

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Дальневосточный федеральный университет



ИНСТИТУТ
МИРОВОГО ОКЕАНА

Кафедра биоразнообразия и морских биоресурсов

А.В. Ким, Е.А. Богатыренко, М.Л. Сидоренко

ФИЗИОЛОГИЯ И МЕТАБОЛИЗМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учебное пособие

*Рекомендовано Дальневосточным региональным
учебно-методическим центром (ДВ РУМЦ) в качестве учебного пособия
для студентов направлений подготовки 06.03.01 «Биология»,
05.03.06 «Экология и природопользование»,
19.03.01 «Биотехнология», 06.03.02 «Почвоведение»
вузов региона*

Владивосток



2025

УДК 579.22(075.8)

ББК 28.47я73

*Утверждено Ученым советом
Института Мирового океана (Школы) ДВФУ*

Рецензенты:

Я.О. Тимофеева, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории почвоведения и экологии почв ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН;
А.И. Еськова, канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов ТОИ ДВО РАН

Ким, Александра Вячеславовна.

С34 Физиология и метаболизм микроорганизмов : учебное пособие / А.В. Ким, Е.А. Богатыренко, М.Л. Сидоренко ; ДВФУ, Институт Мирового океана. – Владивосток : Издательство Дальневосточного федерального университета, 2025. – 130 с.
ISBN 978-5-7444-5855-3.

В пособии описаны основные методы изучения физиологии и метаболизма микроорганизмов: способность к росту на различных питательных средах, механизмы получения и запасания энергии и чувствительность к антимикробным препаратам.

Рекомендовано для студентов, обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология», 05.03.06 «Экология и природопользование», 19.03.01 «Биотехнология» и 06.03.02 «Почвоведение».

УДК 579.22(075.8)

ББК 28.47я73

ISBN 978-5-7444-5855-3

© ФГАОУ ВО ДВФУ, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	5
Химический состав микробной клетки.....	6
Способы питания микроорганизмов	9
Механизмы транспорта веществ внутрь бактериальной клетки	12
Вопросы для контроля усвоения материала	13
Питательные среды	13
Классификация питательных сред	15
Индикаторы, используемые при приготовлении специальных питательных сред	23
Ингибиторы роста микроорганизмов.....	25
Вопросы для контроля усвоения материала	25
Практическое задание № 1. Рост микроорганизмов на разных питательных средах.....	26
Практическое задание № 2 (1 часть). Определение способности микроорганизмов к утилизации различных органических субстратов.....	30
Практическое задание № 2 (2 часть). Определение способности микроорганизмов к утилизации различных органических субстратов.....	35
Тренировочные тестовые задания № 1	37
Способы получения и запасания энергии.....	45
Аэробное дыхание.....	48
Анаэробное дыхание.....	51
Брожение	51
Фотосинтез	54
Закономерности роста популяций микроорганизмов	62
Вопросы для контроля усвоения материала	68
Практическое задание № 3. Определение аэробного и анаэробного роста бактерий	69

Практическое задание № 4. Определение ферментативного и окислительного метаболизма углеводов у микроорганизмов	70
Практическое задание № 5. Определение способности микроорганизмов расщеплять глюкозу с образованием разных промежуточных продуктов.....	73
Практическое задание № 6. Спиртовое брожение.....	75
Практическое задание № 7. Молочнокислое брожение	77
Практическое задание № 8. Маслянокислое брожение	81
Практическое задание № 9. Уксуснокислое брожение.....	83
Тренировочные тестовые задания № 2	85
Антибиотики и антибиотикорезистентность микроорганизмов.....	93
Вопросы для контроля усвоения материала	103
Практическое задание № 10. Определение способности микроорганизмов к образованию антибиотиков	104
Практическое задание № 11. Определение антибиотикорезистентности у микроорганизмов с помощью диско- диффузионного метода	105
Тренировочные тестовые задания № 3	110
КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	116
ОТВЕТЫ НА ТРЕНИРОВОЧНЫЕ ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	127

ПРЕДИСЛОВИЕ

Физиология микроорганизмов – это область микробиологии, которая исследует жизненные процессы микроорганизмов: рост и размножение; поступление питательных веществ внутрь клетки и выведение продуктов метаболизма; энергетический и конструктивный метаболизм; взаимодействие с окружающей средой и другие аспекты.

Информация о физиологических процессах микроорганизмов является основой для проведения различных манипуляций с микробными клетками. Например, данные о потребностях микроорганизмов в питательных веществах, температуре, рН и других условиях позволяют оптимизировать процессы их культивирования в лабораторных и промышленных масштабах для получения биомассы, ферментов, антибиотиков и других продуктов.

Также такие свойства как: способность к деструкции различных субстратов, устойчивость к антимикробным препаратам, синтез специфических белков, липидов и т.д. лежат в основе идентификации и классификации микроорганизмов наряду с молекулярно-генетическими методами.

Таким образом, глубокое понимание физиологии микроорганизмов позволяет эффективно использовать их в различных областях науки и промышленности, способствуя развитию новых технологий.

В лабораторной практике исследование физиологических свойств микроорганизмов проводится совместно с изучением их морфологических, биохимических и генетических особенностей.

Химический состав микробной клетки

Вода в микробной клетке находится в свободном состоянии как самостоятельное соединение, но большая ее часть связана с различными химическими компонентами клетки (белками, углеводами, липидами) и входит в состав клеточных структур. С потерей связанной воды нарушаются клеточные структуры и наступает гибель клетки.

Свободная вода участвует в реакциях, происходящих в клетке, выполняя роль растворителя для различных химических соединений, служит дисперсной средой для коллоидов и средой для протекания метаболических реакций, источником водородных и гидроксильных ионов, а также обеспечивает тургор (натяжение). Количество свободной воды в клетке может варьировать в зависимости от условий окружающей среды, физиологического состояния клетки и её возраста (например, у споровых форм воды меньше, чем у вегетативных клеток, в то время как капсульные бактерии содержат наибольшее количество воды). При удалении свободной воды гибели клетки не происходит.

Белки определяют важнейшие биологические свойства микроорганизмов, содержатся в различных клеточных структурах и выполняют разнообразные функции: катализируют биохимические реакции (ферменты), входят в состав клеточной стенки, мембраны, жгутиков, капсулы и др. (структурные элементы клетки), обеспечивают перенос питательных веществ в клетку (белки-пермеазы) и т.д. Отдельные белки (токсины) обуславливают патогенность бактерий.

Наряду с простыми белками в клетках бактерий обнаруживаются сложные белки: нуклеопротеины, гликопротеины, липопротеины.

Ферменты выполняют функцию биокатализаторов и представляют собой простые или сложные белки.

Принято различать экзоферменты и эндоферменты.

Экзоферменты – ферменты, которые выделяются микробной клеткой во внешнюю среду;

Эндоферменты – ферменты, которые выделяются во внутрь клетки.

Одни ферменты синтезируются бактериальной клеткой постоянно (*конститутивные ферменты*), другие ферменты синтезируются только при контакте с определенным субстратом (*индуцибельные ферменты*).

Все ферменты подразделяются на шесть классов:

– оксидоредуктазы – это ферменты, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции и встречаются во всех живых клетках. Их основная функция – обеспечение организма энергией в доступной для использования форме;

– трансферазы – ферменты, которые катализируют перенос отдельных радикалов (PO_3 , H_2 , CH_3), частей молекул или целых атомных группировок от одних соединений к другим;

– гидролазы – ферменты, которые катализируют реакции расщепления и синтеза белков, жиров и углеводов с участием воды;

– лиазы – ферменты, которые катализируют отщепление от субстратов определенных химических групп с образованием двойных связей или присоединение отдельных групп (например, аминогрупп, альдегидных групп) по месту двойных связей без участия воды (декарбоксилазы, дезаминазы);

– изомеразы – ферменты, производящие глубокие внутримолекулярные перестройки, то есть превращение органических соединений в их изомеры (изомеразы, трансферазы, топоизомеразы);

– лигазы (синтетазы) – это ферменты, которые катализируют синтез сложных органических веществ (сшивание, лигирование) из простых соединений с одновременным разрывом фосфатных связей (аспарагинсинтетаза, кокарбоксилазы).

Нуклеиновые кислоты у бактерий выполняют функции, схожие с функциями нуклеиновых кислот в любых живых клетках. ДНК, представленная в виде бактериальной хромосомы, отвечает за хранение и передачу генетической информации. У некоторых бактерий в цитоплазме обнаруживаются небольшие молекулы ДНК, называемые плазмидами. РНК (информационная, транспортная и рибосомная) играют важную роль в процессе биосинтеза белка.

Углеводы используются микробной клеткой в качестве источника энергии и углерода. Из них состоят многие структурные компоненты

клетки (клеточная оболочка, капсула и пр.). В бактериальных клетках встречаются моно-, ди- и полисахариды. Основная часть углеводов представлена полисахаридами – крахмалом, гликогеном и гранулезой, которые служат резервными веществами и могут быть использованы клеткой в качестве источника углерода по мере необходимости. Клеточная стенка содержит аminosахара: N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин и мурамовую кислоту, производное D-глюкозамина. Кроме внутриклеточных, многие микроорганизмы синтезируют внеклеточные полисахариды, которые входят в состав капсулы и слизистых слоев.

Липиды в основном представлены фосфолипидами, жирными кислотами и глицеридами. Являются необходимыми компонентами цитоплазматической мембраны и клеточной стенки, участвуют в энергетическом обмене, в некоторых случаях выполняют роль запасных веществ. В клетках микроорганизмов липиды могут быть связаны с углеводами и белками, составляя сложный комплекс, определяющий токсические свойства микроорганизмов.

Минеральные вещества необходимы для метаболизма и поддержания нормального внутриклеточного осмотического давления. К ним относятся фосфор, натрий, калий, магний, сера, железо, хлор и др. Они входят в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, ферментов и других веществ микробной клетки. Например, фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, многих ферментов, а также в состав АТФ. Железо содержится в компонентах дыхательной цепи.

Таблица 1

Содержание веществ в микробной клетке

Наименование веществ	Содержание, % от сухой массы
Вода	75–90%
Белки	40–80%
Нуклеиновые кислоты	ДНК 3–4%, РНК до 10%
Углеводы	10–30%
Липиды	5–40%
Минеральные вещества	2–14%

Способы питания микроорганизмов

Микроорганизмы, подобно другим живым организмам, получают все необходимые питательные элементы из окружающей среды. Обычно под *пищей* понимают вещества, поступающие в организм и обеспечивающие его либо энергией, необходимой для жизненных процессов, либо строительными материалами для формирования различных клеточных компонентов.

Выделяют два основных способа питания живых существ: голозойный и голофитный.

Таблица 2

Способы питания живых организмов

Способ питания	Особенности	Организмы
<i>Голозойный способ</i>	представляет собой процесс, при котором живые организмы захватывают или проглатывают твердые частицы пищи, которые затем подвергаются перевариванию в пищеварительной системе	характерен для животных
<i>Голофитный способ</i>	представляет собой процесс, при котором живые организмы усваивают питательные вещества, поглощая их в виде относительно мелких молекул из водного раствора.	характерен для микроорганизмов и растений

Для поступления в микробную клетку все питательные вещества должны находиться в растворенном состоянии и иметь соответствующий размер молекул. Основным барьером для проникновения многих высокомолекулярных соединений в клетку является цитоплазматическая мембрана. Тем не менее, это не говорит о том, что микроорганизмы не используют высокомолекулярные соединения в качестве питательных веществ. Благодаря способности синтезировать внеклеточные ферменты, которые выделяются в окружающую среду, микроорганизмы расщепляют сложные органические соединения, осуществляя таким образом *внеклеточное пищеварение*.

Кроме того, эукариотные микроорганизмы могут захватывать высокомолекулярные соединения (явления пиноцитоза и фагоцитоза), которые в клетках расщепляются с помощью гидролитических ферментов или используются как строительные блоки в конструктивном обмене (синтез клеточных компонентов).

Для разных микроорганизмов присущи свои способы усвоения химических соединений и свои источники энергии.

Таблица 3

Микроорганизмы по способу получения углерода, азота и энергии

По источникам углерода	Автотрофы – используют в качестве источника углерода неорганические соединения (CO ₂ и карбонаты)
	Гетеротрофы – используют в качестве источника углерода различные органические вещества в молекулярной форме (многоатомные спирты, углеводы, жирные кислоты, аминокислоты)
По источнику энергии	Фототрофы – используют энергию солнечного света
	Хемотрофы – получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций органических и неорганических соединений
По природе доноров электронов	Литотрофы – используют в качестве доноров электронов неорганические вещества, такие как H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , S, CO ₂ , Fe ²⁺ и др.
	Органотрофы используют в качестве донора электронов органические соединения
По способности усваивать азот	Аминоавтотрофы – используют молекулярный азот воздуха. Представители: азотфиксирующие почвенные и клубеньковые бактерии
	Аминогетеротрофы – получают азот из органических соединений. Представители: все патогенные микроорганизмы и большинство сапротрофов

Типы питания микроорганизмов

Тип питания	Источник углерода	Источник энергии	Донор электронов	Представители
Хемолитоавтотрофия (хемотрофы + литотрофы + автотрофы)	CO ₂	за счет окислительно-восстановительных реакций органических и неорганических соединений	неорганические соединения	нитрифицирующие бактерии, тионовые бактерии, водородные бактерии, ацидофильные железобактерии
Хемолитогетеротрофия (хемотрофы + литотрофы + гетеротрофы)	органические соединения		неорганические соединения	метанобразующие бактерии, водородные бактерии
Хемоорганоавтотрофия (хемотрофы + органотрофы + автотрофы)	CO ₂		органические соединения	факультативные метилотрофы, окисляющие муравьиную кислоту
Хемоорганогетеротрофия (хемотрофы + органотрофы + гетеротрофы)	органические соединения		Органические соединения	большинство прокариот
Фотолитоавтотрофия (фототрофы + литотрофы + автотрофы)	CO ₂	за счет энергии солнечного света	неорганические соединения	цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии
Фотолитогетеротрофия (фототрофы + литотрофы + гетеротрофы)	органические соединения		неорганические соединения	некоторые цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии
Фотоорганавтотрофия (фототрофы + органотрофы + автотрофы)	CO ₂		органические соединения	некоторые пурпурные бактерии
Фотоорганогетеротрофия (фототрофы + органотрофы + гетеротрофы)	органические соединения		органические соединения	пурпурные и некоторые зеленые бактерии, галобактерии, некоторые цианобактерии

Механизмы транспорта веществ внутри бактериальной клетки

Основным регулятором поступления веществ в микробную клетку является цитоплазматическая мембрана. Существует несколько типов переноса веществ в клетку.

