическое значение микроорганизмов, микробиология в основной школе представлена весьма фрагментарно.

Очевидно, что расширение и углубление сведений о микроорганизмах и их разнообразии, установление их влияний на организм человека, позволит школьникам получить более глубокое представление о биологии в целом и о мире микробов в частности. В качестве научно-исследовательской деятельности учащихся по биологии можно предложить исследования антимикробной активности молочнокислых бактерий.

Цель нашей бакалаврской работы состоит в разработке научно-исследовательского проекта для обучающихся по теме «Антимикробная активность молочнокислых бактерий».

Задачи:

1. Изучить научную литературу по выбранной теме исследования;
2. Определить среды для прорастания молочнокислых бактерий;
3. Оценить взаимодействие молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами, вообще, и антимикробную активность, в частности;
4. Разработать ход эксперимента в рамках написания научно-исследовательской работы по биологии.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Научно-исследовательская деятельность в организации работы в школе

Одной из главных задач, стоящих перед учителем, в настоящее время является обеспечение учащихся фундаментальными знаниями, развивая их самостоятельное творческое мышление. В рамках работы современной школы набирает обороты распространение научно-исследовательской деятельности учащихся.

Технология обучения, применяющая учебное исследование в качестве средства достижения образовательных задач, называется исследовательской деятельностью [9].

Под исследовательской деятельностью понимают совокупность рациональных действий учащихся по поиску решений исследовательской и творческой задачи, направленной на поиск информации и предусматривающий присутствие основных этапов: постановка проблемы, изучение теории, анализ методик исследования и практическое овладение ими, сбор материала, его анализ и обобщение, собственные выводы.

Внедрение в процесс обучения исследовательской деятельности изучалась такими известными педагогами и психологами, как И. Я. Лернер, П.И. Пидкасистый, А.М. Матюшкин, Б. Д. Богоявленская и другие [17].

Исследовательские умения являются составляющей частью исследовательской деятельности, которые определяются как совокупность всех умений и навыков учебной деятельности, необходимой для самостоятельного исследования.

Формировать исследовательские умения необходимо не только на уроках, но и во внеурочное время, позволяющее обучающимся интересующимся предметом, не ограничиваться рамками учебной

программы. Применение заданий, связанных с проведением наблюдений и опытов, развивает у учащихся исследовательские наклонности.

При подготовке к исследованию педагог осуществляет подбор условий, которые будут соответствовать уровню подготовки учащихся. Педагогу необходимо заинтересовать школьников проблемой и процессом исследования, направить их к источникам информации, организовать опытно-экспериментальные исследования, развивать творческое мышление учащихся.

С позиции учителя организация исследовательской деятельности учащихся является средством обучения и воспитания, которое позволяет вырабатывать и развивать специфические умения и навыки.

Исследовательскую деятельность обучающихся требует значительных ресурсных затрат – времени, материалов, оборудования, формирование специфических умений и навыков самостоятельной исследовательской деятельности можно проводить не только в процессе работы над проектом или исследованием, но и в рамках традиционных занятий поэлементно [16].

В процессе исследовательской деятельности учащиеся овладевают некоторыми навыками наблюдения, экспериментирования, сопоставления и обобщения фактов, делают определенные выводы. Необходимо создавать условия, способствующие возникновению у учащихся познавательной потребности в приобретении знаний и овладении способами их использования.

Любая исследовательская деятельность направлена на развитие творческого потенциала школьника. Эту деятельность следует рассматривать как совместный труд учителя и ученика по освоению нового и неизвестного, в ходе которой осуществляется передача опыта и ценностей [7].

Научная и исследовательская деятельность базируется на одних и тех же этапах, но цели преследуются разные. Так целью исследований в образовательной среде является развитие многогранной личности, а не получение новых результатов. На основе научно-исследовательской

деятельности у учащихся формируются способности к исследовательскому типу мышления и познавательная активность у школьника.

Научно-исследовательская деятельность может осуществляться через различные научные объединения школьников, которые носят исследовательскую направленность и различные исследовательские кружки.

Выделяют следующие виды НИР по организации деятельности:

- Научно-исследовательская работа в учебном процессе. Непосредственная работа выполняется непосредственно прямо на уроках, которые носят исследовательский характер;
- Организационно-массовые мероприятия (олимпиады, научно-практические конференции, круглые столы, игры);
- Научно-исследовательская работа во внеурочное время [27].

Классификация форм научно-исследовательских работ:

1. По количеству участников: индивидуальную и групповую.
2. По продолжительности: краткосрочные (от нескольких недель до нескольких месяцев) и долгосрочные (в течение года или даже нескольких лет).
3. По видам деятельности: реферативные, экспериментальные работы, описательные работы [18].

Научно-исследовательские работы можно предложить учащимся в рамках изучения науки микробиологии, так как в школьном курсе биологии у учащихся сформировываются знания о микроорганизмах, их разнообразии и влиянии на организм человека в недостаточном объеме. В 5-6 классах дается краткая характеристика бактерий и их роли в практической деятельности человека. В курсе 8 класса уделяется внимание микроорганизмам, вызывающим заболевания человека. В школьном курсе биологии старших классов представлены основные теоретические обобщения о строении клеток прокариот, процессах их жизнедеятельности, роли микроорганизмов в экосистемах [11].

1.2 Общая характеристика молочнокислых бактерий

Молочнокислые бактерии – это группа микроорганизмов, образующая молочную кислоту как основной конечный продукт сбраживания углеводов.

Молочнокислые бактерии неподвижные, неспорообразующие, положительно окрашенные по Граму. В молодых культурах некоторые штаммы образуют слизистую капсулу. По отношению к кислороду молочнокислые бактерии являются факультативными анаэробами или микроаэрофилами [4].

По форме молочнокислые бактерии представляют собой кокки сферической или эллипсоидной формы и палочки разной формы и длины. Форма и длина клеток у различных культур варьируется в зависимости от состава среды и способов культивирования [3].

В зависимости от типа молочнокислого брожения выделяют гомоферментативные и гетероферментативные молочнокислые бактерии.

Гомоферментативные молочнокислые бактерии являются факультативными анаэробами. Они включают в себя разные по морфологии группы – кокки, представленные родами *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* и палочковидные формы рода *Lactobacillus* [2].

Гетероферментативными молочнокислыми бактериями являются представители кокков – род *Leuconostoc*, некоторые палочковидные лактобациллы из родов *Streptobacterium* и *Lactobacillus*.

Семейство *Streptococcaceae* объединяет шаровидные молочнокислые бактерии, которые представлены родами – *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*.

Представители рода *Lactococcus* представляют собой сферические или овальные клетки диаметром 0,5-1,5 мкм, располагающиеся в виде отдельных одиночных клеток, попарно или короткими цепочками. Все представители этого рода являются мезофилами, для которых оптимальная температура прорастания составляет 30 °С, а минимальная температура –10 °С.

Типичным представителями рода *Lactococcus*:

– *Lac. lactis subsp. lactis* (молочный лактококк), клетки больше в длину чем в ширину, в молочном сгустке преобладает сочетание в виде диплококков.

– *Lac. lactis subsp. cremoris* (сливочный лактококк) образует длинные цепочки

– *Lac.lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* (биовариант молочного лактококка, образующий диацетил), может образовывать глубинные колонии в виде кусочков ваты.

Лактококки входят в состав заквасок для кисломолочных напитков, сметаны, творога, кислосливочного масла, сыров.

Представители рода *Leuconostoc* вызывают гетероферментативные брожение, образуя, кроме молочной кислоты, этанол, ацетоин, диацетил, бутиленгликоль, CO₂. Являются мезофильными микроорганизмами. В молоке по форме – сферические, образуют пары или цепочки. Рост осуществляется благодаря добавлению в среду витаминов, аминокислот, глюкозы.

Лейконостоки используются для в производстве кислосливочного масла, сыров, реже кисломолочных напитков, сметаны, творога.

Типичным представителем рода *Streptococcus* является *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (термофильный стрептококк). Его шарообразные клетки располагаются в виде длинных цепочек. Является термофильным видом, рост осуществляется в температурном пределе – 38-43 °С. На плотных средах представлен мелкими колониями с зернистой структурой [4].

Палочковидные молочнокислые бактерии относят к семейству *Lactobacillaceae*, роду *Lactobacillus*, который включает три подрода: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* и *Betabacterium* [6].

