МБОУ «Средняя общеобразовательная школа № 3 р.п. Линёво» Искитимского района Новосибирской области

Проектно-исследовательская работа по биологии по теме

«Исследование фитонцидной активности растений»

Работу выполнил учащийся 9 «А» класса

Петренко Илья

Руководитель – учитель биологии

Гайдук Н.П.

2021

Содержание

1. Введение
2. Обзор литературы
3. Методика проведения исследования
4. Результаты исследования
5. Заключения и выводы
6. Литература

**Введение**

Фитонциды – вещества различной химической природы, своеобразные ядохимикаты растений. Они были открыты в 1928 году отечественным учёным профессором Б.П.Токиным. Он установил, что среди растений встречаются виды, синтезирующие биологически активные вещества, обладающие антибактериальной и  антигрибной активностью (бактерицидным и фунгицидным действием). Эти вещества он назвал  фитонцидами (от греческого слова «фитон» - «растения» и латинского «цедо»- «убиваю») (Иванович,1983).

 Фитонциды играют важную роль в защите растений от болезнетворных организмов. Сосновый лес за сутки выделяет 5 кг фитонцидов с 1 га, лиственничный – около 2 кг, можжевеловый – до 30 кг. Воздух в хвойном лесу (особенно в можжевеловом) практически стерилен (Багрова, 1996).

 Химическая природа фитонцидов различна. Обычно это сложные органические соединения. Они находятся  в тканях в растворённом состоянии. Многие растения выделяют газообразные фитонциды. Летучие соединения и корневые выделения действуют на расстоянии. Это первая оборона растений от врагов, а растворённые в тканях фитонциды -  вторая (Иванович, 1983).

 Высокой фитонцидной активностью обладают около 85 процентов высших растений. В частности весьма активные фитонциды обнаружены в чесноке, луке, лимоне, чёрной смородине, боярышнике, можжевельнике, в белокочанной капусте, берёзе, дубе, хрене, крапиве, сосне, бруснике, черёмухе (Голышенков, 1990).

Все растения выделяют фитонциды в целях самозащиты. Они губительно действуют на вирусы, бактерии, простейшие и некоторые многоклеточные организмы. Эти летучие вещества защищают не только растения от вредных для них микроорганизмов, а также животных и человека. Являясь физиологически активными веществами, фитонциды играют важную роль в обмене веществ и стимулируют защитные силы организма. Фитонциды хвойных оказывают стимулирующее влияние на нервную, сердечно – сосудистую и другие системы органов. Многие из них обладают болеутоляющим эффектом, положительно влияют на дыхательную, иммунную системы, увеличивают содержание гемоглобина в крови, повышают устойчивость организма к холоду, токсинам, инфекциям (Синяков, 1992).

Актуальность исследования: экспериментальное подтверждение, в том, что многие растения обладают фитонцидной активностью, которые губительно действуют на микроорганизмы.

Объект исследования: микроорганизмы рода сарцина  - Sarcina.

Предмет исследования: определение устойчивости микроорганизмов рода сарцина  - Sarcina к фитонцидному воздействию растений.

Гипотеза: сравнение фитонцидной активности некоторых растений на микроорганизмы показывает различные результаты, в зависимости от особенностей растений.

**Целью работы**явилось: изучение влияния фитонцидов некоторых растений на рост микроорганизмов.

В связи с этим в задачи исследования входило:

1. Знакомство с литературой по данному вопросу.

2. Освоение методов стерилизации микробиологической посуды.

3. Изучение методики изготовления искусственной питательной среды.

4. Освоение методики выращивания микроорганизмов из воздуха методом осаждения; посев культуры микроорганизмов.

5. Выявление растений с наибольшей фитонцидной активностью.

**1. Обзор литературы**

 Любой растительный организм в процессе своей жизнедеятельности вырабатывает вещества различной химической природы, в том числе и те, которые помогают в борьбе с болезнетворными микроорганизмами, способствуют выработке у растений иммунитета против различных заболеваний. К таким веществам относятся фитонциды – биологически активные вещества, убивающие или подавляющие рост и развитие не только различных микроорганизмов, но и паразитических червей, насекомых – переносчиков и возбудителей инфекционных болезней. Они выделяются как неповреждёнными, так и механически разрушенными растительными тканями (Швечикова, 1992).