Таблица 5

Механизмы поступления питательных веществ в микробную клетку

Транспорт	Энергия	Процесс
<i>Пассивный</i>	Без затраты энергии	Питательные вещества поступают в клетку за счет разницы концентраций. Перенос по градиенту концентрации
<i>Облегченная диффузия</i>	Без затраты энергии	Питательные вещества поступают в клетку за счет разницы концентраций (концентрация вещества вне клетки выше, чем внутри клетки). Перенос по градиенту концентрации с помощью мембранных белков пермеаз
<i>Активный</i>	С затратой энергии	Перенос питательных веществ происходит от меньшей концентрации в сторону большей, т.е. против градиента концентраций за счет мембранных белков пермеаз
<i>Транслокация</i>	С затратой энергии	Процесс сходен с активным транспортом, при этом переносимое соединение подвергается дополнительным модификационным изменениям в ходе переноса, например фосфорилируется

Разные питательные вещества транспортируются в бактериальную клетку либо по градиенту концентрации, либо против градиента концентрации, либо с затратой, либо без затрат энергии. Поступив в клетку, питательные вещества вступают в биохимические реакции, в результате которых образуются как источники энергии, так и структурные компоненты клетки.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Какую роль играет вода в микробной клетке?
2. На какие классы делятся ферменты?
3. Охарактеризуйте механизмы транспорта веществ внутрь микробной клетки.
4. На какие группы делятся микроорганизмы по способу получения углерода, азота и энергии?

Питательные среды

Для культивирования микроорганизмов в лабораторных или промышленных условиях используются питательные среды, состоящие из различных соединений как сложного, так и простого состава, ростовых факторов, которые ускоряют метаболические процессы в микробной клетке (витамины группы В, никотиновая кислота и др.).

Питательные среды для выращивания микроорганизмов должны соответствовать следующим требованиям:

- ✓ содержать все необходимые для роста питательные вещества в легко усвояемой форме, а также, при необходимости, микро- и макроэлементы, витамины, некоторые аминокислоты и специальные ростовые факторы;
- ✓ в большинстве случаев должны быть унифицированы в отношении содержания основных компонентов (аминный азот – 0,8–1,2 г/л, общий азот – 2,5–3,0 г/л, хлориды (в пересчете на хлорид натрия) – 0,5–0,8%);
- ✓ иметь оптимальную влажность, чтобы вещества в составе среды находились в растворенном состоянии (при недостатке влаги процессы жизнедеятельности микроорганизмов замедляются или полностью прекращаются);
- ✓ иметь оптимальную концентрацию водородных ионов – рН, при котором процессы жизнедеятельности культивируемого микроорганизма протекают наиболее активно;
- ✓ обладать определенным уровнем окислительно-восстановительного потенциала (Eh), который зависит от состава питательной среды, степени насыщения ее кислородом и уровня рН (чем ниже рН,

тем выше Eh и наоборот). Для снижения Eh из питательной среды удаляют воздух путем кипячения или за счет инертных газов (аргона, азота, гелия) и добавляют редуцирующие вещества;

- ✓ иметь определенную вязкость;

- ✓ быть изотоничными, то есть осмотическое давление в них должно быть практически таким же, как внутриклеточное (для большинства микроорганизмов оптимальна среда, соответствующая 0,5% раствору натрия хлорида);

- ✓ быть стерильными и, по возможности, прозрачными.

При приготовлении питательных сред важно строго соблюдать рецептуру, описанную в соответствующих документах, включая последовательность добавления компонентов, указанную в инструкции. Отклонение от этих правил может привести к помутнению среды, образованию осадка. Компоненты растворяют в дистиллированной воде при нагревании и постоянном перемешивании, контролируя полноту их растворения визуально. Продолжительность нагрева должна быть минимальной, так как длительное воздействие повышенных температур может привести к разрушению и изменению свойств отдельных компонентов. Особое внимание следует уделять коррекции рН на всех стадиях приготовления сред, так как даже при автоклавировании показатель рН может изменяться в зависимости от состава самой среды в той или иной степени. В этом случае вводится соответствующая поправка к уровню рН до стерилизации, чтобы в готовой стерильной среде он соответствовал требуемому значению, и проверяется повторно после автоклавирования. Некоторые компоненты требуют специальной стерилизации из-за их чувствительности к нагреванию или изменению рН при повышенной температуре. Например, в питательной среде, содержащей глюкозу, в процессе автоклавирования при температуре выше 112 °С снижается рН, а сама глюкоза карамелизуется, придавая среде темную окраску. В таких случаях глюкозу стерилизуют отдельно при рН 5,0 и добавляют в стерильную среду перед посевом. Приготовление питательных сред из сухих коммерческих препаратов осуществляется в строгом соответствии с этикеткой и инструкцией по применению.

Классификация питательных сред

Таблица 6

Классификация питательных сред по происхождению

Питательные среды	Характеристика
<i>Естественные (натуральные)</i>	Среды с неопределенным химическим составом, включающие продукты растительного или животного происхождения, также отходы различных производственных процессов, содержащие органические соединения. Естественные питательные среды обеспечивают интенсивный рост самых разнообразных микроорганизмов. Они содержат богатый набор органических и неорганических соединений, в том числе все необходимые элементы и дополнительные вещества для роста и размножения микробных клеток.
<i>Полусинтетические</i>	Среды, включающие продукты естественного происхождения в сочетании с определенными химическими соединениями. В такие среды обычно добавляют известные вещества, необходимые для роста клеток, а также небольшое количество дрожжевого или кукурузного экстракта (или другого природного продукта) для удовлетворения их неизвестных ростовых потребностей.
<i>Искусственные (синтетические)</i>	Среды, состоящие из растворов химически чистых соединений в точно определенных дозировках. Обязательными компонентами таких сред являются неорганические соединения (соли), а также углерод- и азотсодержащие вещества, например, глюкоза и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Синтетические среды являются результатом более детального изучения потребностей микроорганизмов в питательных веществах. Преимущества таких сред заключаются в том, что они хорошо воспроизводимы, поэтому они находят все большее применение в экспериментальных исследованиях и в промышленности.

Классификация питательных сред по консистенции

Питательные среды	Характеристика
<i>Жидкие</i>	Представляют собой настои, отвары, бульоны, приготовленные на основе мяса, рыбы, овощей (естественные среды), а также смеси с определенными концентрациями химических соединений (искусственные среды). Используются для изучения физиолого-биохимических характеристик микроорганизмов, накопления биомассы или продуктов обмена, а также для поддержания и хранения микроорганизмов, которые плохо культивируются на плотных средах. Рост микроорганизмов на жидкой среде проявляется в виде помутнения и изменения цвета среды.
<i>Полужидкие</i>	Получают путем добавления к жидким средам 0,5–0,9% агара или 5–7% желатина, что придает им мягкую желеподобную консистенцию. Используются для хранения культур, накопления биомассы (например, анаэробов), определения подвижности и хемотаксиса микробных клеток, а также культивирования микроаэрофилов.
<i>Плотные</i>	Готовят на основе жидких сред, с добавлением агар-агара (в концентрации 1,5–3%), желатина (10–15%) или силикагеля (1,5%). Твердые среды необходимы для получения чистых культур, количественного учета и хранения культур микроорганизмов, для диагностических целей, а также для определения антагонистических свойств и в других случаях.
<i>Сыпучие</i>	В основном служат для хранения микроорганизмов в медицинской и микробиологической промышленности. Например, используются отруби, разваренное пшено, кварцевый песок обработанные специальным раствором.
<i>Сухие</i>	Представлены в виде порошков или гранул с влажностью не более 10%, которые легко растворяются в воде. Широко используются благодаря своей мобильности, удобству хранения и простоте приготовления готовых к применению сред.

Отвердители питательных сред

Отвердитель	Происхождение	% содержания в питательных средах	Применение
<i>Агар</i>	Высокомолекулярный полисахарид (также его называют гидроколлоид), который получают из красных и бурых морских водорослей	Плотные – 1,5–3%, полужидкие – 0,5–0,9%	Используют в качестве гелеобразующего вещества для приготовления плотных питательных сред, благодаря тому что большинство микроорганизмов не могут использовать его в качестве питания, то есть не способны расщеплять агар ввиду отсутствия у них соответствующих ферментов. Устойчивость агара к разжижающему действию большинства микроорганизмов, а также способность образовывать прочные студни обусловили его широкое применение в микробиологии и биотехнологии.
<i>Желатина</i>	Белок, получаемый путем вываривания костей и хрящей животных	Плотные – 10–15%, полужидкие – 5–7%	Для приготовления плотных питательных сред желатина используется редко в качестве гелеобразующего вещества, поскольку образуемый им гель плавится при температуре 25 °С, т.е. более низкой, чем обычная температура инкубации (37 °С) микроорганизмов. Также многие микроорганизмы обладают протеолитическими ферментами и используют желатину в качестве источника питания.

Силикагель (кремнекислый гель)	Аморфная форма кремния диоксида, представляющая собой продукт частичной дегидратации гелей кремниевых кислот.	Плотные – 1,5%	Используют для уплотнения минеральных сред или сред с низким значением рН, выращивания хемолитотрофов. При помощи силикагелевых сред можно определять потребность бактерий в витаминах.
---------------------------------------	---	----------------	---

Таблица 9

Классификация питательных сред по способу производства

Питательные среды	Характеристика
Коммерческие	Изготавливаются промышленным способом и, в свою очередь, подразделяются на среды, готовые к применению, и сухие питательные среды. Такие среды имеют ряд преимуществ: они унифицированы, технологический процесс их изготовления строго регламентирован, качество на всех этапах производства контролируется по физико-химическим и биологическим показателям в соответствии с требованиями нормативной документации.
Среды лабораторного изготовления	Готовятся непосредственно в лабораториях по рецептам. Преимуществом таких сред является возможность внесения лабильных соединений, обеспечивающих рост требовательных микроорганизмов, непосредственно перед посевом

Таблица 10

Классификация питательных сред по назначению

Питательные среды	Характеристика
Универсальные (основные)	Используются для культивирования большинства относительно неприхотливых микроорганизмов, не имеющих сложных питательных потребностей, или служат основой для приготовления специальных сред, к которым добавляют кровь, сахар, молоко, сыворотку и другие ингредиенты, необходимые для размножения

	конкретных видов микроорганизмов. Примеры таких сред включают мясо-пептонный агар, триптиказо-соевый агар, бульон Хоттингера, сусло-агар, пептонную воду и другие.
Специальные	Предназначены для выделения и селективного культивирования конкретных видов микроорганизмов или для выявления специфических метаболических характеристик.

Питательные среды могут содержать различные органические и неорганические соединения, предназначенные для конкретных целей. Например, аминокислоты, такие как лизин, орнитин, аргинин и глутаминовая кислота добавляются для определения декарбоксилазной активности микроорганизмов, цистеин – для оценки цистеиназы и в качестве стимулятора, триптофан – для выявления индолообразования, фенилаланин – для определения дезаминазы, мочевины – для оценки уреазной активности. Соли лимонной, малоновой и винной кислот используются для определения способности микроорганизмов утилизировать эти соединения как единственный источник углерода. О-нитрофенил β -D-галактопиранозид применяется для выявления фермента галактозидазы. Яичный желток служит субстратом для определения лецитиназы и липазы, желатин – для выявления протеолитических ферментов, а соли железа – для определения сероводорода.

Выделяют следующие *виды специальных сред*.