Термобактерии представляют собой облигатно – гомоферментативные молочнокислые палочки. Длина клетки составляет 3-8 мкм, могут образовывать цепочки. Растут при температуре 20-55 °С, оптимальная температура – 37-45 °С. Глубинные колонии могут быть темными, желтовато-

бурыми, иногда с короткими отходящими нитями. Поверхностные колонии более крупные и зернистые.

Наибольшего применения в промышленности достигли следующие виды: *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricum*, *Lactobacillus lactis*.

Стрептобактерии являются факультативно – гетероферментативные палочками. Палочки располагаются цепочками и растут при температуре 15-38 °С. Глубинные колонии стрептобактерий имеют лодочкообразную форму.

Чаще применяются в молочной промышленности следующие виды: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei subsp. casei*.

Клетки стрептобактерии мельче, чем клетки термобактерий, и часто располагаются в виде цепочек.

Бетабактерии являются облигатно – гетероферментативные палочками. Клетки очень мелки, объединенные в цепочки. Наиболее известны *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir* [8].

1.3 Взаимодействие молочнокислых бактерий с другими видами микроорганизмов

В природе существует несколько видов взаимоотношений микроорганизмов между собой: симбиоз, антагонизм, паразитизм [5].

Симбиоз характеризуется взаимной пользой для двух или более микроорганизмов при совместном развитии. Один микроорганизм вырабатывает вещества необходимые для жизни другого, а последний может употреблять продукты обмена и синтезировать вещества для первого. В понятие симбиоза входят также синергизм и комменсализм.

При синергизме два вида развиваясь в среде вызывают изменения, которые не возникают при развитии этих видов в отдельности.

При комменсализме один вид микроорганизмов живет за счет продуктов обмена другого, при этом не дает ничего другому виду.

При антагонизме один вид угнетает развитие или приводит к гибели другого.

Взаимоотношения между микроорганизмами зависят от состава среды, в которой развиваются микроорганизмы, температуры, соотношения между микроорганизмами и других факторов.

Взаимодействие молочнокислых бактерий с дрожжами:

Дрожжи принимают участие в производстве кисломолочных продуктов.

Создание кислой реакции среды молочнокислыми бактериями в процессе брожения является условием для роста и развития дрожжей. А последние в свою очередь насыщают витаминами среду, которые являются необходимыми для роста молочнокислых бактерий.

Взаимоотношения молочнокислых бактерий и дрожжей являются симбиотическими. Дрожжи стимулируют развитие молочнокислых бактерий, витаминизируют продукты, сбраживают лактозу и другие сахара, вырабатывая антибиотические вещества против патогенных микроорганизмов.

При изменении условий среды одна из групп микроорганизмов может приостанавливать процессы размножения и брожения другой. Проявляя антагонистические взаимоотношения молочнокислые бактерии разрушают дрожжевые клетки. Например, молочнокислые палочки при pH около 6 и в обедненных азотом средах подавляют развитие дрожжей [23].

Молочнокислые стрептококки также могут оказывать подавляющее действие на дрожжи. При культивировании закваски, состоящей из стрептококков и дрожжей, сбраживающих лактозу, последние полностью исчезали через 10 пересадок.

Взаимодействие молочнокислых бактерий с плесенью:

Взаимоотношения плесени (*Oidium lactis*) и молочнокислыми бактериями являются симбиотическими. Рост и развитие *Oidium lactis*

осуществляется за счет образования молочнокислыми бактериями кислой реакции среды [23].

Плесень вызывает протеолиз белков, повышает рН тем самым продлевает жизнеспособность молочнокислых бактерий при длительном культивировании [21].

Взаимодействие молочнокислых бактерий с уксуснокислыми бактериями:

При взаимодействии уксуснокислых и молочнокислых бактерий наблюдаются симбиотические взаимоотношения.

Молочнокислые бактерии вместе с уксуснокислыми снижают окислительно-восстановительный потенциал и, как следствие, не образуется диацетил.

Уксуснокислые бактерии синтезируют рибофлавин и никотиновую кислоту, которые являются необходимыми витаминами для роста и развития молочнокислых бактерий [25].

Взаимодействие молочнокислых, уксусных бактерий и дрожжей:

Дрожжи и уксуснокислые бактерии активизируют развитие молочно-кислых бактерий. При культивировании кефирных грибков уксуснокислые бактерии и дрожжи составляют микро-флору закваски и не исчезает полностью. Они образуют общую колонию, которую сложно разделить при плотные питательные среды с низким значением рН.

Взаимодействие молочнокислых бактерий с гнилостными бактериями:

Молочнокислые бактерии, содержащиеся в кисломолочных продуктах, обладают чувствительностью к группе гнилостных бактерий. Возможность размножения споровых микроорганизмов в пастеризованном молоке мала, основную микрофлору составляют молочнокислые бактерии, потому что споры первых находятся в неблагоприятных условиях. А при возникновении благоприятных условий гнилостные бактерии начинают интенсивно размножаться.

Факультативно-аэробные бесспорные гнилостные бактерии *Proteus vulgaris* взаимодействуя с молочнокислыми бактериями в молоке повышают его кислотность, а затем снижают в результате накопления щелочных продуктов. При пастеризации молока *Proteus vulgaris* погибают.

Аэробные споровые бактерии *Bac. subtilis* (сенная палочка), *Bac. mesentericus* (картофельная палочка), *Bac. mycoides*, *Bac. megatherium* и другие способны быстро развиваться в молоке, активно разлагая белки. Сначала происходит образование сгустка и после чего наступает пептонизация молока.

Взаимодействие молочнокислых бактерий с кишечной палочкой:

E. coli (кишечная палочка) может не только задерживать, но и ускорять рост молочнокислых бактерий. В свою очередь, последние могут оказывать на кишечную палочку как угнетающее, так и стимулирующее влияние [25].

В фильтрах культуральной жидкости *E. coli* содержатся термолабильные вещества, которые угнетают молочнокислые палочки, такие как ацидофильную и болгарскую.

В фильтрах культур *Lactobacillus acidophilus* содержатся термостабильные вещества, которые задерживают развитие *E. coli*. Характер и сила воздействия фильтратов зависит от состава среды. Например, при разведении ацидофильной палочки в гидролизованном молоке рост кишечной палочки угнетался, а в МПБ наоборот происходила стимуляция роста.

Штаммы мезофильных молочнокислых стрептококков оказывают разное влияние на *E. coli*. Например, *Str. cremoris* является сильным антагонистом по отношению к кишечным палочкам. А *Str. lactis* проявляет как угнетающее, так и стимулирующее влияние на развитие *E. coli*.

Количество кишечной палочки в кисломолочных продуктах может как увеличиваться, так и уменьшаться при изменении условий среды [23].

Взаимодействия молочнокислых бактерий друг с другом:

Взаимоотношения между молочнокислыми бактериями могут быть как симбиотическими, так и антагонистическими. Также характер

взаимоотношений между молочнокислыми бактериями может изменяться из-за состава среды и условий культивирования.

При совместном развитии болгарской палочки и термофильного стрептококка скорость образования молочной кислоты выше, чем при развитии каждой культуры в отдельности. Так как молочнокислые стрептококки обладают более высокой скоростью роста, то они снижают окислительно-восстановительный потенциал среды, что благоприятно сказывается для развития молочнокислых палочек. Последние в свою очередь обладают более высокой протеолитической активностью и накапливают аминокислоты, которые необходимые для развития первых [2].

1.4 Механизмы антагонистической активности микроорганизмов

Антимикробная активность взаимоотношений объясняется выработкой веществ различной природы: органические кислоты, перекись водорода, ферменты, антибиотики.

Определение способности микроорганизмов управлять антимикробной активностью бактерий можно объяснить изучением механизма межмикробных взаимодействий, а также формирования и функционирования микробиоценозов [22].

Уровень антагонистической активности штаммов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов определяют по зонам ингибирования тест-штаммов [13].

Антагонистическое действие молочнокислых бактерий связано с продуктами их жизнедеятельности и может быть направлено как на патогенные, так и непатогенные микроорганизмы.

Антагонистическая активность молочнокислых бактерий обусловлена действием специфических и неспецифических факторов. К неспецифическим факторам относятся: образование молочной, уксусной кислот, создание низкого окислительно-восстановительного потенциала за счет утилизации

кислорода, конкуренция за питательные вещества. Специфическими факторами являются: образование антибиотиков, бактериоцинов, жирных кислот с короткой цепью [10].