  Способность синтезировать фитонциды непостоянна. Она изменяется с развитием организма и зависит от условий произрастания растения. Образование фитонцидов обычно усиливается при его повреждении (Иванович, 1983).

 Особенно активные фитонциды обнаружены в чесноке и луке: пары и вытяжки из них убивают  холерный вибрион, дифтерийную палочку, гноеродных микробов. Стоит пожевать несколько минут чеснок, как большинство бактерий, живущих в полости рта, погибают (Гилярович, 1986).

  В тканях растений фитонциды распределены неравномерно. Например, у томата их больше всего в листьях, меньше в корнях и совсем мало в плодах и стеблях. В луке и чесноке фитонциды накапливаются преимущественно в луковицах. Фитонциды лука, и листья черёмухи убивают грибок фитофтору, которая поражает картофель (Иванович, 1983).

   Устойчивость картофеля и моркови к грибковым заболеваниям определяется содержащимся в них фитонцидом – хлорогеновой кислотой. Болезнь «снежную плесень» на злаках, вызываемую грибом фузариумом, уничтожает фитонцид бензоксазолин, образующийся в тканях злаков при повреждениях(Гилярович,1996).   
          На возбудителей заболеваний человека и животных фитонциды действуют значительно сильнее, чем на возбудителей  у растений. Например, фитонциды апельсина и лимона в 40  - 50 раз скорее убивают дизентерийную палочку, вызывающую заболевание у человека, чем вид бактерий, поражающий деревья лимона, апельсина и мандарина. Лимон – удивительный фрукт, убивающий вирусы. Их в природе более 500, вызывающих болезни у людей – около 40. Установлено, что многие микроорганизмы погибают в слабых растворах лимонной кислоты (1: 2000) (Кудряшова, 1999).

Профессором Б.П. Токиным проводились опыты с черёмухой. Кашица из натёртых листьев черёмухи выделяет вещества, убивающие бактерии и споры плесневых грибов. Измельчённые листья  профессор Б.П. Токин помещал в стеклянную банку, в которую напускал комнатных мух, комаров и слепней. В несколько секунд они погибали. Раздавленные почки черёмухи, помещённые в сосуд с крысой, убивают крысу через 20 минут.

 Но есть вредители самой черёмухи, на  которых не действуют её фитонциды и ядовитые соки, - это довольно  «нежная» черёмуховая тля. Особенно много фитонцидов выделяется молодыми листьями черёмухи весною и летом, осенью же значительно меньше (Верзилин, 1994).

  Из фитонцидов высших и низших растений в настоящее время получены многие антибиотики, обладающие различной антимикробной активностью: из чеснока -  аллицин, из шалфея лекарственного – сальвин, из зверобоя продырявленного – иманин, из чистотела большого – сагвинарин (Швечикова, 1992).

 Фитонциды относятся к антибиотическим средствам. Многие фитонцидосодержащие растения широко используются при лечении ран, фурункулов, абсцессов, ожоговых поражений, бородавок, ангины, стоматитов, ларингитов, фарингитов и т.д. Местно фитонциды обладают раздражающим и обезболивающим действием. Поэтому кашицу или крупно измельчённый лук, чеснок и хрен прикладывают на лоб или затылочную область при головных болях. Этим же способом лечат мышечные и суставные боли (Нуралиев,1991).

 В последнее время фитонциды многих растений стали успешно применять в лечебной практике при желудочно – кишечных заболеваниях и как  противогельминтные средства (Голышенков, 1990).

 Фитонциды различных видов растений не одинаковы по своему составу и действию. Продукция фитонцидов изменяется в зависимости от сезона года, почвенных и климатических условий, времени суток, стадии вегетации растений и их  физиологического состояния. В большинстве случаев выделение фитонцидов после разрушения  (например, измельчения) растительных тканей прекращается в первые минуты, и даже секунды.  Исключением являются летучие фитонциды корней дикого пеона, обнаруживающиеся даже через 24 часа, а также фитонциды чеснока, выделяющиеся спустя 200, а иногда 700 часов после их измельчения (Введенский, 1956).