Таблица 11

Виды специальных сред

Питательные среды	Назначение	Пример
Сложные	Готовят на основе универсальных с добавлением отдельных компонентов для выявления определенных свойств микроорганизмов.	Молочный агар Эйкмана – среда для выявления протеолитической активности микроорганизмов

<p>Элективные</p>	<p>Содержат компоненты, которые ингибируют рост одних микроорганизмов, но не влияют на рост других. В качестве таких веществ применяют анилиновые красители, желчь, натрия хлорид и др. Обычно такие среды используют для выделения определенных видов микроорганизмов из смешанных популяций.</p>	<p>Щелочная пептонная вода является элективной средой для <i>Vibrio cholera</i>, <i>V. parahaemolyticus</i>, <i>V. vulnificus</i> и других видов <i>Vibrio</i>, pH которой колеблется от 8.6</p>
<p>Селективные</p>	<p>Содержат не только ингибиторы роста определенных видов микроорганизмов, но и вещества, стимулирующие рост других микроорганизмов</p>	<p>Среда Мюллера является селективной для тифо-паратифозных бактерий. Фуразолидоно-твиновый агар – для коринебактерий и микрококков.</p>
<p>Дифференциально-диагностические</p>	<p>Являются сложными средами, позволяющие выделять чистую культуру микроорганизмов с одновременной их идентификацией по какому-либо биохимическому свойству. Такие среды содержат питательную основу, дифференцирующее вещество (субстрат) и индикатор</p>	<p>Среда Эндо предназначена для культивирования бактерий группы кишечной палочки, позволяет отличить микроорганизмы, ферментирующие лактозу до ацетальдегида от тех, которые не обладают этим свойством. В состав среды входят: питательная основа, бактериологический агар, лактоза и цветной индикатор – основной фуксин. Исходная питательная среда имеет розовый цвет. Микроорганизмы, не ферментирующие лактозу, образуют бесцветные или розовые колонии в тон среды.</p>

		При ферментации лактозы до ацетальдегида последний реагирует с сульфитом, в результате чего колонии окрашиваются в малиновый или красный цвет с металлическим блеском.
Накопительные или среды обогащения	На таких средах определенные виды культур растут быстрее и интенсивнее сопутствующих микроорганизмов. Среда может состоять из веществ, подавляющих рост нежелательных микроорганизмов или компонентов, способствующих росту необходимых культур.	Бульон сахарный предназначен для выращивания кокковой группы бактерий.
Транспортные (или консервирующие)	Применяют для поддержания жизнеспособности микроорганизмов с момента сбора материала до его посева. Состав такой среды должен предотвращать чрезмерное размножение сопутствующей микрофлоры во время транспортировки и хранения.	Полужидкая среда Стюарта представляет собой бедный питательными веществами субстрат, предназначенный для сохранения и транспортировки различных патогенных микроорганизмов. В этой среде наиболее требовательные микроорганизмы могут сохраняться более суток, а остальные – до нескольких дней. Полужидкая среда Эймса предназначена для сохранения жизнеспособности широкого круга бактерий, в том числе требовательных, с момента забора материала для посева до начала микробиологического исследования

Хромогенные и флюорогенные	Предназначены для предварительной идентификации микроорганизмов в диагностических целях. Внедрены в практику микробиологии для одновременного определения широкого спектра микроорганизмов на одной чашке Петри с первичным посевом, за счёт роста микроорганизмов разных видов в виде колоний определённых цветов, либо способности колоний к флюоресценции при ультрафиолетовом облучении. В состав таких сред, помимо ростовых и селективных компонентов, включены субстрат (субстраты) меченый (ые) хромогеном. Колонии микроорганизмов, разлагающие хромогенный субстрат, приобретают определённый цвет.	Разработаны хромогенные среды для выделения и предварительной идентификации листерий, сальмонелл, шигелл, <i>E. coli</i> O157, кандид, устойчивых к метициллину стафилококков (MRSA) и др. Chromocult Coliform Agar (ССА) среда предназначена для одновременного обнаружения и подсчета колиформных бактерий и <i>E.coli</i> в термически обработанных продуктах и питьевой воде.
Среды для хранения культур	Предназначены для продолжительного хранения чистых культур микроорганизмов в лабораторных условиях. Основное требование к таким средам — способность длительно поддерживать жизнеспособность культур без изменения их основных свойств.	Для хранения культур микроорганизмов в лабораторных условиях используют универсальные плотные или полужидкие питательные среды с последующим добавлением стерильного минерального масла (например, вазелинового масла) для защиты культур от высыхания и снижения их метаболизма.

		ГНК агар предназначен для выделения гонококка при исследовании инфицированного материала, а также в качестве среды для культивирования и хранения гонококка в лабораторных условиях
--	--	--

По составу питательные среды делятся на:

1. Белковые
2. Безбелковые
3. Минеральные

Индикаторы, используемые при приготовлении специальных питательных сред

В состав специальных сред часто включают различные индикаторы, которые позволяют определить образование кислоты или щелочи по изменению цвета среды в результате ферментативной активности микроорганизмов. Для этого необходимо выбрать подходящий рН-индикатор, соответствующий задаче, и убедиться, что он не подавляет рост микроорганизмов.

Таблица 12

Индикаторы, используемые при приготовлении специальных питательных сред

Название индикатора	Окраска среды в зависимости от величины рН			Пример специальных сред с использованием индикатора
	<i>щелочная</i>	<i>нейтральная</i>	<i>кислая</i>	
Андреде	бесцветный	бесцветный	красный	цветные среды Гисса с углеводами
Бромтимоловый синий	бирюзовый	зеленый	желтый	цветные среды Гисса с углеводами,

Название индикатора	Окраска среды в зависимости от величины рН			Пример специальных сред с использованием индикатора
	щелочная	нейтральная	кислая	
				Иерсиния – агар, среда Эйкмана с лактозой, среда Ресселя, TCBS-агар, среда VP (для <i>Vibrio parahaemolyticus</i>)
Феноловый красный	малиновый	красный	желтый	бульонные среды с феноловым красным (БФК), агаровые среды с феноловым красным (АФК), XLD – агар, маннит-солевой агар
Бромкрезоловый пурпурный	фиолетовый	красный	желтый	бульон МакКонки
Метиловый красный	желтый	желтый	красный	среда Кларка
Фенолфталеин	розовый	бесцветный	оранжевый	фенолфталеиновый агар
BP (водный голубой и розоловая кислота)	малиновый	бесцветный	синий	цветные среды Гисса с углеводами
Бромфеноловый синий	синий	синий	желтый	агар сывороточный БФ
Тимоловый синий	синий	желтый	красный	TCBS-агар, среда VP (для <i>Vibrio parahaemolyticus</i>)

Ингибиторы роста микроорганизмов

Ингибиторы роста микроорганизмов различной природы обычно вносят в среды для подавления сопутствующей микрофлоры. Например, с помощью добавления в среды активированного угля, крахмала или сыворотки из среды можно удалить жирные кислоты, следовательно, микроорганизмы использующие в качестве источника питания жиросодержащие соединения не будут расти на таких средах. Также глюкозофосфаты, образующиеся в процессе нагревания среды обладают значительным ингибирующим эффектом. Перекись водорода, образующаяся в средах после ультрафиолетового облучения или после стерилизации автоклавированием ингибирует рост штаммов бактерий, не содержащих каталазу.

В практике для культивирования патогенных бактерий необходимо подавить рост сопутствующей микрофлоры. В связи с чем, в среды добавляют различные селективные ингибиторы роста. Для подавления роста грамотрицательных микроорганизмов применяют тетрациклин натрия и калия, теллурид калия, ацетат таллия, сульфат таллия, селенит натрия. Для угнетения роста грамположительных — анилиновые красители, такие как: бриллиантовый зеленый, кристаллический фиолетовый, этиловый фиолетовый, анилиновый синий. Желчь и соли желчных кислот вводят в состав сред для выращивания патогенных энтеробактерий.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Как классифицируются питательные среды?
2. Чем отличаются друг от друга селективные, селективные и дифференциально-диагностические среды?
3. Назовите требования, предъявляемые к питательным средам.
4. Какие индикаторы используются при приготовлении питательных сред?
5. Что такое ингибиторы роста микроорганизмов?

Для закрепления изученного материала рекомендуется выполнить практические задания.

Практическое задание № 1

Рост микроорганизмов на разных питательных средах

Цели:	1. Ознакомиться с технологией приготовления различных питательных сред для культивирования микроорганизмов; 2. изучить особенности роста микроорганизмов на разных питательных средах.
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: автоклав, термостат, стеклянные колбы, весы, чашки Петри, пробирки с ватно-марлевыми пробками, шпатель Дригальского, горелка (спиртовка), микробиологическая петля, лупа, ступка и пестик, автоматические пипетки различного объема. Питательные среды: ГРМ-агар, среда Эндо.
Объект исследования	Пробы воды и почвы.

Для проведения занятия необходимо приготовить среды ГРМ-агар и Эндо согласно протоколу.

Таблица 13

Способы приготовления ГРМ-агара и среды Эндо

Название среды	Состав (г/л), способ приготовления	Предназначение	Ход эксперимента
ГРМ-агар	Панкреатический гидролизат рыбной муки – 15; панкреатический гидролизат казеина – 10; дрожжевой экстракт – 2; NaCl – 3,5; глюкоза – 1; агар бактериологический – 10,0±2; дистиллированная вода – 1 л. pH 7,2±0,2.	Среда для культивирования широкого круга организмов с получением одиночных колоний на чашках Петри и определения общего микробного числа (ОМЧ).	Для определения особенностей роста микроорганизмов на питательных средах, пробы воды, почвы или других образцов необходимо нанести на поверхность агаризованных сред ГРМ-агар и Эндо в чашках Петри.

	<p>Автоклавируют при 121 °С в течение 15 мин.</p> <p>Стерильные среды разливают в чашки Петри по 10–15 мл и остужают до полного застывания.</p>		<p>Для этого образцы в объеме 10 мкл распределяют при помощи стерильного шпателя Дригальского по поверхности питательной среды в одной чашке. Потом, не прожигая шпатель на огне, делают им же посев на 2-ой и 3-ей чашке. Суть метода Дригальского заключается в том, что с каждым последующим посевом образца концентрация микробных клеток уменьшается, благодаря чему можно получить изолированные колонии микроорганизмов. Инкубировать 24-48 часов при комнатной температуре.</p>
Среда Эндо	<p>Панкреатический гидролизат рыбной муки – 12; дрожжевой экстракт – 1; NaCl – 3,4; Д-лактоза – 10; Na₂SO₃ – 0,8; Na₂HPO₄*12H₂O – 0,5; фуксин основной – 0,2; агар бактериологический-10,0±3,0; дистиллированная вода – 1 л. рН 7,5 ± 0,2. Не требует автоклавирования, среду кипятят до полного растворения компонентов, далее разливают в чашки Петри по 10–15 мл и остужают до полного застывания.</p>	<p>Среда предназначена для селективного выделения бактерий семейства <i>Enterobacteriaceae</i>, а также их дифференциации по способности к ферментации лактозы.</p>	

Учет результатов роста микроорганизмов на среде ГРМ-агар
Опишите колонии микроорганизмов по следующим признакам.

Признаки колоний микроорганизмов

Признак колонии микроорганизмов	Описание
Размер	крупные – диаметром 4-6 мм и более, средние – 2-4 мм, мелкие – 1-2 мм и точечные колонии диаметром менее 1 мм.
Форма	округлая, круглая с фестончатым краем, округлая с валиком по краю, ризоидная, круглая с ризоидным краем, амёбовидная, нитевидная, складчатая, неправильная, концентрическая, сложная.
Профиль	изогнутый, кратероподобный бугристый, растающий в агар, плоский, выпуклый, каплевидный, конусообразный.
Характер поверхности	шероховатая, блестящая, матовая, сухая, влажная, гладкая, радиально или концентрически исчерчена
Цвет	зависит от способности микроорганизма образовывать пигмент: белый, желтый, красный, сине-зеленый. Бактерии, не синтезирующие пигмент, формируют бесцветные колонии.
Прозрачность	непрозрачная, полупрозрачная, прозрачная.
Структура	однородная (гиалиновая), зернистая, волокнистая и т.д.
Консистенция	пастообразная, слизистая, плотная (сухая), кожистая, хрупкая и т.д.

Учет результатов роста микроорганизмов на среде Эндо

Опишите колонии микроорганизмов по следующим признакам.

Признаки колоний микроорганизмов при росте на среде Эндо

Внешний вид колоний	Лак-тозо+	Лак-тозо-	Референсные микроорганизмы
Красные	+	-	<i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>

Красные с металлическим блеском	+	-	<i>Escherichia coli</i>
Розовые	+	-	<i>Shigella sonnei, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis, Enterobacter aerogenes</i>
Бесцветные, прозрачные	-	+	<i>Shigella sonnei, Salmonella typhimurium, Shigella flexneri, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis</i>

В чем заключается принцип действия среды Эндо?

Найдите на поверхности агаризованных сред следующие типы колоний микроорганизмов.

Таблица 16

Типы колоний микроорганизмов

Тип колоний	Характеристики
S-форма	круглые, выпуклые, с ровным краем, прозрачные или опалесцирующие в проходящем свете, гомогенные, с блестящей поверхностью;
R-форма	более плоские матовые колонии, часто неправильной формы с бахромчато-извилистым краем и складчатой «гирозной» поверхностью;
M-форма	влажные, слизистые колонии, часто окаймленные слизистым валиком, сливающимся затем в общую массу вязкой консистенции, тянущуюся за движением микробиологической петли;
D-форма	очень мелкие, карликовые колонии, развивающиеся нередко в виде так называемых дочерних новообразований преимущественно по краю нормально развитых колоний или изолированно от них.

Практическое задание № 2 (1 часть)

Определение способности микроорганизмов к утилизации различных органических субстратов

Цели:	1. Ознакомиться с технологией приготовления различных питательных сред для изучения свойств микроорганизмов; 2. изучить особенности роста микроорганизмов на разных питательных средах.
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: автоклав, термостат, стеклянные колбы, весы, чашки Петри, пробирки с ватно-марлевыми пробками, шпатель Дригальского, горелка (спиртовка), микробиологическая петля, лупа, ступка и пестик, автоматические пипетки различного объема. Питательные среды: среды Гисса, Молочный агар Экмана, среда с добавлением Твин – 20 (60, 80), среда с добавлением крахмала, модифицированная среда Ворошиловой-Диановой.
Объект исследования	Чистые культуры бактерий.