Существенную роль играет видовая принадлежность совместно развивающихся микроорганизмов.

В работах Зиминной М.И. и Кулиева А.А. были изучены механизмы антагонистической активности молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* по отношению к *E.Coli*. Была установлена и изучена антимикробная активность молочнокислых бактерий по отношению к патогенным микроорганизмам [12,15].

Разнообразие взаимоотношений молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами обусловлены условиями среды обитания и могут подвергаться изменениям в процессе развития микроорганизмов.

Изучение взаимодействий молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами могут быть интересны школьникам при написании научно-исследовательской работы.

Исходя из изученной литературы, объектом исследований мы выбрали молочнокислые бактерии родов *Lactococcus* и *Streptococcus*. Сведений о проявлении антимикробной активности молочнокислых бактерий этих родов в литературе изучены недостаточно.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

2.1.1 Характеристика бактериальных заквасок

Объектами исследования послужили живые молочнокислые бактерии, полученные из бактериальных заквасок следующих наименований: «Скваска для домашнего кефира», «Скваска для домашней ряженки», «Скваска для домашней сметаны». Производителем которых является ООО «Каприна», Россия [24]. Характеристика заквасок, согласно данным производителя, представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика заквасок

Название закваски	«Скваска для домашнего кефира»	«Скваска для домашней ряженки»	«Скваска для домашней сметаны»
Состав	мезофильные лактобактерии: <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>biovar diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> ; дрожжи: <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	термофильные лактобактерии <i>Streptococcus thermophilus</i>	мезофильных лактобактерий: <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>biovar diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> .
Концентрация	не менее 10 ⁹ КОЕ/г	не менее 10 ⁹ КОЕ/г	не менее 10 ⁹ КОЕ/г
Внешняя характеристика	порошок бело-кремового цвета	порошок бело-кремового цвета	порошок бело-кремового цвета

2.1.2 Характеристика молочнокислых бактерий

Были использованы и исследованы шаровидные молочнокислые бактерии относятся к семейству *Streptococcaceae*, объединяющему роды *Lactococcus*, *Streptococcus* и *Leuconostoc* [1].

Молочнокислые стрептококки, содержащиеся в образце ряженки:

Streptococcus thermophilus являются термофильными организмами, шаровидные или овальные клетки которых достигают размеров до 0,5-2 мкм в диаметре. Располагаются короткими цепочками или попарно. Молочнокислые стрептококки неподвижны, спор не образуют, по Граму положительно окрашиваются.

На питательной среде образуют нежные полупрозрачные, четко очерченные колонии около 1 мм в диаметре, иногда они могут быть плоскими с центральным углублением.

Рост осуществляется в интервале температур от 25 до 45 °С; оптимальной температурой считается 37 °С. Растут на сложных питательных средах, насыщенными углеводами [8].

Молочнокислые бактерии, содержащиеся в кефире и сметане:

Lactococcus lactis subspecies lactis (молочнокислый стрептококк, сокращенно *Lac. lactis*). Клетки шаровидные или овальные, их размер достигает 0,5-1,5 мкм, соединенные попарно (диплококки) или в виде коротких цепочек. Оптимальная температура развития составляет 28-32° С. Рост не осуществляется на средах, содержащих 6,5% NaCl с pH 9,5 [1].

Lactococcus lactis ssp. cremoris (сливочный стрептококк – *Lac. cremoris*). Клетки шаровидные, располагаются в виде коротких и длинных цепочек. Оптимальная температура роста 25-30 °С. Рост не осуществляется на средах с 4% NaCl с pH 9,5.

Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis (ароматобразующий стрептококк – *Lac. diacetylactis*). Клетки расположены чаще всего в виде диплококков и коротких цепочек. Оптимальная температура роста 25-30 °С.

Leuconostoc mesenteroides ssp. *cremoris* (*Leuc. cremoris*). Клетки шаровидные или линзовидные размером 0,5-0,7 мкм, соединены попарно или в короткие цепочки. Оптимальная температура роста составляет 22-25 °С, минимальная – около 5 °С. Рост не осуществляется при pH до 5,0 [4].

2.1.3 Характеристика тест-штаммов

В качестве тест-штамма 1 был использован вид спорообразующих аэробных почвенных бактерий – сенная палочка *Bacillus subtilis*. Для выделения штамма использовался препарат Фитоспорин-М, представленный в виде порошка на основе штамма 26Д *Bacillus subtilis*. Титр живых клеток в препарате содержит не менее 2 млрд/г сенной палочки. Производителем препарата является ООО «НВП «БашИнком» г. Уфа [20].

Bacillus subtilis – прямые палочки с закругленными концами, иногда располагаются короткими цепочками, окраска грамположительная, в молодых культурах подвижны. Размеры клеток 0,6-3 мкм. Образует эндоспоры, располагающиеся центрально, причем диаметр спор превышает диаметр клетки. Колонии на средах серо-белого цвета, сухие. Оптимальная температура роста составляет 37°C, температурный диапазон – от 5 до 55 °С [4].

В качестве тест-штамма 2 использовалась кишечная палочка *Escherichia coli*. Для выделения штамма использовался препарат Бификол, состоящий не менее чем из 10^7 живых клеток штамма кишечной палочки и не менее 10^7 живых клеток штамма бифидобактерий. Производителем препарата является ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, г. Нижний Новгород [22].

Escherichia coli – мелкие палочки размером 1,0-3 мкм, одиночные или в парах, окраска грамотрицательная, подвижные, спор и капсул не образуют. Оптимальная температура роста составляет 37-39 °С. На средах образует бесцветные, блестящие, слегка слизистые колонии с гладкой поверхностью и ровными краями [6].

2.2 Методы исследования

2.2.1 Приготовление питательных сред

Для выделения молочнокислых бактерий использовались питательные среды, способствующие их росту. В качестве питательных сред применялись – среда MRS и среда с гидролизированным молоком (по Богданову)

Для приготовления среды MRS потребовалось:

- пептон – 5 г;
- мясной экстракт – 5 г;
- дрожжевой экстракт – 2,5 г;
- глюкоза – 10 г;
- твин 80 – 0,5 см³;
- фосфат калия однозамещенный – 1 г;
- ацетат натрия тригидрат – 2,5 г;
- диаммоний цитрат – 1 г;
- сернокислый магний – 0,1 г;
- сернокислый марганец – 0,025 г;
- агар – 7,5 г;
- дистиллированная вода – 500 см³.

Все компоненты (кроме твина 80) вносили в коническую колбу, перемешивали и нагревали до полного растворения. После добавили 0,5 см³ твин 80. Охлаждали до температуры 52°C и устанавливали pH таким образом, чтобы после стерилизации pH составлял 5,4 при температуре 25°C. Выдерживали среду в автоклаве при температуре 12°C в течение 30 мин.

Готовую среду разливали в простерилизованные чашки Петри [6].

Для приготовления среды с гидролизированным молоком потребовалось:

- молоко 0,05% жирности – 300 мл;
- агар – 6 г;

– порошок панкреатина – 0,3 г;

– хлороформ – 1,5 мл;

Обезжиренное молоко прокипятили в течение 20 минут, после охлаждали до температуры 45°C, при этом pH составляло 7,6.

К 300 см³ охлажденного молока добавили 0,3 г – порошка панкреатина и 1,5 см³ хлороформа. В течение первых 3 ч молоко несколько раз перемешивали, пробку после встряхивания снимали для удаления паров хлороформа. Выдерживали в термостате при температуре 40°C в течение 3 суток. Жидкость фильтровали через складчатый фильтр и разбавляли в 2 раза дистиллированной водой, при этом pH довели до 7. В гидролизованное молоко добавляли агар, растапливали на водяной бане и автоклавировали при температуре при 121°C в течение 30 минут [26].

Готовую среду разливали в простерилизованные чашки Петри и дожидались ее полного застывания.

2.2.2 Разведение бактериологических заквасок

Бактериологические закваски молочнокислых продуктов массой 0,6 г добавляли в стакан с 200 мл дистиллированной водой при комнатной температуре, перемешивали и оставляли на 30 минут для активации молочнокислых бактерий.

2.2.3 Приготовление культур тест-штаммов

При приготовлении культуры сенной палочки взяли 0,6 г препарата Фитоспорин растворили в 200 мл дистиллированной воды, оставили на 4 часа для активации штамма. Методика выполнения была определена в соответствии с инструкцией на препарате.