 Фитонцидные растения (лук, чеснок, крапива) в быту нередко используют для хранения рыбных и мясных продуктов. Завёрнутые в свежесорванные листья крапивы или лопуха большого рыба и мясные продукты сохраняются гораздо дольше, чем  при хранении в обычных условиях. Хорошо очищенную луковицу или чеснок помещают в мешок с мукой или в пакет с рисом с целью защиты этих продуктов от различных насекомых (Иванович, 1983).

**3. Методика проведения работы**

***Исследовательская работа включала в себя ряд этапов:***

1. Подготовка микробиологической посуды.

2. Приготовление искусственной питательной среды.

3. Выращивание микроорганизмов методом осаждения из воздуха.

4. Получение бактериальной культуры и посев.

5.Закладка опыта по влиянию фитонцидов растений на  развитие микроорганизмов.

*Оборудование и материалы:* чашки Петри, колбы объёмом от 100 мл, пипетки от 1 до 10 мл, спиртовка, химические стаканы, предметные и покровные стёкла, микроскоп, специальные бактериологические иглы, петли, шпатели, вата, марля, бумага обёрточная, бумага фильтровальная, карандаши по стеклу; растительные ткани чеснока, лука, лимона, яблока.

**Ход работы**:

           1. Подготовка и стерилизация  микробиологической посуды.

  Лабораторную посуду (чашки Петри, колбы, стаканы, пипетки) моют  в горячем мыльном растворе, ополаскивают чистой водой и сушат на воздухе. Затем чашки завёртывают в обёрточную бумагу и помещают в сушильный шкаф при температура не выше 100 - 1050С градусов на 1,5 – 2 часа (Творогова, 1987). Специальные иглы, петли, шпатели прокаливают на пламени спиртовки.

          2. Приготовление искусственной питательной среды.

Питательную среду готовят в стерильных колбах. К  50 мл  дистиллированной воды добавляют 2,5 г глюкозы, 1,5 г пептона  и  2 г агара. Оставляют полученный раствор для набухания.  Далее колбы закрывают стерильными ватными пробками и в таком виде стерилизуют содержимое трехкратным кипячением на водяной бане с промежутками между кипячением в 15-20 часов. Полученную питательную среду разливают в стерильные чашки Петри, так чтобы было покрыто дно чашки.

          3.Выращивание микроорганизмов методом осаждения из воздуха

После застывания питательной среды чашки открывают на 10 -15 минут, затем закрывают, заворачивают в бумагу и инкубируют в термостате при температуре 25-300С. Споры или клетки микроорганизмов, содержащиеся в воздухе, оседают на поверхности питательной среды, прорастают, делятся и образуют скопления, называемые колониями. Через неделю поверхность агара в чашках Петри покрыта растущими колониями микроорганизмов.

         4. Получение бактериальной культуры и посев.

Клетки бактерий, которые относят, к одному виду называют – чистая культура. Для ознакомления с губительным действием фитонцидов на микроорганизмы засевают чашки Петри с питательной средой сплошным газоном какой-либо бактерии, например, сарциной (Аникеев, Лукомская, 1983). Для этого на поверхность застывшего агара наносят каплю суспензии данной бактерии. Суспензию готовят,  размешивая небольшое количество бактериальной массы  в 20 мл дистиллированной воды. Шпателем равномерно растирают суспензию на поверхности  чашки Петри с питательной средой.

          5. Выявление растений с наибольшей фитонцидной активностью.

На посеянный материал помещаем ткани растений (лук, чеснок, лимон и др.), чашки закрываем. Опытные чашки помещают в термостат при 25-300С (можно при комнатной температуре). Через несколько дней учитывают результаты опыта. Повторность опыта трехкратная.

**4. Результаты исследования**

 Методом осаждения из воздуха на питательной среде нами были получены  и промикроскопированы бактерии рода сарцина  - Sarcina. Она же использовалась в качестве чистой культуры при тестировании фитонцидной активности разных растений.