Для проведения занятия необходимо приготовить среды: «Пестрый ряд» Гисса, молочный агар Эйкмана, агаризованные среды с крахмалом и Твин – 20 (60,80).

Таблица 17

Способы приготовления сред: «Пестрый ряд» Гисса, молочного агара Эйкмана, агаризованных сред с крахмалом и Твин – 20 (60,80)

Название среды	Состав г/л, способ приготовления	Предназначение	Ход работы
Среды Гисса	Панкреатический гидролизат рыбной муки – 6; NaCl – 3,5; Na ₂ HPO ₄ – 0,2; бромтимоловый синий – 0,04;	Среда для выявления ферментативной активности микроорганизмов по отношению к сахарам и	Исследуемые штаммы бактерий необходимо внести в пробирки со средой Гисса с помощью укола микробиологической петлей в глубину агара. Инкубировать 18–20 ч при

	<p>агар бактериологический – 3,5±0,5 дистиллированная вода – 1 л рН 7,0 ± 0,2. Концентрация каждого из используемых субстратов: лактозы, глюкозы, сахарозы, мальтозы и многоатомного спирта маннита составляет – 3,5 г. Готовые среды разливают по 5–7 мл в пробирки, закрывают ватно-марлевыми пробками и автоклавируют при 112 °С в течение 20 мин. Остужают до полного застывания.</p>	<p>многоатомным спиртам. Готовая среда сине-зеленого цвета.</p>	<p>температуре (37±1) °С. В случае положительной реакции происходит образование кислоты с изменением цвета среды от сине-зеленого до желто-зеленого или желтого, образование газа сопровождается появлением «пузырьков» в глубине среды или на ее поверхности. При отсутствии изменения окраски реакция считается отрицательной.</p>
<p>Молочный агар Эйкмана</p>	<p>ГРМ-агар (по прописи) – 1 л; молоко (пастеризованное) обезжиренное – 66,7. ГРМ-агар автоклавируют при 121°С в течение 15 мин, остужают до 45°С и добавляют молоко, разливают в чашки Петри по 10–15 мл и остужают до полного застывания.</p>	<p>Среда для определения протеолитической активности микроорганизмов</p>	<p>Суточные культуры микроорганизмов необходимо высевать на чашках Петри методом штриха и инкубировать при температуре 25 °С в течение 3-4 суток. Протеолитическую активность определяют по появлению зон гидролиза вокруг колоний. В процессе гидролиза происходит свертывание с образованием сгустков казеина и его пептонизация с</p>

			<p>последующим лизисом. Зону гидролиза казеина измеряют от края штриха (колонии) до границы светлой зоны в миллиметрах. Чем больше диаметр светлой зоны, тем выше активность протеазы.</p>
<p>Среда с добавлением Твин – 20 (60, 80)</p>	<p>ГРМ-агар (по прописи) – 1 л; Твин – 20 (60, 80) – 30. ГРМ-агар автоклавируют при 121 °С в течение 15 мин, остужают до 45°С и добавляют стерильный Твин, готовые среды разливают в чашки Петри по 10–15 мл и остужают до полного застывания.</p>	<p>Среда для определения липазной активности</p>	<p>Суточные культуры микроорганизмов необходимо высевать на поверхность агара в чашках Петри методом штриха и инкубировать при температуре 25°С в течение 3–4 суток. Липолитическую активность определяют по появлению помутнения вокруг колоний бактерий, вызванного образованием кристаллов кальциевого мыла. Зону гидролиза жиросодержащих соединений измеряют от края штриха (колонии) до границы зоны помутнения в миллиметрах. Чем больше диаметр зоны помутнения, тем выше активность липазы.</p>

Среда с добавлением крахмала	<p>Крахмал растворимый – 30; NaNO_3 – 2; K_2HPO_4 – 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; KCl – 0,5; FeSO_4 – 0,01; агар бактериологический – 20; дистиллированная вода – 1 л.</p> <p>Среду автоклавировуют при 121°C в течение 15 мин, готовую среду разливают в чашки Петри по 10–15 мл и остужают до полного застывания.</p>	Среда для определения амилазной активности	<p>Суточные культуры микроорганизмов необходимо высеять на поверхность агара в чашках Петри методом штриха и инкубировать при температуре 25°C в течение 3–4 суток. Для выявления амилалитической активности в чашки с крахмальной средой добавляют раствор Люголя (от 3 до 5 мл). Крахмал в среде окрашивается в синий цвет, а зоны гидролиза, где крахмал был расщеплен, остаются бесцветными или приобретают красно-бурную окраску, если крахмал гидролизовался до декстринов. Зону гидролиза крахмала измеряют от края штриха (колонии) до границы светлой зоны в миллиметрах. Чем больше диаметр светлой зоны, тем выше активность амилазы.</p>
------------------------------	---	--	---

Запишите полученные результаты в таблицу.

Пример оформления результатов

№ штамма	Среда Гисса с глюкозой	Среда Гисса с лактозой	Среда Гисса с сахарозой	Среда Гисса с мальтозой	Среда Гисса с маннитом	Молочный агар Эйкмана	Среда с добавлением Твин – 20 (60, 80)	Среда с добавлением крахмала
1	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
2	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

+ положительная реакция, – отрицательная реакция.

Опишите питательные среды в соответствии с классификацией.

Пример оформления результатов

Питательная среда	По происхождению	По консистенции	По способу производства	По назначению	По составу
ГРМ-агар					
Эндо					
Среда Гисса					
Молочный агар Эйкмана					
Среда Ворошилова-Дианова					
Среда с крахмалом					
Среда с Твин-20 (60,80)					

Практическое задание № 2 (2 часть)

Определение способности микроорганизмов к утилизации различных органических субстратов

Для проведения занятия необходимо приготовить модифицированную среду Ворошиловой-Диановой (Ворошилова, Дианова, 1952) следующего состава (г/л):

NaCl – 10;

NH₄NO₃ – 1;

K₃HPO₄ – 1;

KH₂PO₄ – 1;

MgSO₄ – 0,2;

CaCl₂ – 0,02;

FeCl₂ – 2 капли концентрированного раствора;

агар бактериологический – 15;

дистиллированная вода – 1 л.

Готовую среду автоклавируют при 121 °С в течение 15 мин.

В качестве единственного источника питания добавляют один из стерильных субстратов, таких как *хитин, хитозан, фукоидан, клетчатка, хитин-глюкановый комплекс, альгинат натрия*.

Для проведения эксперимента сначала необходимо измельчить субстраты механическим способом до порошкообразного состояния и простерилизовать их под ультрафиолетовым излучением в закрытом боксе в течение 60 минут. Затем в расплавленную и остуженную до 45°С стерильную модифицированную среду Ворошиловой-Диановой добавить субстрат в соотношении 10 грамм субстрата на 1 литр среды, разлить в стерильные чашки Петри, высушить под ультрафиолетовым излучением в течение 30 минут. Стерильность созданных сред оценивают по отсутствию роста посторонней микрофлоры в течение 10 суток при комнатной температуре.

На поверхность охлажденной агаризованной среды с субстратом необходимо посеять суточные культуры микроорганизмов, параллельно высевают на минеральную среду без добавления источ-

ника углерода в качестве контроля. Инкубировать в течение 10 суток при комнатной температуре. При положительной реакции рост микроорганизмов должен наблюдаться только на среде с исследуемым субстратом. Если рост наблюдается одновременно на контрольной среде и на среде с субстратом, реакцию считают отрицательной.

Для определения способности микроорганизмов к утилизации углеводородов нефти на модифицированной среде Ворошиловой-Диановой добавляют 10 мл сырой нефти на 1 л среды в качестве единственного источника углерода. В расплавленную и охлажденную стерильную среду Ворошиловой-Диановой необходимо добавить стерильную сырую нефть, разлить в стерильные чашки Петри, высушить под ультрафиолетовым излучением в течение 30 минут. На поверхность остывшей среды необходимо посеять суточные культуры микроорганизмов. Инкубацию проводят в течение 10 суток при комнатной температуре, после чего отмечают рост микроорганизмов.

Запишите полученные результаты в таблицу.

Таблица 20

Пример оформления результатов

№ штамма	хитин	хитозан	хитин-глюкановый комплекс	фукоидан	клетчатка водорослей	альгинат натрия	сырая нефть
1	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
2	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

+ есть рост колоний, – нет роста колоний.

Тренировочные тестовые задания № 1

1. Что включает в себя контроль качества приготовленных питательных сред?

- А) определение прозрачности и цветности
- Б) определение стерильности
- В) измерение рН
- Г) А и Б
- Д) Б и В
- Е) все ответы верны

2. Соотнесите правильные ответы:

1) Плотные среды	А) 1,5-3% агара Б) 0,5-0,9% агара В) 2-3% агара Г) 0,3-0,5% агара Д) 5-7% желатина Е) 10-15% желатина
2) Полужидкие среды	З) 20-30% желатина И) 3-5% желатина К) 1,5% силикогеля Л) 3% силикогеля

3. К универсальным питательным средам относятся (несколько правильных ответов):

- А) Пептонная вода
- Б) Мясо-пептонный агар
- В) Среда Эйкмана
- Г) Бульон Хоттингера
- Д) Щелочная пептонная вода

4. К специальным питательным средам относятся (несколько правильных ответов):

- А) Пептонная вода
- Б) Мясопептонный агар
- В) Среда Эйкмана

- Г) Бульон Хоттингера
- Д) Щелочная пептонная вода

5. Среды, позволяющие выделять чистую культуру микроорганизмов с одновременной их идентификацией по какому-либо биохимическому свойству:

- А) дифференциально-диагностические
- Б) элективные
- В) полужидкие
- Г) среды обогащения
- Д) селективные

6. Среды, содержащие вещества, подавляющие рост одних микроорганизмов, но не влияющие на рост других относят к

- А) дифференциально-диагностическим
- Б) элективным
- В) полужидким
- Г) средам обогащения
- Д) селективным

7. Среды, содержащие не только вещества, подавляющие рост отдельных видов микроорганизмов, но и стимуляторы роста других микроорганизмов являются:

- А) дифференциально-диагностическими
- Б) элективными
- В) полужидкими
- Г) средами обогащения
- Д) селективными

8. Среды, на которых культуры определенных видов микроорганизмов растут быстрее и интенсивнее сопутствующих микроорганизмов – это:

- А) дифференциально-диагностические
- Б) элективные
- В) полужидкие
- Г) среды обогащения
- Д) селективные

9. Питательная среда, используемая для культивирования бактерий семейства *Enterobacteriaceae*:

- А) среда Чистовича
- Б) среда Эндо
- В) среда Сабуро
- Г) среда Вильсон-Блер

10. Питательная среда, используемая для культивирования стафилококков:

- А) среда Чистовича
- Б) среда Эндо
- В) среда Сабуро
- Г) среда Вильсон-Блер

11. Питательные среды для культивирования грибов (несколько правильных ответов):

- А) среда Чистовича
- Б) среда Эндо
- В) среда Сабуро
- Г) среда Вильсон-Блер
- Д) Среда Чапека

12. Как называется скопление микроорганизмов одного вида?

- А) штамм
- Б) чистая культура
- В) колония
- Г) популяция

13. В жидких питательных средах микроорганизмы растут:

- А) в виде колоний
- Б) в виде пленки
- В) в виде осадка
- Г) равномерно по всему объему среды
- Д) верно Б, В, Г
- Е) верно Б и В
- Ж) верно А, Б, В, Г

14. Свойства, характеризующие способность микроорганизмов расти на различных питательных средах:

- А) морфологические

- Б) культуральные
- В) тинкториальные
- Г) биохимические
- Д) протеолитические

15. Способность микроорганизмов к деструкции белков, на средах, содержащих желатин, молоко, сыворотку относится к свойствам:

- А) морфологические
- Б) культуральные
- В) тинкториальные
- Г) биохимические

16. Микроорганизмы, использующие в качестве питания органический углерод являются:

- А) гетеротрофами
- Б) автотрофами
- В) фототрофами
- Г) хемотрофами

17. Микроорганизмы, использующие в качестве питания неорганический углерод:

- А) гетеротрофы
- Б) автотрофы
- В) фототрофы
- Г) хемотрофы

18. Микроорганизмы, получающие энергию за счет окислительно-восстановительных реакций:

- А) гетеротрофы
- Б) автотрофы
- В) фототрофы
- Г) хемотрофы

19. Микроорганизмы, которые способны питаться только за счет макроорганизма:

- А) сапротрофы
- Б) паразиты
- В) сапрозоозы

- Г) комменсалы
- Д) верны все, кроме Г
- Е) верны все, кроме В и Г
- Ж) верны все

20. Микроорганизмы, которые питаются только мертвыми органическими остатками:

- А) сапротрофы
- Б) паразиты
- В) сапрозоонозы
- Г) комменсалы
- Д) верны все, кроме Г
- Е) верны все, кроме В и Г

21. Механизм поступления питательных веществ в клетку по градиенту концентраций без затраты энергии называется:

- А) пассивная диффузия
- Б) активный перенос
- В) транслокация
- Г) активная диффузия

22. Механизм, при котором питательные вещества поступают в клетку благодаря пермеазам, когда их концентрация снаружи клетки выше, чем внутри, называется:

- А) активный перенос
- Б) облегченная диффузия
- В) транслокация
- Г) пассивная диффузия

23. Механизм поступления питательных веществ в клетку, происходящий с помощью пермеаз и направленный на перенос веществ от меньшей концентрации в сторону большей и сопровождаемый затратой энергии, называется:

- А) транслокация
- Б) пассивная диффузия
- В) активный транспорт
- Г) облегченная диффузия

24. Механизм поступления питательных веществ в клетку, сопровождаемый тем, что переносимое вещество в процессе транспорта подвергается химической модификации:

- А) облегченная диффузия
- Б) активный перенос
- В) пассивная диффузия
- Г) транслокация

25. По источникам получения углерода микроорганизмы делятся на:

- А) автотрофы и гетеротрофы
- Б) литотрофы и органотрофы
- В) фототрофы и хемотрофы
- Г) аминоксаутоотрофы и аминоксегетеротрофы

26. По источникам получения энергии микроорганизмы делятся на:

- А) литотрофы и органотрофы
- Б) автотрофы и гетеротрофы
- В) аминоксаутоотрофы и аминоксегетеротрофы
- Г) фототрофы и хемотрофы

27. По природе доноров электронов микроорганизмы делятся на:

- А) автотрофы и гетеротрофы
- Б) аминоксаутоотрофы и аминоксегетеротрофы
- В) литотрофы и органотрофы
- Г) фототрофы и хемотрофы

28. По усвоению азота микроорганизмы делятся на:

- А) автотрофы и гетеротрофы
- Б) аминоксаутоотрофы и аминоксегетеротрофы
- В) литотрофы и органотрофы
- Г) фототрофы и хемотрофы

29. Бактерии, использующие в качестве источника углерода органические соединения и играющие большую роль в уничтожении мертвых органических остатков, называются:

- А) литотрофы
- Б) фототрофы

- В) аминокототрофы
- Г) автотрофы
- Д) гетеротрофы
- Е) аминокотетротрофы
- Ж) органотрофы
- З) хемотрофы

30. Бактерии, использующие молекулярный азот воздуха, называются:

- А) автотрофы
- Б) аминокототрофы
- В) литотрофы
- Г) фототрофы
- Д) гетеротрофы
- Е) аминокотетротрофы
- Ж) органотрофы
- З) хемотрофы

31. Бактерии, получающие азот из органических соединений, называются:

- А) автотрофы
- Б) аминокототрофы
- В) литотрофы
- Г) фототрофы
- Д) гетеротрофы
- Е) аминокотетротрофы
- Ж) органотрофы
- З) хемотрофы

32. К хемолитоавтотрофным микроорганизмам относятся:

- А) нитрифицирующие, серобактерии, железобактерии
- Б) клубеньковые бактерии
- В) все патогенные микроорганизмы и сапрофиты
- Г) азотфиксирующие почвенные бактерии

33. К аминокототрофным микроорганизмам относятся (несколько правильных ответов):

- А) нитрифицирующие, серобактерии, железобактерии

- Б) азотфиксирующие почвенные бактерии
- В) клубеньковые бактерии
- Г) все патогенные микроорганизмы и сапротрофы

34. К аминокетеротрофным микроорганизмам относятся:

- А) азотфиксирующие почвенные бактерии
- Б) клубеньковые бактерии
- В) нитрифицирующие, серобактерии, железобактерии
- Г) все патогенные микроорганизмы и сапротрофы

Способы получения и запасаения энергии

АТФ выступает в качестве универсального переносчика энергии и содержит 2 макроэргические связи. При гидролизе 1 молекулы АТФ высвобождается около 32 кДж свободной энергии.

Существует несколько способов *получения и запасаения энергии в виде АТФ*.

Таблица 21

Способы получения и запасаения энергии в виде АТФ

Путь синтеза АТФ	Особенности процесса	Связь с мембраной	Реакция
<i>Субстратное фосфорилирование</i>	Фосфорилирование происходит на уровне субстрата. При данном способе фосфатная группа переносится на АДФ от вещества (субстрата), более богатого энергией, чем АТФ	Не связан с мембранными структурами и катализируется растворимыми ферментами промежуточного метаболизма.	$S \sim \Phi + \text{АДФ} \rightarrow S + \text{АТФ}$
<i>Окислительное фосфорилирование и фотофосфорилирование (мембранное фосфорилирование)</i>	Фосфорилирование (синтез АТФ из АДФ) происходит в процессе переноса электронов по дыхательной или фотосинтетической электронтранспортной цепи.	Связан с мембранными структурами, синтез АТФ происходит при участии фермента АТФ-синазы.	$\text{АДФ} + \Phi_{\text{н}} \rightarrow \text{АТФ}$

Все *окислительно-восстановительные реакции* у бактерий можно разделить на 3 типа.

Типы окислительно-восстановительных реакций

Тип	Донор Н ⁺ и е ⁻	Акцептор	Особенности
<i>Аэробное дыхание</i>	Органические и неорганические вещества	O ₂	Энергия образуется в электронтранспортной цепи (мембранное фосфорилирование).
<i>Анаэробное дыхание</i>	Органические и неорганические вещества	NO ³⁻ , NO ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , CO ₂ , фумарат и др.	Энергия образуется в электронтранспортной цепи (мембранное фосфорилирование).
<i>Брожение</i>	Органические вещества	Органические вещества	Энергия образуется в результате реакций субстратного фосфорилирования.

По типу дыхания бактерии подразделяются на несколько групп.

Типы дыхания бактерий

Тип	Концентрация кислорода	Особенности
<i>Облигатные (строгие) аэробы</i>	Не менее 20% кислорода в среде	Растут и размножаются только при свободном доступе кислорода. Кислород для облигатных аэробов является конечным акцептором электронов
<i>Микроаэрофильные бактерии (микроаэрофилы)</i>	До 1% кислорода в среде	Развиваются при низкой концентрации кислорода в окружающей среде.
<i>Факультативные анаэробы</i>	При любой концентрации кислорода в среде	Развиваются как при доступе кислорода, так и при его отсутствии. Они обладают смешанным типом метаболизма: в присутствии кислорода энергия у них запасается в результате дыхания, а при отсутствии кислорода процесс получения энергии переключается на брожение.
<i>Облигатные анаэробы</i>	Бескислородная среда	Растут и размножаются только в бескислородных условиях.

Большинство бактерий используют в качестве источника энергии и углерода глюкозу. Существует *три способа разложения глюкозы*, при этом, все пути катаболизма начинаются с фосфорилирования субстрата при участии фермента гексокиназы и АТФ как донора фосфата (рис. 1).

Таблица 24

Пути катаболизма глюкозы

Пути катаболизма глюкозы	Суммарная реакция
<i>Гликолиз или путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса</i>	глюкоза → 2ПВК + 2АТФ + 2НАД·Н ₂
<i>Окислительный пентозофосфатный путь или путь Варбурга-Диккенса-Хореккера</i>	глюкоза → 3 рибулозо-5-фосфат + СО ₂ + 2НАД·Н ₂ → 2 глюкозо-6-фосфат + 3-ФГА → 2 глюкозо-6-фосфат + ПВК + АТФ + 2НАД·Н ₂
<i>2-кето-3-дезоксиглюкоонатный путь (КДФГ-путь) или путь Энтнера-Дудорова</i>	глюкоза → 3ФГА + ПВК → 2ПВК + АТФ + НАД·Н ₂ + НАДФ·Н ₂

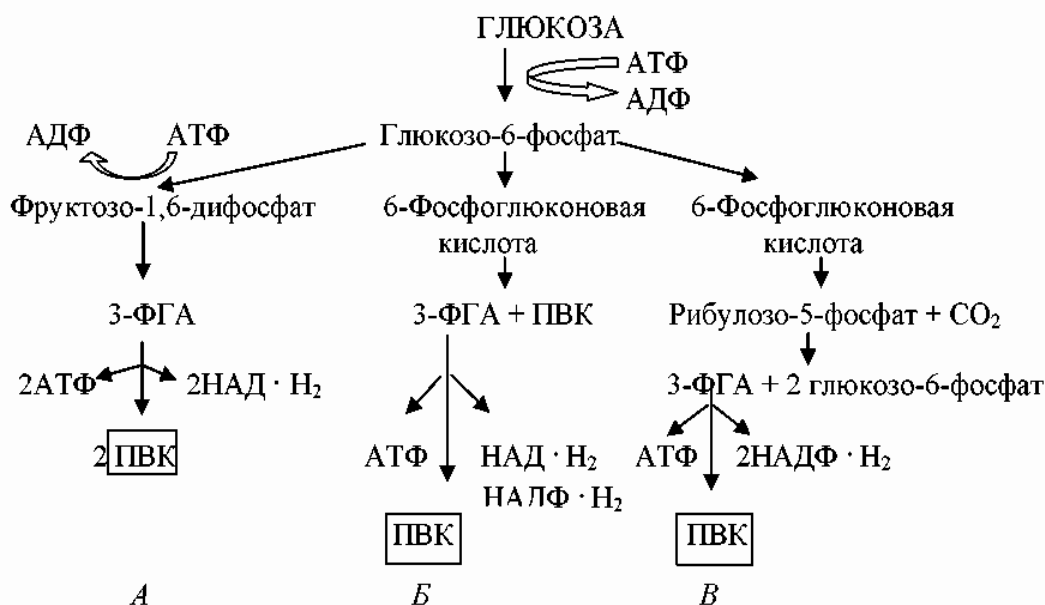


Рис. 1. Схема путей катаболизма глюкозы в клетках прокариот: А – гликолиз; Б – путь Энтнера-Дудорова; В – пентозофосфатный путь

Примечание: 3- ФГА – 3-фосфоглицериновый альдегид; ПВК – пировиноградная кислота

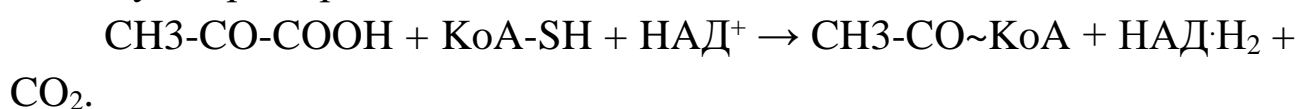
Реакции окисления пирувата

Микроорганизмы	Реакция	Примечание
<i>Аэробные</i>	$\text{ПВК} + \text{КоА} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{ацетил КоА} + \text{НАДН} + \text{H}^+ + \text{CO}_2$	Реакция катализируется ферментом пируватдегидрогеназой. Ацетил КоА, далее идет в цикл трикарбоновых кислот. Данная реакция является основным поставщиком ацетил КоА для цикла трикарбоновых кислот
<i>Анаэробные</i>	$\text{ПВК} + \text{КоА} + \text{FeS-белок} \rightarrow \text{ацетил КоА} + \text{FeS-белок (восстановленный)} + \text{CO}_2$	Из двух молекул восстановленного ферредоксина образуется водород. У анаэробов, это основной путь избавления от большого количества восстановителей.
<i>Анаэробные энтеробактерии и некоторые фототрофы</i>	$\text{ПВК} + \text{КоА} \rightarrow \text{ацетил КоА} + \text{формиат (муравьиная кислота)}$	Формиат быстро расщепляется до $\text{H}^+ + \text{CO}_2$
<i>Дрожжи</i>	$\text{ПВК} \rightarrow \text{альдегид} + \text{CO}_2$	Реакция катализируется ферментом пируваткарбоксилазой.
<i>E.coli</i>	$\text{ПВК} + \text{ФАД} \rightarrow \text{ацетил КоА} + \text{ФАД}^+ + \text{CO}_2$	Реакция осуществляется под действием фермента пируватоксидоредуктазы

Аэробное дыхание

Образуемая за счет вышеперечисленных процессов ПВК при аэробном типе дыхания у бактерий окисляется до ацетил-КоА за счет ферментов пируватдегидрогеназ.

Суммарная реакция:



Затем ацетил-КоА вступает в цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот) (рис. 2).

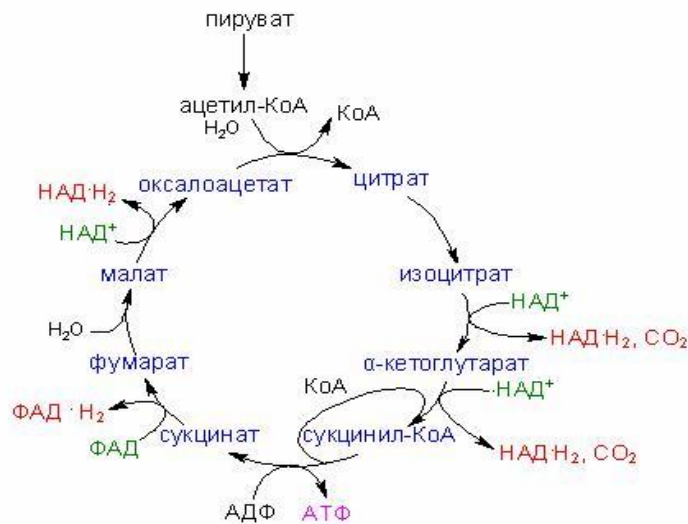


Рис. 2. Цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот)

В результате окисления ацетил-КоА в цикле Кребса образуются: 2CO_2 , АТФ и 8 атомов водорода (6 атомов – на уровне пиридиннуклеотидов и 2 атома – на уровне флавопротеинов).

Цикл Кребса также играет важную роль в обеспечении организма необходимыми предшественниками для процессов биосинтеза.