Для выделения культуры кишечной палочки из препарата Бификол, следует использовать среду Эндо. Среда Эндо содержит МПА, лактозу,

фуксин и натрия сульфит. Штаммы кишечной палочки на среде Эндо образуют темно-красные колонии с металлическим блеском [6].

2.2.3 Методы определения антимикробной активности

Для определения антимикробной активности молочнокислых бактерий используем диффузионные методы, а именно метод перпендикулярных штрихов.

Метод перпендикулярных штрихов основан на диффузии штаммов молочнокислых бактерий в толщу агаровой среды, содержащей тест-культуру, и подавления роста последней [13].

Разливали расплавленные на кипящей водяной бане стерильные питательные среды по стерильным чашкам Петри. Застывание питательных сред происходит в течение 20-30 минут.

После согласно методу перпендикулярных штрихов, на поверхность агаровой среды в чашке Петри помещали каплю накопительной культуры и стерильной бактериальной петлей распределяли штрихом по поверхности. Инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 2 часов для образования и диффузии в агар ингибиторных соединений. Затем перпендикулярно от края чашки к штриху выросшей культуры молочнокислых бактерий подсаживали экспоненциальную культуру тест-штамма (например, *Bacillus subtilis*). Чашку вновь инкубируют в течение 36 часов [12].

О наличии степени антимикробной активности у испытуемых молочнокислых бактерий судят по величине зоны ингибирования тест-штамма на границе со штрихом роста молочнокислых бактерий [13].

Для оценки антагонистического действия штаммов молочнокислых бактерий, выделяемого этим методом, нужно учитывать, что он даёт преимущество штаммам, которые продуцируют ингибиторные соединения небольшой молекулярной массы, быстрее диффундируют в толщу агарового

слоя и, следовательно, дают обширные зоны ингибирования роста тест - культуры.

2.2.4 Приготовление фиксированных препаратов

Для микроскопического исследования морфологии молочнокислых бактерий и тест-штаммов готовили фиксированные окрашенные препараты.

На предметное стекло, которое предварительно обезжиренное спиртом, помещали маленькую каплю дистиллированной воды. Стерильную бактериологическую петлю вводили в небольшое количество сгустка и размазывали его по поверхности предметного стекла тонким слоем на площади 1-2 см. Высушивали препарат высоко над пламенем спиртовки, при этом держали стекло с мазком вверх [3].

Фиксированный препарат помещали на параллельные стеклянные палочки, лежащие над лотком, наносили на него раствор красителя и выдерживали в нем в течение 1-3 мин. Следили за тем, чтобы во время окрашивания краситель на мазке не подсыхал, и в случае необходимости добавляли новую порцию красителя.

Для исследования строения клеток микроорганизмов фиксирующую жидкость – метиленовый синий, который наливали на мазок, при этом убирая излишки воды с помощью фильтровальной бумаги. Метиленовый синий интенсивно связывается с ядерными компонентами клетки.

Затем препарат высушивали на воздухе или осторожно промокали фильтровальной бумагой, далее осуществляли микроскопию, предназначенную для оценки формы и размеров микроорганизмов [6].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Анализ роста молочнокислых бактерий на различных питательных средах

На следующие питательные среды: гидролизованное молоко (по Богданову) и подкисленную среду MRS был осуществлен посев штаммов молочнокислых бактерий полученных бактериологических заквасок «Скваска для ряженки», «Скваска для кефира», «Скваска для сметаны». Время инкубации молочнокислых бактерий составило 36 часов.

При помощи метода микроскопирования определяли морфологические признаки молочнокислых бактерий на подкисленной среде MRS и гидролизованном молоке (по Богданову).

Подкисленная среда MRS:

В бактериальной закваске «Скваска для домашней ряженки» обнаружены молочнокислые бактерии *Streptococcus thermophilus*. Форма клеток – шаровидная. Расположены отдельными одиночными клетками, либо парами.



Рисунок 1. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для домашней ряженки» на подкисленной среде MRS. Окраска метиленовой синью

В бактериальной закваске «Скваска для домашнего кефира» обнаружили представителей рода *Lactococcus*. Клетки сферические или овальные формы, расположены одиночно.

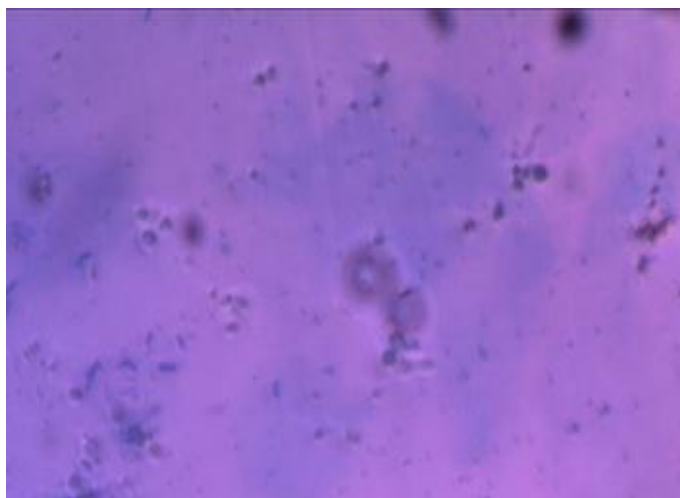


Рисунок 2. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для домашнего кефира» на подкисленной среде MRS. Окраска метиленовой синью

В бактериальной закваске «Скваска для домашней сметаны» обнаружили представителей родов *Lactococcus* и *Leuconostoc*. Достаточно большое количество клеток, объединяющихся попарно, либо в виде коротких цепочек.

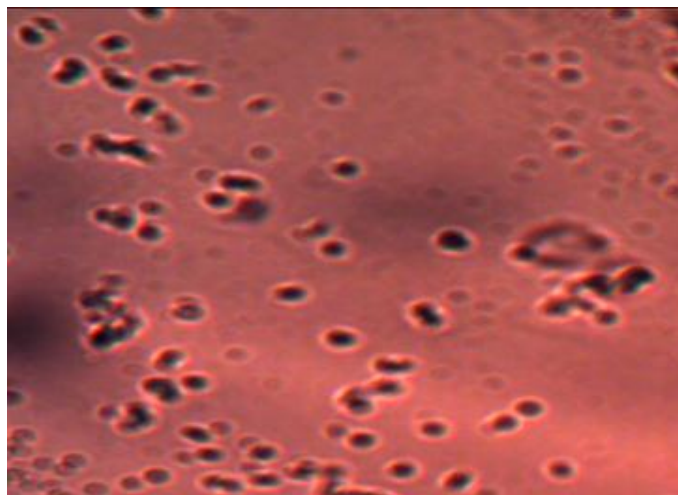


Рисунок 3. Микрофлора бактериальной закваске «Скваска для домашней сметаны» на подкисленной среде MRS. Окраска метиленовой синью

Среда гидролизованное молоко (по Богданову):

Молочнокислые бактерии *Streptococcus thermophilus*. Форма – шаровидная, встречаются овальные формы. Расположены отдельными одиночными клетками, либо парами.

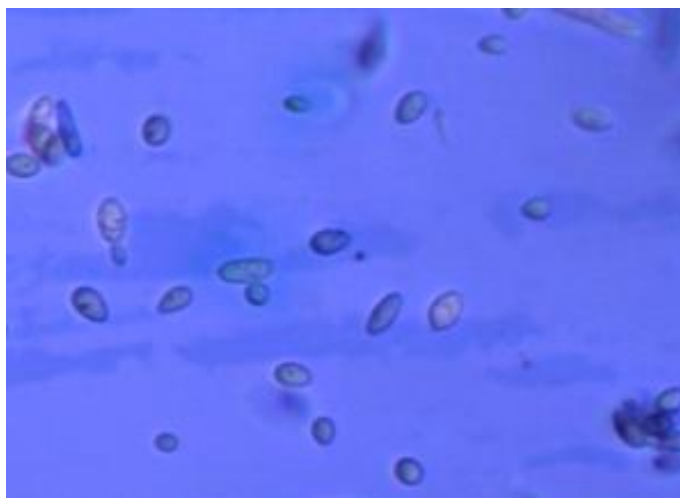


Рисунок 4. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для домашней ряженки» на гидролизованном молоке (по Богданову). Окраска метиленовой синью

В бактериальной закваске «Скваска для домашнего кефира» обнаружили представителей рода *Lactococcus*. Форма – сферическая, располагаются одиночно.