 Колонии Sarcina окрашены в желтый или оранжевый цвет, диаметр колоний 4-5 мм. Sarcina имеет форму кокков, клетки средних размеров (2-6 мкм), встречаются скоплениями по 4-8 клеток вместе. Sarcina – аэроб, широко распространенный в почве и воздухе, разлагает мочевину и белок (Васильева и др., 1979).

       По  истечении времени на поверхности агаровой среды по всей чашке  вырастает сплошной газон посеянной сарцины, а вокруг разложенных тканей растений появляются прозрачные зоны отсутствия роста бактерий. Такие зоны образуются вследствие того, что фитонциды растений диффундируют в агар и задерживают рост бактерии. Измеряя диаметр каждой такой прозрачной зоны, можно определить какие растения в большей степени подавляют рост сарцины.

По нашим данным наибольший фитонцидный эффект имеет чеснок, чистая зона у него составляла 3,5 см (см. таблица). Несколько меньший диаметр свободного от бактерий агара наблюдался у лимона (2,8 см). Лук обладал еще меньшим размером чистой зоной – 1,5 см. Чистая зона яблока составила 0,7 см.

|  |  |
| --- | --- |
| **Вид растения** | **Диаметр прозрачной зоны (см)** |
| чеснок | 3,5 |
| лук | 1,5 |
| лимон | 2,8 |
| яблоко | 0,7 |

**5.Заключение и выводы.**

Фитонциды – биологически активные вещества, основным свойством которых является подавление жизнедеятельности или даже гибель многих болезнетворных микроорганизмов. Они являются природными антибиотиками, которые человек научился использовать в практических целях. Наиболее известными и доступными являются лук и чеснок, однако, нельзя забывать, что и многие другие дикорастущие и культурные растения обладают такими веществами.

Проведенное нами исследование по изучению влияния действия фитонцидов некоторых растений на распространенные микроорганизмы (бактерии рода сарцины), подтвердили эти сведения. Однако наши результаты показали, что наряду с такими растениями как лук и чеснок, также очень сильным фитонцидным действием обладает и лимон (а возможно и другие цитрусовые). При выращивании бактерий в фитонцидной среде фактор влияния определялся по образованию чистой не заросшей бактериальной массой округлой зоны вокруг разложенных тканей изучаемых растений. Чем больше диаметр этой зоны, тем сильнее действие фитонцидов данного растения. По наши данным оказалось, что степень воздействия изучаемых растений (чеснок, лук, лимон и яблоко) не одинакова. Максимально это воздействие проявилось у чеснока и лимона, лук занимает лишь третье место. Полученные результаты позволили убедиться в эффективном действии фитонцидов и подтвердили ценные фитонцидные свойства данных растений.

На основании полученных результатов можно сделать следующие **выводы:**

1. Все изученные растения обладают антибиотическим действием на микроорганизмы.

2. Максимально это свойство проявляется у чеснока и лимона, чуть меньше у лука.

3. Рекомендовать учащимся употреблять в пищу растения с наиболее высокими фитоцидными свойствами (чеснок, лимон, лук), с целью профилактики вирусных и бактериальных заболеваний.

**Литература**

 1. Аникеев В.В., Лукомская К.А.. Руководство к практическим занятиям по микробиологии.- М.: «Просвещение», 1983. С. – 127.

 2 Введенский Б.А. Большая советская энциклопедия.- М.: «Советская энциклопедия», 1956. -С. 209-210.

3. Васильева З.П., Кириллова Г.А., Ласкина А.С. Лабораторные работы по микробиологии. – М.: «Просвещение», 1979. – С. 17-18.

4. Голышенков П.П. Лекарственные растения и их использование. – Саранск. Мордовское книжное издательство, 1990. -  С.29-30.

5.Нуралиев Ю. Лекарственные растения. – Нижний Новгород. СП «ИКПА»,1991. - С.29-31.

6. Творогова А.С. Микробиологический эксперимент в школе. - Саранск, «Нива», 1987. - С. 5-10.

7. Швечикова А.П.,Косогова Т.М., Луценко А.И. Комнатные растения и чистота воздуха в помещении  научно – методический журнал «Биология в школе» №1-2 1992. -  С. 66 – 67.