Далее происходит процесс, при котором восстановленные эквиваленты $\text{НАД}\cdot\text{Н}_2$ и $\text{ФАД}\cdot\text{Н}_2$ в цикле Кребса поступают в дыхательную цепь, которая у бактерий локализована в цитоплазматической мембране. В дыхательной цепи $\text{НАД}\cdot\text{Н}_2$ и $\text{ФАД}\cdot\text{Н}_2$ повторно окисляются до НАД^+ и ФАД^+ , а отщепившийся от них Н_2 передается за счет переносчиков на заключительный участок цепи, где соединяется с O_2 , образуя H_2O (рис. 3).

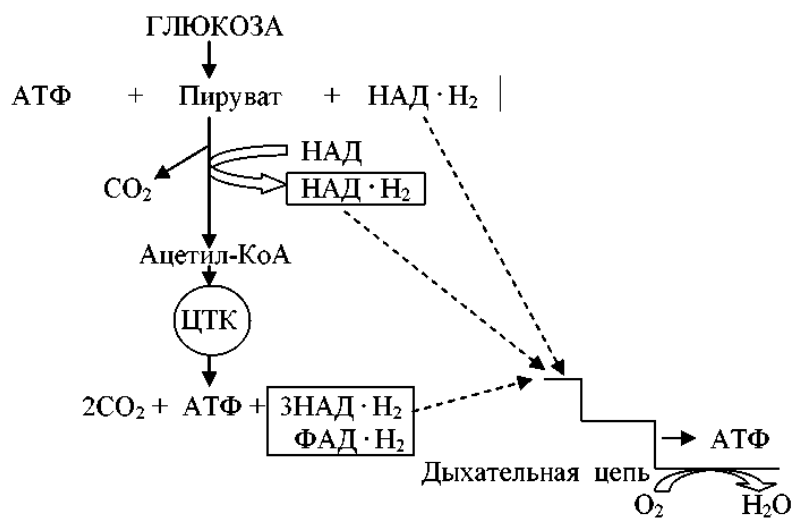


Рис. 3. Полная схема аэробного дыхания

Дыхательная цепь

Дыхательная цепь у бактерий расположена в цитоплазматической мембране и включает в себя несколько переносчиков водорода и электронов.

Таблица 26

Переносчики атомов водорода и электронов по дыхательной цепи

Переносчик	Характеристика
<i>Флавопротеины</i>	Флавопротеины содержащие в качестве простетической группы флавинмоноклеотид, является НАДФ·Н ₂ -дегидрогеназой, которые являются стартовыми переносчиками и осуществляют перенос водорода с НАДФ·Н ₂ на последующие компоненты дыхательной цепи, а содержащие флавинадениндинуклеотид – сукцинатдегидрогеназой, катализирующий окисление янтарной кислоты в фумаровую.
<i>Железосерные белки (FeS-белки)</i>	Содержат железосероцентры (FeS-центры), в которых атомы железа связаны, с одной стороны, с серой аминокислоты цистеина, а с другой – с неорганической сульфидной серой. FeS-центры могут входить в состав некоторых флавопротеинов или служить в качестве единственных простетических групп белков. FeS-центры могут переносить от 1 до 2 электронов по дыхательной цепи.
<i>Хиноны</i>	Из цикла Кребса, атомы водорода от ФАД·Н ₂ сразу поступают на хиноны. Являются жирорастворимыми соединениями, у грамотрицательных бактерий представлены убихинонами или менахинонами, участвуют в переносе атомов водорода.
<i>Цитохромы</i>	В качестве простетической группы цитохромы содержат гем. Различают цитохромы а, а ₃ , в, с, о и ряд других. Переносят электроны от хинонов к О ₂ , не транспортируют водород.

Суммарное уравнение аэробного дыхания:



Анаэробное дыхание

При анаэробном дыхании конечным акцептором электронов являются неорганические или органические соединения, но не O_2 .

Таблица 27

Виды анаэробного дыхания

Вид анаэробного дыхания		Акцептор	Восстановленный продукт	Представители
<i>Нитратное дыхание</i>	Диссимиляционная нитратредукция	NO_3^-	NO_2^-	Бактерии кишечной палочки
	Денитрификация	NO_2^-	$N_2O \rightarrow N_2$	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>
<i>Сульфатное дыхание</i>	Диссимиляционная сульфатредукция	SO_4^{2-}	H_2S	<i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfotomaculum</i>
<i>Серное дыхание</i>	Серуредукция	S^0	H_2S	<i>Desulfuromonas</i> , <i>Thermoproteus</i>
<i>Карбоксилатное дыхание</i>	Метаногенез	CO_2	CH_4	Метаногенные археи
	Ацетогенез	CO_2	ацетат	Гомоацетогенные бактерии
<i>«Железное» дыхание</i>		Fe^{2+}	Fe^{2+}	<i>Geobacter</i>
<i>Фумаратное дыхание</i>		фумаровая кислота (фумарат)	Сукцинат	<i>Bacteroides</i> , <i>Fibrobacter</i> , <i>Wolinella</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Klebsiella</i>

Брожение

Брожение – это процесс получения энергии, при котором продукты расщепления одного органического вещества могут одновременно служить и донорами, и акцепторами электронов.

В брожение, обычно вступают субстраты, которые не полностью восстановлены и не полностью окислены (сахара, аминокислоты, некоторые органические кислоты). Например, углеводороды не могут сбраживаться в анаэробных условиях, для их окисления необходим кислород.

Таблица 28

Типы брожения

Тип брожения	Суммарная реакция	Сбраживающие глюкозы	Возможные продукты брожения	Возбудители брожения
Спиртовое брожение	глюкоза \rightarrow 2 этанол + 2 CO_2 + 2 АТФ	гликолиз	Этанол, CO_2 , си- вусные масла, гли- церин	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. uvarum</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i> , <i>Erwinia amylovora</i> , <i>Sarcina ventriculi</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Spirochaeta aurantia</i> , <i>Thermoanaerobacter ethanolicus</i> , <i>Clostridium thermohydrosulfuricum</i> , <i>C. Thermocellum</i>)
Молочнокис- лое броже- ние	Гомофер- ментатив- ное глю- коза \rightarrow 2 лактат + 2АТФ	гликолиз	90% лак- тат 10% CO_2 , этанол, ацетат и др.	<i>Streptococcus cremoris</i> , <i>S. lactis</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>L. lactis</i>

	<p>Гетероферментативное</p> <p>1) глюкоза → лактат + АТФ + этанол + CO₂</p> <p>2) глюкоза → лактат + 2АТФ + ацетат + CO₂</p>	пентозофосфатный путь	50% лактат 50% CO ₂ , ацетат, этанол и др.	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Маслянокислое и ацетонобутиловое брожение	<p>1. Глюкоза → бутират + H₂ + CO₂</p> <p>2. Глюкоза → бутират + ацетат + H₂ + CO₂ + АТФ</p>	гликолиз	<p>Бутират, ацетат, H₂, CO₂</p> <p>При подкислении среды образуются нейтральные продукты: бутанол, изопропанол, этанол, ацетон</p>	<i>Clostridium butyricum</i> , <i>Clostridium tyrobutyricum</i> , <i>Clostridium pasteurianum</i> , <i>Clostridium pectinovorum</i>
Пропионовокислое брожение	Глюкоза → 2 пропионат + ацетат + CO ₂ + АТФ	гликолиз	Пропиона, ацетат, CO ₂ , ацетоин, диацетил и др.	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> , <i>P. acidipropionici</i>

Бифидобактерии проводят гетероферментативное молочнокислое брожение и сбраживают глюкозу до ацетата и лактата, но без образования CO₂. Согласно общей реакции, осуществляемой бифидобактериями из двух молекул глюкозы, образуется 3 ацетата + 2 лактата + 1 АТФ.

Аминокислотное брожение. В 1934 году, английский ученый Стинглер, показал, что некоторые клостридии могут быстро и легко сбраживать растворы или пары аминокислот, но не могут сбраживать аминокислоты по отдельности. Он объяснил данный феномен тем, что существуют так называемые аминокислоты-доноры и аминокислоты-акцепторы. В природе, когда происходит сбраживание аминокислот всегда присутствует несколько аминокислот, поэтому у микроорганизмов не возникает проблем с поиском различных аминокислот, которые не сбраживаются.

Среди аминокислот-доноров электронов выделяют: аланин, лейцин, изолейцин, валин, серин, метионин, акцепторов электронов — глицин, пролин, аргинин, триптофан.

При брожении происходит следующее:

Аминокислота-донор + аминокислота-акцептор → ацетат + др. продукты

Например:



При этом брожении, аланин претерпевает окислительное дезаминирование, а глицин претерпевает восстановительное дезаминирование и карбоксилирование. В этом процессе, основным продуктом реакции является ацетат.

Фотосинтез

Фотосинтез – процесс преобразования энергии видимого света в энергию органических веществ при участии фотосинтетических пигментов.

Фотосинтетический аппарат у микроорганизмов локализован в цитоплазматической мембране и включает в себя фотопоглощающий компонент, реакционный центр, электрон-транспортную цепь.

Процесс фотосинтеза делится на 2 стадии:

1. В световых реакциях – фотон света поглощается и преобразуется в химическую энергию;

2. В темновых реакциях – полученная энергия используется для восстановления и ассимиляции CO_2 , а также синтеза компонентов клетки.

Основные фотосинтетические пигменты микроорганизмов

Класс химических соединений	Пигменты		Мах. поглощения	Представители
<i>Тетропиральная структура</i>	Хлорофилл (зеленый). Основной фотособирающий компонент	Хлорофилл а	750 нм	Цианобактерии, прохлоропласты
		Хлорофилл в	750 нм	Прохлоропласты
	Бактериохлорофилл (зеленый). Основной фотособирающий компонент	Бактериохлорофилл а	950 нм	Пурпурные бактерии
		Бактериохлорофилл в	1100 нм	Пурпурные бактерии
		Бактериохлорофилл с	760 нм	Зеленые бактерии
		Бактериохлорофилл d	740 нм	Зеленые бактерии
		Бактериохлорофилл е	720 нм	Зеленые бактерии
		Бактериохлорофилл g	750 нм	Гелиобактерии
	Фикобилипротеины (красные и синие). Вспомогательный пигмент	Аллофикоцианин В	700 нм	Цианобактерии
		Фикоцианин		
		Фикоэритрин		

Полиизопреноидные цепи	Каротиноиды (желтые, оранжевые или красные). Вспомогательный пигмент	Алифатические каротиноиды (ксантофиллы)	550 нм	Пурпурные бактерии
		Арильный моноциклический каротиноид окенон		Пурпурные серные бактерии
		Алициклические каротиноиды, бета-каротины		Пурпурные несерные бактерии, цианобактерии
		Алициклические каротиноиды с одним или двумя бета-иононовыми кольцами		Цианобактерии, зеленые нитчатые бактерии, прохлорофиты
		Арильные, содержащие 1 или 2 ароматических кольца		Зеленые бактерии
		Алициклические каротиноиды, гамма-каротины		Зеленые бактерии

Типы фотосинтеза у микроорганизмов

Фотосинтез	Особенности	Представители
Бесхлорофильный фотосинтез	<p>Нет электрон-транспортной цепи.</p> <p>В цитоплазматической мембране располагаются 2 структуры: фотопоглощающий компонент – белок бактериородопсин, кофактором которого являются каротиноид и ретиналь (витамин А) и АТФ-синтаза.</p> <p>В цитоплазматической мембране у бактерий бактериородопсин играет роль светозависимого протонного насоса. Поглощая фотон света, возбужденная молекула бактериородопсина переносит H^+ из цитоплазмы во внешнюю среду, создавая градиент H^+, энергия которого используется клеткой для синтеза АТФ.</p> <p>При данном типе фотосинтеза не происходит ассимиляция CO_2 и выделение O_2</p>	<i>Halococcus, Halobacterium, Haloarcula, Natronobacterium</i> и <i>Natronococcus</i>
Хлорофильный фотосинтез	<p>Оксигенный (с выделением O_2)</p> <p>Донор электронов при нециклическом транспорте электронов – H_2O.</p> <p>Две последовательные фотосистемы: фотосистема I, возбуждаемая длиной волны 730 нм; фотосистема II, возбуждаемая длиной волны 680 нм.</p> <p>Две пигментные системы, связанные электрон-транспортной цепью, обеспечивают направленный поток электронов от воды (с внутренней стороны мембраны) к НАДФ⁺ (с внешней стороны). В результате происходит восстановление НАДФ⁺ и образование заряда на мембране.</p>	Цианобактерии и прохлорофиты

	<p>Может осуществляться как циклический, так и нециклический транспорт электронов</p>	
	<p>Аноксигенный (без выделения O_2) Доноры электронов – восстановленные формы серы, молекулярный водород, органические соединения. Функционирует одна фотосистема (фотосистема I). При циклическом транспорте электронов, не происходит образование восстановленных эквивалентов ($НАД^+$ и $НАДФ^+$) и сопровождается только запасанием АТФ. Нет необходимости во внешних донорах электронов. Для синтеза восстановленных эквивалентов, необходимо либо использовать в качестве донора электронов молекулярный водород, который может напрямую восстановить $НАД^+$, либо за счет обратного переноса электронов с затратой АТФ. При нециклическом транспорте электронов происходит образование восстановленных эквивалентов ($НАД^+$ и $НАДФ^+$) за счет внешних доноров электронов (сероводород, молекулярная сера и т.д.) и синтез АТФ. У пурпурных и зеленых бактерий функционирует только циклический транспорт электронов, у остальных фототрофов – в том числе и нециклический.</p>	<p>Пурпурные, зеленые бактерии, гелиобактерии</p>

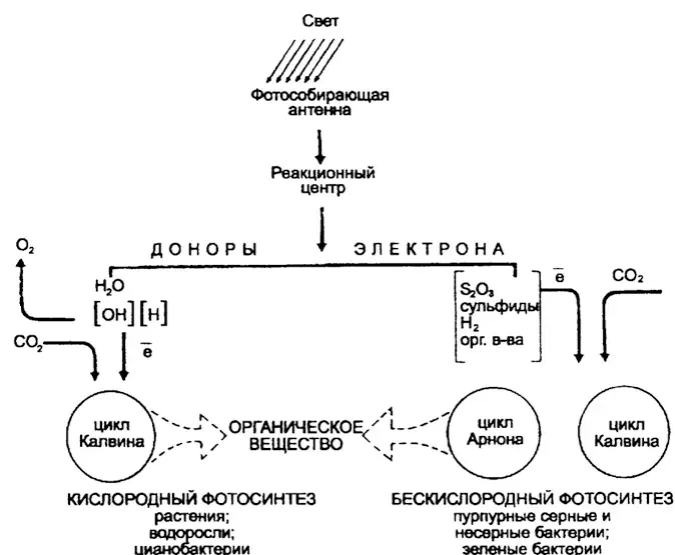


Рис. 4. Общая схема кислородного (оксигенного) и бескислородного (аноксигенного) фотосинтеза у микроорганизмов

Оксигенный фотосинтез

ФС I улавливает квант света и передает полученную энергию P_{700} , который переходит в возбужденное состояние, впоследствии дальше передает электрон акцептору (хлорофиллу А или FeS-белку). Полученный электрон передается Фд и может пойти по двум путям:

1. Циклический транспорт электронов (работает только ФС I). Электрон может двигаться через ряд переносчиков обратно к окисленному P_{700} , при этом на участке Цит. b_6 синтезируется АТФ.