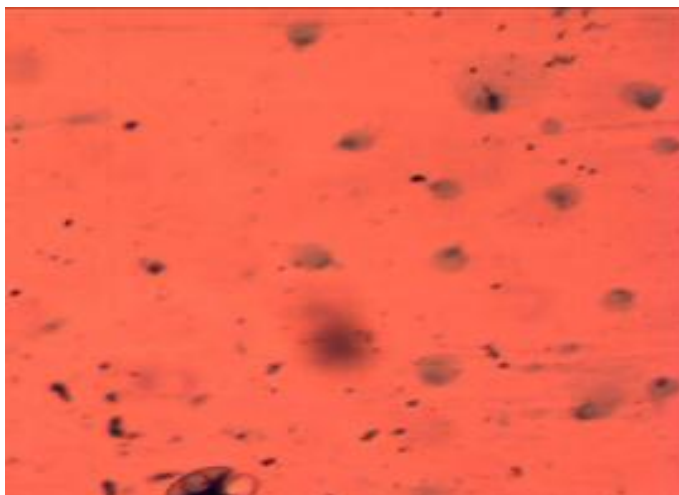


Рисунок 5. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для домашнего кефира» на гидролизованном молоке (по Богданову). Окраска метиленовой синью

В бактериальной закваске «Скваска для домашней сметаны» обнаружили представителей родов *Lactococcus* и *Leuconostoc* шаровидной формы, расположены одиночно.

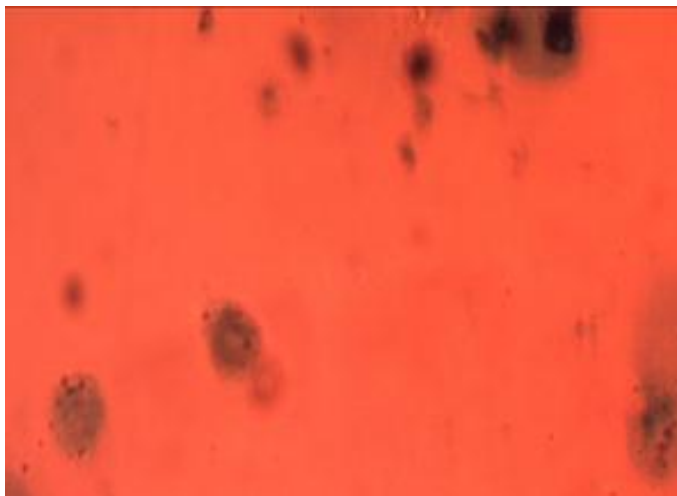


Рисунок 6. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для домашней сметаны» на гидролизованном молоке (по Богданову). Окраска метиленовой синью

Проведя микроскопирование, мы обнаружили, что в каждой из изученных бактериологических заквасок состав, заявленный производителем, подтверждается.

3.2 Изучение экологических взаимоотношений молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами

В работе были исследованы бактериологические закваски для приготовления молочнокислых продуктов, содержащие молочнокислые бактерии родов *Enterococcus* и *Lactococcus*, на антимикробную активность против тест-штамма *Bacillus subtilis*. Использовался метод перпендикулярных штрихов.

На питательные среды произвели посев разведенных в воде молочнокислых бактерий.

Определение антагонистической активности методом штрихов на среде MRS:

Посев на среду бактериологической закваски «Скваска для приготовления домашней ряженки» показал, что:

Прорастание *Streptococcus thermophilus* имеет вид крупных одиночных колоний. Рост колоний умеренный, напоминающий цепочки изолированных колоний, по форме колонии округлые, поверхность их гладкая, по профилю – плоские. Колонии имеют белый цвет, обладают блеском.

Колонии *Bacillus subtilis* на этой же среде представлены бесцветными мелкозернистыми колониями.

Зон подавления роста теми или другими микроорганизмами обнаружено не было.

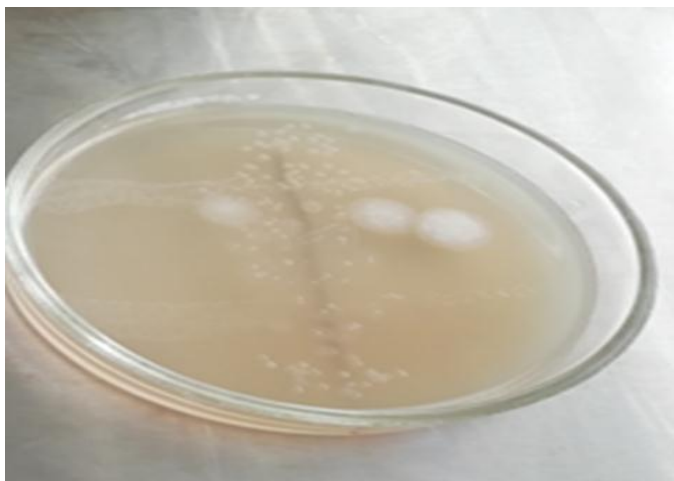


Рисунок 7. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней ряженки» и *Bacillus subtilis* на среде MRS

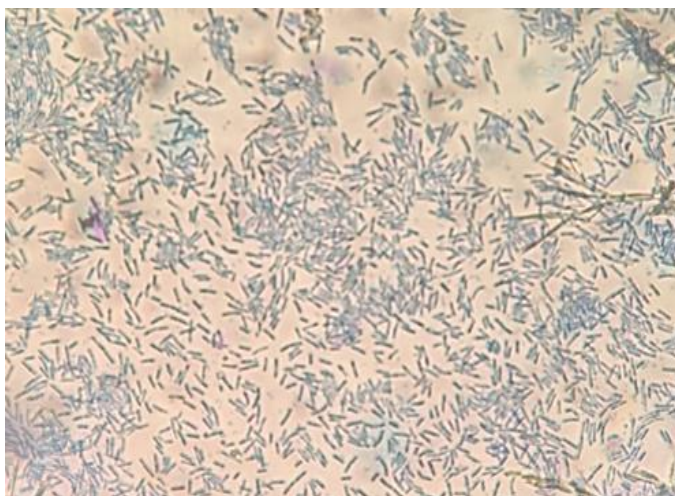


Рисунок 8. Микрофлора *Bacillus subtilis* на среде MRS

Посев на среду бактериологической закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира» показал, что:

Молочнокислые бактерии на поверхности питательных среды образовали сплошной газон белого цвета. Молочнокислые бактерии подавляют рост *Bacillus subtilis*.



Рисунок 9. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира» и *Bacillus subtilis* на среде MRS

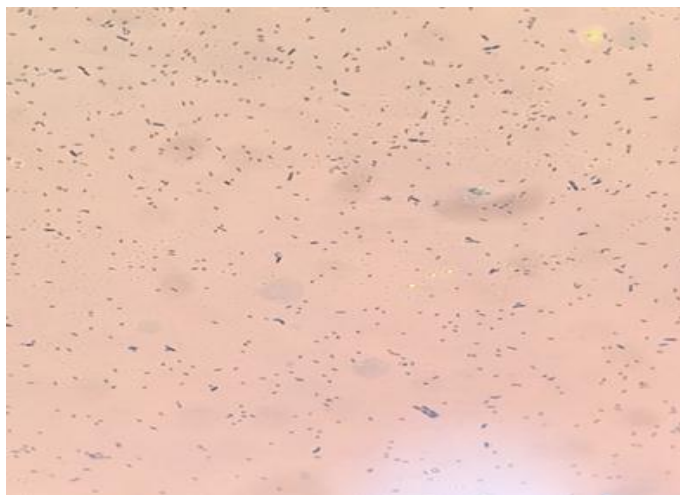


Рисунок 10. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира». Окраска метиленовой синью

Посев на среду бактериологической закваски “Скваска для приготовления домашней сметаны” показал, что:

Молочнокислые бактерии на среде образуют скудные мелкие колонии. Прорастания сенной палочки не наблюдается.