2. Нециклический транспорт электронов (работает ФС I и ФС II). Электрон, полученный от ФС I передается на Фд, который восстанавливает НАДФ⁺ до НАДФН. Поскольку в данном процессе электрон уже потрачен и не может дальше идти на восстановление окисленного P_{700} , подключается ФС II.

ФС II поглощает свет и передает энергию P_{680} , который переходит в возбужденное состояние и восстанавливает Фео а. Электроны передаются последовательно через Q (PQ) и ряд других переносчиков к P_{700} . В свою очередь P_{680} получает необходимые электроны за счет окисления H_2O с выделением O_2 . В процессе переноса двух электронов от H_2O до НАДФ⁺ синтезируется 1 молекула АТФ.

Суммарная реакция:



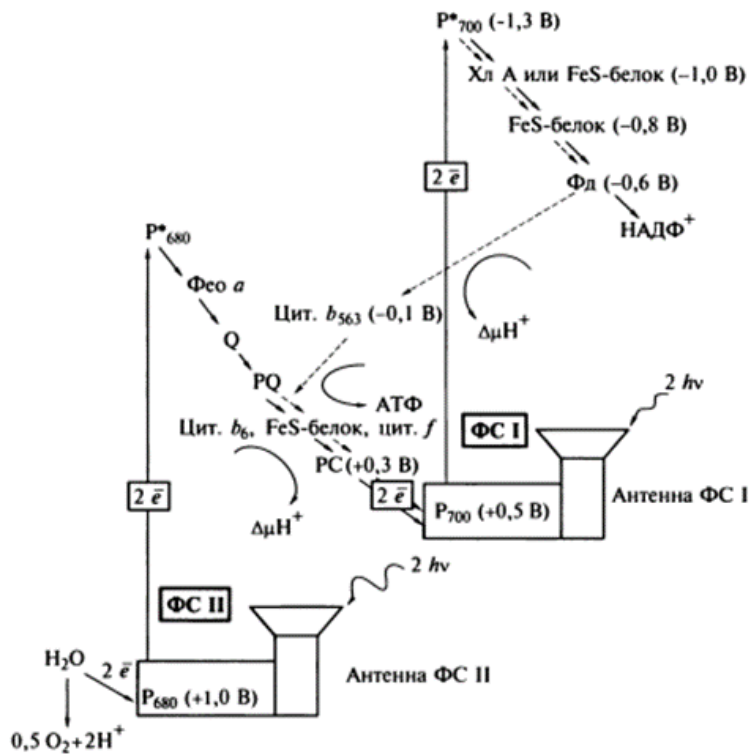


Рис. 5. Схема световой реакции
кислородного фотосинтеза у цианобактерий

Обозначения: пунктирная линия – циклический путь, сплошная – нециклический путь; ФС – фотосистема; P_{680} и P_{700} – хлорофиллы-пигменты фотосинтеза; Фео – феофитин; Q – хинон; PQ – пластохинон; PC – пластоцианин; Хл А – хлорофил А; Фд – ферредоксин.

Аноксигенный фотосинтез

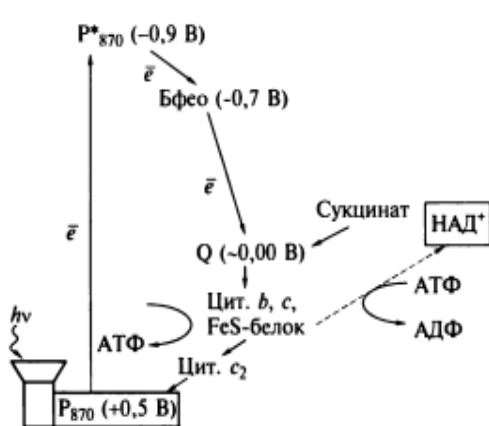
Световая стадия при аноксигенном фотосинтезе происходит по-другому, поскольку у бактерий осуществляющий данный тип фотосинтеза отсутствует ФС II.

Например, у пурпурных несерных бактерий квант света улавливается ФС I, далее энергия передается P_{870} , который переходит в возбужденное состояние и дальше передает электрон Бфео. Электрон через Q и ряд переносчиков возвращается назад к P_{870} , восстанавливая его, при этом на уровне Цит. образуется АТФ. Для синтеза восстановленных эквивалентов, необходимо либо использовать в качестве донора электронов молекулярный водород, который может напрямую восстановить НАД^+ , либо за счет обратного переноса электронов с затратой АТФ.

У зеленых серных бактерий восстановительные элементы могут синтезироваться путем нециклического транспорта электронов от Фд используя внешние доноры электронов (сероводород, молекулярная сера и т.д.) для восстановления P_{840} .

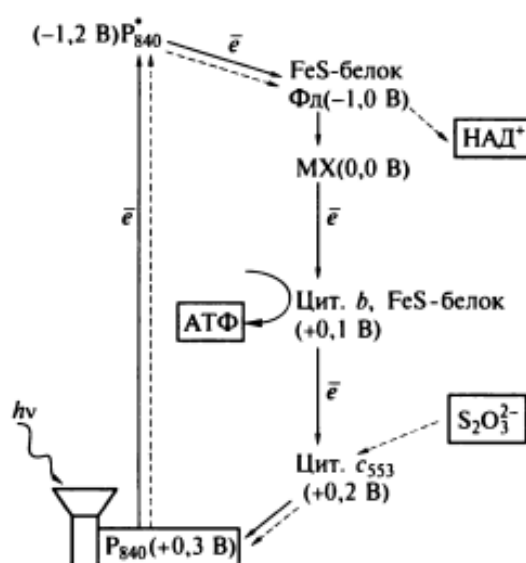
Запасенная в световых стадиях энергия и восстановители затем могут быть затрачены в темновых реакциях ассимиляции CO_2 .

Суммарная реакция:



Пурпурные несерные бактерии (циклический транспорт электронов)

Обозначения: пунктирная линия – обратный перенос электронов; P_{870} – бактериохлорофилл а; Бфео – бактериофеофитин; Q – хинон; Цит. – цитохром



Зеленые серные бактерии (циклический и нециклический транспорт электронов)

Обозначения: пунктирная линия – циклический путь, сплошная – нециклический путь; P_{840} – бактериохлорофилл а; Цит. – цитохром; MX – менахинон; Фд – ферредоксин

Рис. 6. Схема световой реакции аноксигенного фотосинтеза у бактерий

Закономерности роста популяций микроорганизмов

Закономерности роста популяций микроорганизмов – общие закономерности роста и размножения микробной популяции графически описываются в виде кривой, отражающей зависимость логарифма числа живых клеток от времени. Такая кривая имеет S-образную форму и позволяет различать несколько фаз, сменяющих друг друга.

В то время как *рост самих клеток микроорганизмов* – это генетически контролируемое увеличение биохимических компонентов клетки. Росту микроорганизмов сопутствует увеличение размера и биомассы клеток.

S-образная кривая закономерности роста популяции микроорганизмов характерна для *периодической культуры*. В лабораторных и промышленных условиях используют два способа культивирования микроорганизмов: *периодический (статический)* и *непрерывный (проточный)*. В первом случае получают периодическую культуру, а во втором – непрерывную культуру микроорганизмов.

Периодическим (стационарным) называют такой метод культивирования, когда клетки микроорганизмов вносят в питательную среду и далее компоненты среды не поступают в сосуд и не удаляются из него. Простая периодическая культура, содержащая ограниченное первоначальное количество питательного субстрата, служит примером закрытой системы (например, рост микроорганизмов на чашках Петри или в колбах с питательной средой). Закрытой называют такую систему, в которой хотя бы один из существенных компонентов не может ни поступать в систему, ни покидать ее. Такое культивирование называется периодическим. В этих условиях популяция микроорганизмов проходит определенный цикл развития, выражающийся в смене периодов роста.

Фазы развития бактерий в периодической культуре

Зависимость концентрации жизнеспособных клеток микроорганизмов в периодической культуре от длительности инкубирования описывается кривой S-образной формы, на которой различают несколько фаз роста, сменяющих друг друга в четкой последовательности:

Начальная фаза (лаг-фаза, фаза задержанного роста) – охватывает промежуток времени между инокуляцией микроорганизмов и достижением ими максимальной скорости деления. В микробных клетках в этот период идут в основном процессы, связанные с приспособлением их к условиям культивирования (составу среды, температуре, рН и т. п.). Часто данную фазу делят на две:

- *исходную стационарную фазу (I)* – составляющую период от момента внесения микроорганизмов в питательную среду до начала их роста;

- *лаг-фазу (II)* – период задержки размножения, характеризующийся увеличением частоты клеточного деления и нарастанием числа клеток.

Факторы, определяющие продолжительность лаг-фазы

Продолжительность лаг-фазы определяется следующими факторами:

1. Начальные условия культивирования посевного материала – при отличии источников энергии и углерода в новой среде от имеющих место в предшествующей культуре, микроорганизмы для приспособления к новым условиям должны синтезировать новый набор ферментов, потребность в которых ранее отсутствовала. Данный процесс индуцируется внесением нового субстрата.

2. При анализе химического состава микробной клетки в течение всей лаг-фазы отмечается, что в ее время происходит увеличение количества РНК в 8–12 раз.

3. Возраст посевного материала – чем старше культура, используемая для инокуляции новой питательной среды, тем больше время занимает протяженность лаг-фазы. Однако при значительном количестве засеваемого активно делящегося посевного материала микробная культура может развиваться без лаг-фазы.

4. Биологическими особенностями микробных клеток – в частности, для бактерий группы кишечной палочки характерен короткий период приспособления, для микобактерий туберкулеза – длительный.

5. Полноценность питательной среды.

6. Температура выращивания.

7. Концентрация CO₂.
8. Показатель pH.
9. Степень аэрации среды.
10. Степень окислительно-восстановительного потенциала.

Экспоненциальная (логарифмическая) фаза (III) – период времени, характеризующийся максимальной постоянной скоростью размножения бактерий и увеличением их числа в геометрической прогрессии. В течение экспоненциальной фазы все клетки микробной популяции имеют одинаковый размер, содержат максимальное количество РНК. Количество белка в них постоянно и максимально из возможного. Микробные клетки в данную фазу наиболее жизнеспособны и обладают высокой биохимической активностью.

Микробные клетки в пределах экспоненциальной фазы интенсивно размножаются. У различных видов бактерий величины скорости деления и скорости роста клеток варьируют в значительных пределах. В частности, *Escherichia coli* при 37°C делится каждые 20 минут, а бактерии, принадлежащие к родам *Nitrosomonas* и *Nitrobacter* – каждые 5–10 часов.

Стационарная фаза – наблюдается в период, когда число жизнеспособных клеток достигает максимума и не увеличивается, поскольку скорость размножения бактерий равна скорости их отмирания. Переход от экспоненциальной фазы к стационарной происходит постепенно. Стационарную фазу часто подразделяют на:

- **фазу отрицательного ускорения (IV)** – характеризуется уменьшением скорости размножения микроорганизмов, удлинением периода их генерации;
- **максимальную стационарную фазу (V)** – отражает динамическое равновесие между покоящимися, делящимися и отмирающими клетками.

Скорость роста популяции может снижаться за счет снижения концентрации питательных веществ в среде, высокой плотности популяции, низкого парциального давления кислорода, накопления токсичных продуктов обмена. Все эти факторы также обуславливают переход к стационарной фазе.

Переход в стационарную фазу включает период несбалансированного роста, когда скорость синтеза компонентов клеток различна.