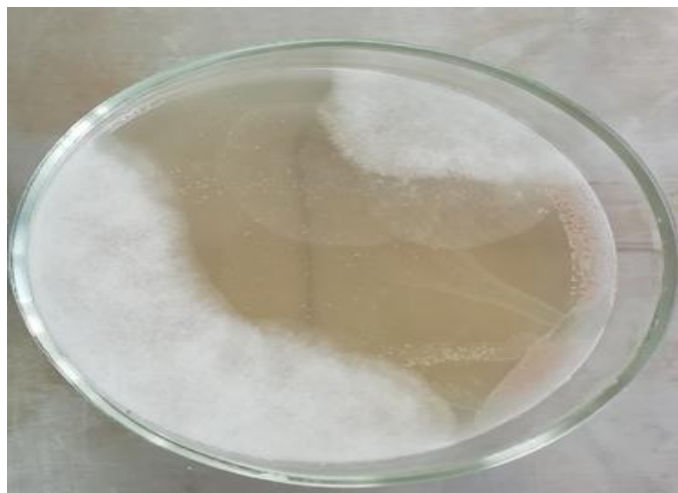


*Рисунок 11. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней сметаны» и *Bacillus subtilis* на среде MRS*



Рисунок 12. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней сметаны». Окраска метиленовой синью

Определение антагонистической активности молочнокислых бактерий методом штрихов на среде гидролизованное молоко (по Богданову):

Посев на среду бактериологической закваски «Скваска для приготовления домашней ряженки» показал, что:

По размеру колонии молочнокислых бактерий мелкие, округлой формы, с гладкой поверхностью, по профилю – плоские. Колонии имеют белый цвет, обладают блеском.

Сенная палочка на среде не проросла.



*Рисунок 13. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней ряженки» и *Bacillus subtilis* на среде гидролизованное молоко (по Богданову)*

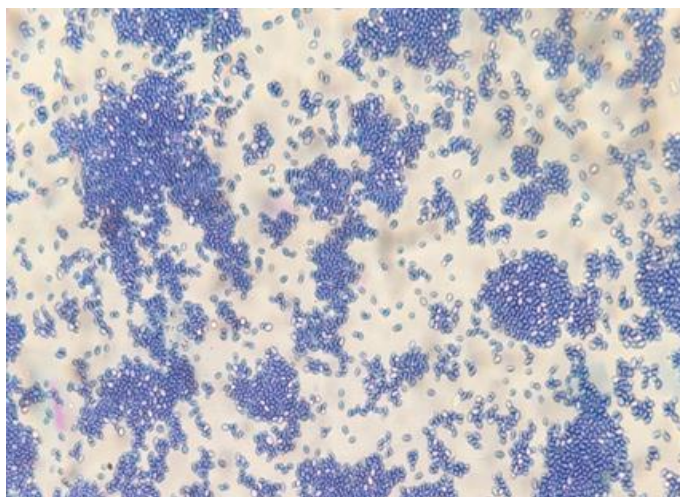


Рисунок 14. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней ряженки». Окраска метиленовой синью

Посев на среду бактериологической закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира» показал, что:

Молочнокислые бактерии по размеру мелкие, округлой формы, с гладкой поверхностью, по профилю – плоские. Колонии имеют белый цвет, обладают блеском. Сенная палочка на среде не проросла.



*Рисунок 15. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира» и *Bacillus subtilis* на среде гидролизованное молоко (по Богданову)*

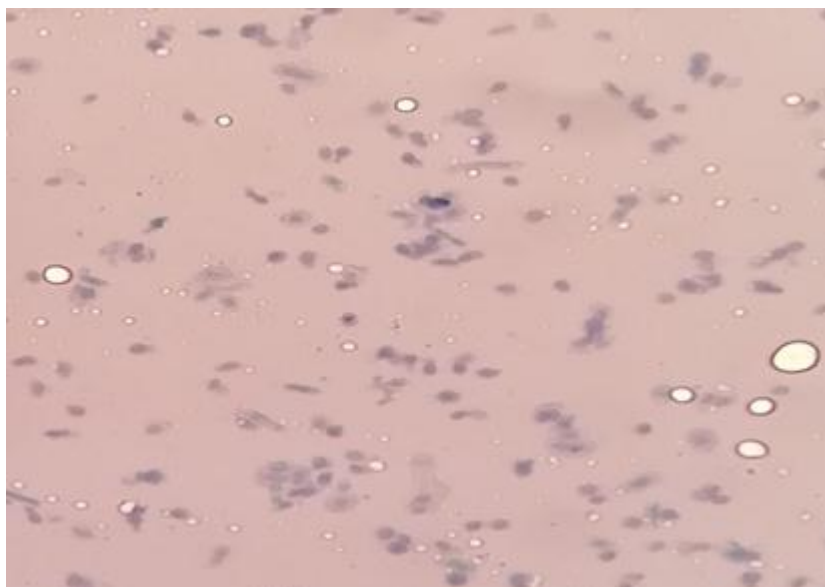


Рисунок 16. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашнего кефира». Окраска метиленовой синью

Посев на среду бактериологической закваски «Скваска для приготовления домашней сметаны» показал, что:

Молочнокислые бактерии плохо проросли на среде, образовали скудные мелкие колонии. Сенная палочка на среде не проросла.

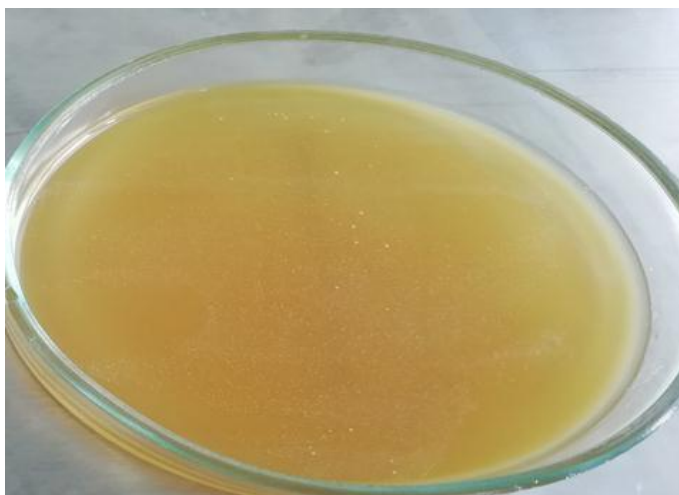


*Рисунок 17. Посев методом перпендикулярных штрихов бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней сметаны» и *Bacillus subtilis* на среде гидролизованное молоко (по Богданову)*

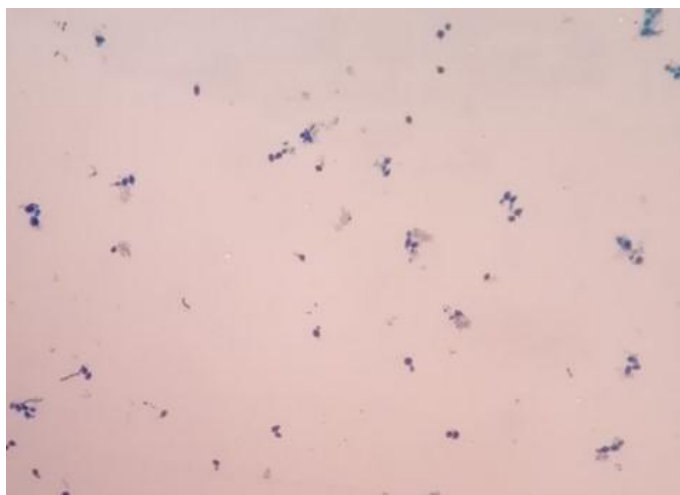


Рисунок 18. Микрофлора бактериальной закваски «Скваска для приготовления домашней сметаны». Окраска метиленовой синью

Развитие плесени в чашках Петри может вызвано нарушением условий хранения в термостате при выращивании культур, а также возможностью загрязнения при посеве микроорганизмов на среду.

В целом, мы можем сказать, что наилучший рост молочнокислых бактерий среде MRS мы обнаружили у бактериальных заквасок «Скваска для домашней ряженки», «Скваска для домашнего кефира». У препарата «Скваска для домашней сметаны» на этой среде наблюдается минимальное прорастание.

На гидролизованном молоке (по Богданову) молочнокислые бактерии прорастают хуже, чем на среде MRS. Таким образом, подтверждаются литературные данные о том, что питательная среда MRS благоприятна роста и развития молочнокислых бактерий, а среда с гидролизovanным молоком (по Богданову) не способствует росту *Bacillus subtilis*.

Различия в росте микроорганизмов на разных средах объясняются неодинаковым составом этих средств. Среда MRS разрабатывалась как селективная среда для молочнокислых бактерий. В составе содержит мясной экстракт, который способствует росту и развитию молочнокислых бактерий.

Плохой рост колоний молочнокислых бактерий, полученных из «Скваски для домашней сметаны» на MRS, возможно, объясняется несоблюдением температурного режима для прорастания для мезофильных лактобактерий.

Метод перпендикулярных штрихов показал, что *Bacillus subtilis* не проявляет конкурентных отношений по отношению к молочнокислым бактериям.

Проведение эксперимента с *E. coli* является следующей задачей нашего эксперимента. По литературным данным молочнокислые бактерии обладает антимикробной активностью к *E. coli*.

ГЛАВА 4. НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА ШКОЛЬНИКОВ

Данная научно-исследовательская работа предлагается для учащихся старших классов, в рамках расширения знаний по микробиологии. Эта работа предполагает использовать безопасные микроорганизмы, не являющиеся патогенными. В качестве источников бактериальных культур можно использовать лекарственные препараты, различные кулинарные закваски, удобрения, которые можно без труда приобрести в аптеках или магазинах.

Если кабинет не обеспечен термостатом, то вместо него можно предложить использовать инкубатор, йогуртницу и т.п., которые обладают способностью поддержания температуры.

При приготовлении среды для ее стерилизации можно использовать стерилизацию паром, либо использовать скороварку, обеспечивающую более высокую температуру.

Таким образом, для выполнения данной работы достаточно оборудования школьного кабинета биологии. Микробиологические препараты безопасны и легко доступны.

Образовательные назначение работы состоит в том, чтобы учащиеся приобрели практические навыки работы с микроорганизмами и познакомились с методикой проведения эксперимента. В рамках работы, учащиеся самостоятельно приобретают необходимые знания и применяют их на практике. Научно-исследовательская деятельность является перспективным методом развития ключевых образовательных компетенций учащихся.

Ниже мы предлагаем методику проведения научно-исследовательской работы по нашей теме.

Научно-исследовательская работа по теме «Антимикробная активность молочнокислых бактерий»

Цель: изучить антимикробную активность молочнокислых бактерий к патогенным микроорганизмам.

Материалы и оборудование: бактериологические закваски молочнокислых бактерий «Скваска для домашнего кефира», «Скваска для домашней ряженки», «Скваска для домашней сметаны», тест – штаммы микроорганизмов: кишечная и сенная палочка, питательная среды: MRS и гидролизованное молоко (по Богданову), метиленовая синь, дистиллированная вода, химические колбы, химические стаканы, чашки Петри, предметные стекла, покровные стекла, спиртовки, бактериологические петли, пипетки, спиртовка, спирт, фильтровальная бумага, водяная баня, термостат, микроскоп.

Ход работы:

Предварительный этап:

1. Осуществить стерилизацию чашек Петри, колб и химических стаканов.
2. Приготовить питательные среды.
3. Развести бактериальные закваски и препараты тест-штаммов в дистиллированной воде для активации микроорганизмов.
4. Подписать чашки Петри с указанием названия среды, наименования бактериологической закваски, дату посева и фамилию исследователя.

Основной этап:

1. Колбу со стерильной питательной средой растопить на водяной бане до полного растворения.
2. Горячую питательную среду разлить по 5 мл в стерильные чашки Петри, дожидаясь полного застывания.
3. Бактериологическую петлю протереть спиртом, прокалить в пламени спиртовки, остудить и погрузить в стакан с бактериологической закваской, другой рукой приоткрывать крышку чашки Петри и

провести штрихом по поверхности среды. Вынимаем петлю из чашки Петри и быстро закрываем ее.

4. Чашки Петри инкубируют при температуре 37°C в течение 2 часов для образования и диффузии в агар ингибиторных соединений.
5. Повторяем операцию пункта 3 с разведенными культурами патогенных микроорганизмов, проводя штрих перпендикулярно штриху с инкубированными молочнокислыми бактериями.
6. Чашки Петри ставим в термостат и инкубируем при температуре 37 0C в течение 36 часов. При этом каждый день осуществляем контроль над прорастанием микроорганизмов.
7. Устанавливаем наличие или отсутствие степени антимикробной активности молочнокислых бактерий к патогенным микроорганизмам. Измеряем размер зоны ингибирования.
8. Заполняем таблицу: наличие или отсутствие зоны ингибирования у молочнокислых бактерий. И указываем размер зоны ингибирования.

Закваска	<i>E.coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Ряженка		
Кефир		
Сметана		
<p>Примечание: наличие зоны ингибирования: + отсутствие зоны ингибирования: —</p>		

9. Приготовить фиксированный препарат с места пересечения штаммов молочнокислых бактерий и штаммов микроорганизмов.

- 9.1. С помощью пипетки набрать дистиллированную воду и поместить на предметное стекло каплю воды.
- 9.2. Бактериологическую петлю протереть спиртом, прокалить в пламени спиртовки и собрать с места пересечения штаммов молочнокислых бактерий и штаммов патогенных микроорганизмов небольшое количество сгустка.
- 9.3. Размазать сгусток по поверхности предметного стекла тонким слоем на площади 1-2 см.
- 9.4. Высушить препарат высоко над пламенем спиртовки, при этом держать стекло с мазком вверх.
- 9.5. Поместить фиксированный препарат на параллельные стеклянные палочки и окрашивать метиленовым синим в течение 1-3 минут.
- 9.6. Удалить фильтровальной бумагой излишки красителя и воды.
- 9.7. Высушить препарат на воздухе.
- 9.8. Микроскопировать препарат.
10. Зарисовать микропрепарат с полученными микроорганизмами.
12. Оформить вывод по работе.

Предполагаемый вывод по работе: была изучена антимикробная активность молочнокислых бактерий, содержащихся в бактериологических заквасках «Скваска для домашнего кефира», «Скваска для домашней ряженки», «Скваска для домашней сметаны» по отношению к тест-штаммам микроорганизмов *Bacillus subtilis* и *E.coli* методом перпендикулярных штрихов. Предполагается, что *Bacillus subtilis* не проявляет конкурентных отношений по отношению к молочнокислым бактериям. Молочнокислые бактерии по отношению к *E.coli* будут проявлять антимикробную активность.

Практическая значимость научно-исследовательской работы состоит в том, что проявление антимикробной активности молочнокислых бактерий к другим микроорганизмам способствует применению молочнокислых бактерий в медицинских целях. Методика выполнения эксперимента может применяться и к другим видам непатогенных микроорганизмов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Молочнокислые бактерии имеют важное практическое применение в жизнедеятельности человека.

Прорастание молочнокислых бактерий во многом зависит от состава питательных сред. На многокомпонентных средах, в состав которых входят мясной и дрожжевой экстракты и соли аммония, рост молочнокислых бактерий идет с большей интенсивностью. В ходе исследования молочнокислые бактерии, содержащихся в заквасках, проросли лучше на подкисленной среде MRS, чем на среде с гидролизованным молоком (по Богданову). Однако, приготовление среды MRS довольно трудоемко, поэтому для школы следует искать более простые среды.

Состав среды, температура, количественное соотношение между микроорганизмами определяют типы взаимоотношений между бактериями. Это обстоятельство открывает широкие возможности для самых разнообразных научно-исследовательских работ.

В нашей работе, при изучении взаимодействия молочнокислых бактерий, содержащихся в бактериологических заквасках, с *Bacillus subtilis* мы пришли к выводу, что изучаемые виды бактерий не конкурируют и не подавляют рост и развитие друг друга. Следовательно, эти виды прокаротиот можно использовать в препаратах совместного действия, например, в бактериальных удобрениях.

При взаимодействии молочнокислых бактерий с другими микроорганизмами, такими как *E.coli* может проявляться антимикробная активность молочнокислых бактерий, что имеет большое значение при создании пробиотиков и препаратов восстановления микрофлоры.

Проведение научно-исследовательских работ по микробиологии способствует углублению знаний о микроорганизмах и их жизнедеятельности, направляет к развитию познавательной активности у школьников при изучении курса биологии в целом.

Данные полученные при проведении научно-исследовательской работы могут применяться учащимися для участия в научно-практических конференциях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства: справочник. М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.
2. Евстигнеева Т.Н., Кудрявцева Т.А. Селекция промышленных штаммов микроорганизмов: учебно–методическое пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2017. – 59 с.
3. Еремина И.А., Кригер О.В. Лабораторный практикум по микробиологии: учебное пособие. Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2005. – 112 с.
4. Красникова Л.В., Гунькова П.И., Маркелова В.В. Микробиология молока и молочных продуктов: лабораторный практикум: учебно–методическое пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 85 с.
5. Лысак В. В., Желдакова Р. А., Фомина О. В. Микробиология. Практикум. Минск: БГУ, 2015. – 115 с.
6. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений / под ред. А.И Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
7. Обухов А.С. Развитие исследовательской деятельности учащихся. . –2-е изд., перераб. и доп. – М.: Национальный книжный центр, 2015. – 280 с.
8. Рябцева С. А., Панова Н. М. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие. Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2017. – 220 с.
9. Хаиртдинова А. А. Научно-исследовательская работа в школе: методические рекомендации. Нефтекамск, 2012. – 22 с.
10. Жакслыкова С. А., Хабибуллин Р. Э., Яковлева Г. Ю., Решетник О. А. Антагонистическая активность бактериальных молочнокислых заквасок // Вестник Казанского технологического университета. 2014. Т 17, № 10. С. 152-155.

11. Захарова Н.А., Шарыпова Н.В. Изучение бактерий в школьном курсе биологии. Изд-во Шадринский государственный педагогический институт, 2010. – 22 с.
12. Зими́на М.И., Баби́ч О.О. Изучение влияния лактобактерий на патогенные микроорганизмы // Труды / Тамбов: ООО «Консалтинговая компания Юком», 2013. Часть 3. С. 60-61.
13. Ирки́това А.Н., Кага́н Я.Р., Соколо́ва Г.Г. Сравнительный анализ методов определения антагонистической активности молочнокислых бактерий // Известия алтайского государственного университета. 2012. № 3. С. 41-44.
14. Каб́лова М.А., Шурхно́ Н.А., Сиротки́н А.С. Молочнокислые бактерии в сельскохозяйственном производстве // Вестник технологического университета. 2015. Т. 18, № 23. С. 145-149.
15. Ку́лиев А.А., Демне́рова К., Абдулла́ева У.Д. Сравнение антимикробной активности различных штаммов бактерий рода *Lactobacillus* против ряда патогенных бактерий //Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2017. № 1. С. 41-44.
16. Леонто́вич А. В. Об основных понятиях концепции развития исследовательской и проектной деятельности учащихся // Исследовательская работа школьников. 2003. № 4. С. 18-24.
17. Миро́нов А.В. Исследовательская деятельность – основа развития творческой личности // Вестник КГУ им. Н.А. Некрасова. 2009. №1. С. 383-385.
18. Федоски́на М.Н., Фро́лова Н.А., Ми́шина О.С. Организация научно–исследовательской деятельности в школе по биологии. Изд-во Государственный гуманитарно-технологический университет. С. 278-281.
19. Способ определения способности микроорганизмов регулировать антагонистическую активность бактерий: пат. 2376381 Рос. Федерация. № 2008100982/13; заявл. 09.01.2008; опубл. 20.12.2009. Бюл. № 35. 14 с.

20. 7 семян – все для сада и огорода // Фитоспорин-М "Башинком" универсальный порошок 10 г [Электронный ресурс]. URL: – <https://7semyan.ru> – (Дата обращения 11.03.2020).
21. ГенДокс.ру // Микробиология молока и молокопродуктов [Электронный ресурс]. URL: – <https://gendocs.ru> – (Дата обращения 21.11.2019).
22. Инструкция по применению лекарств, аналоги, отзывы // Бификол лиофилизат [Электронный ресурс]. URL: – <https://listel.ru> – (Дата обращения 04.03.2020).
23. Лекции.орг // Взаимоотношения между молочнокислыми бактериями и дрожжами [Электронный ресурс]. URL: – <https://lektsii.org> – (Дата обращения 24.04.2020).
24. Скваска // Закваски [Электронный ресурс]. URL: – <http://www.skvaska.com> – (Дата обращения 20.10.2019).
25. Студопедия // Взаимоотношения между уксуснокислыми и молочнокислыми бактериями [Электронный ресурс]. URL: – <https://studopedia.ru> – (Дата обращения 15.04.2020).
26. Dommedika – современная медицина // Питательные среды для молочнокислых бактерий [Электронный ресурс]. URL: – <https://dommedika.com> – (Дата обращения 01.11.2019).
27. Pandia // Организация исследовательской деятельности учащихся в образовательном учреждении [Электронный ресурс]. URL: – <https://pandia.ru> – (Дата обращения 13.04.2020).

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
44.03.05 Педагогическое образование
Профили подготовки «Биология. Химия»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
 Г.А. Карпова

«5» 11 2019 г.

Задание

По ВКР студента Долгановой Марины Владимировны

Тема работы «Изучение антимикробной активности молочнокислых
бактерий в научно-исследовательской деятельности школьников»

Утверждена приказом по Университету от «29» октября 2019 г. № 1183 а/о

Срок сдачи студентом законченной работы «26» мая 2020 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки вы- полнения этапов	Примечания
10.	Выбор темы и обоснование ее актуальности. Определение объектов изучения	ноябрь - декабрь 2019	выполнено
11.	Сбор и анализ литературных данных. Написание обзора литературы.	январь 2019	выполнено
12.	Анализ ФГОС и программ по биологии среднего общего образования	февраль 2019	выполнено
13.	Изучение методик культивирования бактерий и подбор соответствующих антагонистов. Постановка эксперимента.	март - апрель 2020	выполнено
14.	Разработка содержания научно-исследовательской работы школьников с лактобактериями.	апрель 2020	выполнено
15.	Разработка практических заданий НИР. Анализ результатов эксперимента	апрель 2020	выполнено
16.	Подготовка доклада для защиты ВКР	май 2020	выполнено
17.	Проверка ВКР в системе «Антиплагиат»	май 2020	выполнено
18.	Сдача оформленных и переплетенных экземпляров ВКР	май 2020	выполнено

Дата выдачи задания «5» ноября 2019 г.

Руководитель



Заплатин Б. П.

Задание принял к исполнению



ОТЗЫВ
РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Тема выпускной квалификационной работы «Изучение антимикробной активности молочнокислых бактерий в научно-исследовательской деятельности школьников»

Автор (студентка) Долганова Марина Владимировна

Факультет физико-математических и естественных наук

Кафедра «Общая биология и биохимия»»

Группа 15ФПЕ1

Направление подготовки 44.03.05 Педагогическое образование

Профили подготовки Биология. Химия

Руководитель Заплатин Борис Петрович, доцент кафедры «Общая биология и биохимия», доцент, кандидат биологических наук.

Показатели оценки выпускной квалификационной работы

Показатель оценивания	Критерии			
	Отлично	Хорошо	Удовлетв.	Неудовл.
Актуальность и обоснование выбора темы	+			
Логика работы, полнота и соответствие теме	+			
Уровень владения предметными знаниями		+		
Самостоятельность		+		
Достоверность выводов	+			
Оформление ВКР	+			
Качество подготовленного доклада	+			
Литература	+			
Возможность внедрения	+			
Общая оценка	отлично			

Отмеченные достоинства:

- заинтересованность в теме;
- ответственный подход к заданию;
- хороший уровень владения предметными знаниями и стремление к практической направленности работы.

Отмеченные недостатки: существенных недостатков в ВКР нет, отмечены мелкие недочеты в оформлении работы.

Заключение: Работа М.В. Долгановой представляет собой самостоятельное исследование, отвечает всем требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и допускается к защите.

Руководитель: _____
(подпись)

«8» июня 2020 г.



СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Долганова Марина Владимировна
Подразделение	Кафедра «Общая биология и биохимия»
Тип работы	Выпускная квалификационная работа
Название работы	ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ШКОЛЬНИКОВ
Название файла	(00) Долганова Марина. 15фпе1 НИР антимикробная активность молочнокислых бактерий.txt
Процент заимствования	23.76 %
Процент самоцитирования	0.00 %
Процент цитирования	10.63 %
Процент оригинальности	65.60 %
Дата проверки	09:54:30 08 июня 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Модуль поиска "Интернет Плюс"; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по eLibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Медицина; Диссертации и авторефераты НББ; Модуль поиска перефразирования eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирования Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска "ПГУ"; Модуль поиска общепотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Заплатин Борис Петрович ФИО проверяющего

Дата подписи

08.06.2020

Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.