Микробные клетки в стационарной фазе отличаются от клеток экспоненциальной фазы. Они меньше по размеру, содержат гораздо меньше РНК, более устойчивы к различного рода воздействиям (химическим и физическим).

В данный период в клетках микроорганизмов или в среде культивирования часто идет накопление продуктов вторичного метаболизма (антибиотиков, пигментов, бактериоцинов). Продолжительность этой фазы может занимать от нескольких часов до нескольких дней в зависимости от вида микроорганизма.

Фаза отмирания – наблюдается экспоненциальное снижение числа живых клеток. Продолжительность данной фазы изменяется в зависимости от условий среды и физиологических особенностей микроорганизма.

Фаза отмирания подразделяется на:

- *фазу ускорения гибели (VI)* – период уменьшения количества бактериальных клеток, в основном, за счёт аутолитических процессов (процессов саморастворения);
- *фазу логарифмической гибели (VII)* – отражает максимальную постоянную скорость отмирания бактерий с последующим из аутолизом (саморастворением);
- *фаза уменьшения скорости отмирания (VIII)* – переход оставшихся в живых особей в состояние покоя.

Для описания кинетики роста периодической культуры и параметры роста микроорганизмов, существуют следующие показатели: удельная скорость роста, экономический коэффициент потребления субстрата, время генерации, скорость роста.

Интервал времени, в течение которого происходит удвоение количества микроорганизмов, называют **временем генерации** (%). Важным параметром является **количество генераций** (n). Количество удвоений **в единицу времени** называют **абсолютной** (общей или валовой) **скоростью роста** (v). Прирост биомассы за определенный период времени, отнесенный к единице биомассы, называют **удельной**

скоростью роста (μ). Экономический коэффициент (Y) выражает количественные потребности микроорганизма в питательных веществах. Он имеет две разновидности – по биомассе и по продукту метаболизма.

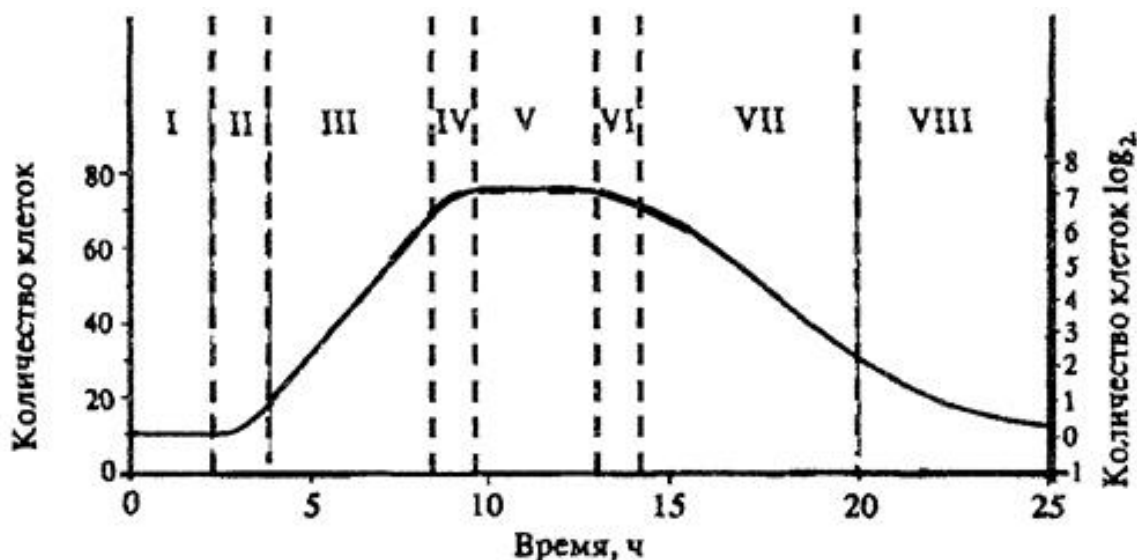


Рис. 7. Динамика роста микробной популяции в периодической культуре.

1. Лаг-фаза: I– исходная стационарная фаза; II– лаг-фаза – период задержки размножения. 2. Экспоненциальная фаза: III– экспоненциальная (логарифмическая фаза). 3. Стационарная фаза: IV– фаза отрицательного ускорения; V– максимальная стационарная фаза. 4. Фаза отмирания: VI – фаза ускорения гибели; VII– фаза логарифмической гибели; VIII– фаза уменьшения скорости отмирания

Экономический коэффициент по биомассе называют *урожаем биомассы* – максимальное количество биомассы, которое может быть получено при заданных условиях в единице объема.

Удельная скорость роста микробной культуры

$$\mu = \frac{\ln X_1 - \ln X_0}{T_1 - T_0},$$

где X_0 и X_1 – значения биомассы, соответствующие времени роста T_0 и T_1

Время генерации (удвоение количества микробных клеток)

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} \quad \text{или} \quad \frac{0.693}{\mu},$$

где g – время генерации, μ – удельная скорость роста

Экономический коэффициент (или выход биомассы от потребленного субстрата, урожаем биомассы)

$$Y = X / (S - S_0) \cdot 100 ,$$

где X – концентрация биомассы, S – начальная концентрация субстрата в среде, S_0 – остаточная концентрация субстрата в культуральной жидкости

Двухфазный рост микробной культуры

У микроорганизмов, способных использовать два различных источника углерода, наблюдают двухфазный рост (так называемая диауксия).

Для подобных микроорганизмов характерен начальный пик роста, в течение которого они утилизируют только один углевод. После исчерпания его запасов наступает стационарная фаза, в течение которой в культуре инициируются синтез ферментов и механизмы транспорта для утилизации второго углевода.

Если физиологические условия удовлетворительны, в микробной культуре начинается фаза вторичного экспоненциального роста, инициированная утилизацией второго углевода.

Примером является *E. coli* способные использовать в качестве источника энергии и углерода глюкозу или сорбитол. Если присутствуют оба углевода, то вначале используется глюкоза, а затем рост замедляется до тех пор, пока не образуются ферменты, сбраживающие сорбитол.

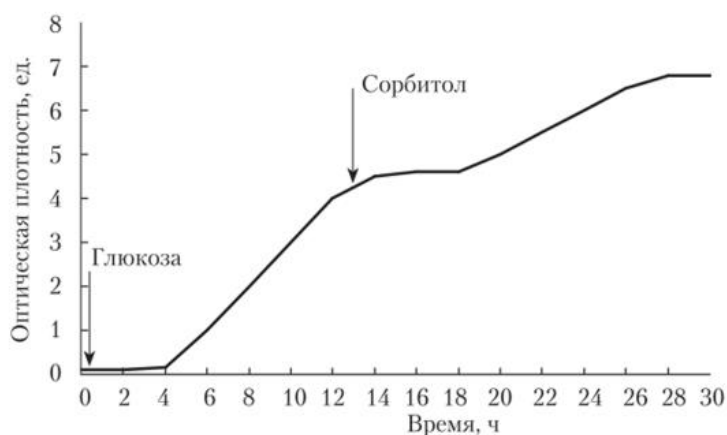


Рис. 8. Пример диауксии у *E. coli* при росте на среде, содержащей глюкозу и сорбитол в качестве источника питания

Непрерывное культивирование – это процесс, происходящий в так называемой открытой системе, все компоненты которой могут поступать в систему и покидать ее. Непрерывное культивирование микроорганизмов, когда происходит, с одной стороны, приток питательной среды, с другой – отток биомассы и других продуктов, чаще используется при промышленном получении различных продуктов микробного синтеза.

Например, при культивировании микроорганизмов в специальных резервуарах (ферментерах) необходимо создать условия приближенные к естественным проточным системам. Однако в отличие от естественных систем, условия среды и развития микроорганизмов в установках непрерывного культивирования в лабораториях и на промышленных предприятиях находятся под контролем и могут быть стабилизированы. Это позволяет проводить эксперименты с культурами микроорганизмов по изучению популяционных законов развития видов и их сообществ, наблюдать процессы микроэволюции.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Назовите способы получения и запасания энергии у микроорганизмов
2. Назовите три способа разложения глюкозы
3. Чем отличаются флавопротеины от хинонов?
4. Какие типы брожения существуют?
5. Назовите основные фотосинтетические пигменты микроорганизмов
6. Чем отличается периодическое от непрерывного культивирования микроорганизмов?

Для закрепления изученного материала рекомендуется выполнить практические задания.

Практическое задание № 3

Определение аэробного и анаэробного роста бактерий

Цель:	Изучить способность бактерий к аэробному и анаэробному росту
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: автоклав, термостат, горелка (спиртовка), штатив, пробирки с ватно-марлевыми пробками, микробиологическая петля, автоматические пипетки различного объема Растворы: ГРМ-агар (плотный и полужидкий)
Объект исследования	Разные штаммы бактерий

Для проведения занятия необходимо приготовить ГРМ-агар (плотный и полужидкий).

Состав г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки – 15;

панкреатический гидролизат казеина – 10;

дрожжевой экстракт – 2;

NaCl – 3,5;

глюкоза — 1;

агар бактериологический – 10,0±2;

дистиллированная вода – 1 л

pH 7,2±0,2

Автоклавируют при 121 °С в течение 15 мин.

Для приготовления полужидкого ГРМ-агара необходимо уменьшить концентрацию агара бактериологического до содержания в конечной концентрации 0,5–0,7%.

Ход работы

Стерильный расплавленный плотный ГРМ-агар необходимо залить в пробирки по 1 мл, остудить до полного застывания, сверху залить по 10 мл расплавленным и охлажденным до 45 °С полужидким ГРМ-агаром. Внести культуры бактерий уколком с помощью микробиологической петли в столбик агара, инкубировать при комнатной температуре 1–3 суток.

Учет результатов

После инкубирования отметьте и запишите характер роста бактериальных культур.

Таблица 31

**Характер роста бактериальных культур
по отношению к кислороду**

<i>Аэробы</i>	рост на поверхности питательной среды
<i>Анаэробы</i>	рост в глубине или на дне столбика агара
<i>Факультативные анаэробы</i>	равномерный рост по всему уколу
<i>Микроаэрофилы</i>	рост на некотором расстоянии от поверхности питательной среды

Практическое задание № 4

**Определение ферментативного и окислительного
метаболизма углеводов у микроорганизмов**

Цель:	Определить тип метаболизма (окислительный или ферментативный) у разных штаммов бактерий
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: автоклав, термостат, пробирки с ватно-марлевыми пробками, микробиологическая петля, горелка (спиртовка), автоматические пипетки различного объема Питательные среды: среда Хью-Лейфсона, среда Кинга Растворы: вазелиновое масло
Объект исследования	Разные штаммы бактерий

Для проведения занятия необходимо приготовить следующие среды.

**Способы приготовления сред
для выращивания микроорганизмов**

Название среды	Состав г/л, способ приготовления	Предназначение	Ход работы
Среда Хью-Лейфсона	<p>Пептон – 2; NaCl – 5; K₂HPO₄ – 0,30; глюкоза – 10; бромтимоловый синий – 0,08; агар бактериологический – 2; дистиллированная вода – 1 л рН (при 25°C) 6,8 ± 0,2. Готовую среду разливают по 5–7 мл в пробирки (по 2 пробирки на один исследуемый штамм бактерий), закрывают ватно-марлевыми пробками и автоклавируют при 112 °С в течение 20 мин. Остужают до полного застывания.</p>	<p>Среды предназначены для дифференциации анаэробного и аэробного пути расщепления углеводов в условиях, способствующих слабому образованию кислоты. Среда содержит высокую концентрацию добавленных углеводов по отношению к пептическому перевару животной ткани, чтобы избежать использования пептона микроорганизмами и в результате получения щелочной реакции, которая бы нейтрализовала незначительную кислотность в среде</p>	<p>Каждый исследуемый штамм бактерий необходимо с помощью микробиологической петли уколком внести в 2 параллельные пробирки со средами Хью-Лейфсона или Кинга, одну пробирку из параллели залить стерильным вазелиновым маслом (чтобы масло покрывало полностью поверхность среды). Инкубировать при комнатной температуре или в термостате при 35°C в течение 1–3 дней.</p> <p>При положительной реакции происходит изменения среды Хью-Лейфсона с зеленого на желтый, среды Кинга – с красного на желтый. Ферментирующие микроорганизмы дают положительную реакцию только в пробирках с вазелиновым маслом, окисляющие микроорганизмы – только в пробирках без масла.</p>

Среда Кинга	Казитон – 1; Агар бактериологический – 3; Глюкоза – 10; Феноловый красный 1,5% – 1 мл Дистиллированная вода – 1 л рН (при 25°С) 6,8 ± 0,2. Готовую среду разливают по 5-7 мл в пробирки (по 2 пробирки на один исследуемый штамм бактерий), закрывают ватно-марлевыми пробками и автоклавируют при 112 °С в течение 20мин. Остужают до полного застывания. рН 7,4		Микроорганизмы, способные утилизировать глюкозу в аэробных и анаэробных условиях, будут изменять цвет среды в обеих пробирках. Несахаролитические бактерии вызывают слабое ощелачивание ОФ-среды Хью-Лейфсона без масла (сине-зеленое окрашивание), но ОФ-среда под маслом не изменяет свой цвет (зеленый).
-------------	---	--	---

Запишите полученные результаты в таблицу по примеру.

Таблица 33

Пример заполнения результатов

№ штамма бактерий	Среда Хью-Лейфсона		Среда Кинга	
	Без вазелинового масла	С вазелиновым маслом	Без вазелинового масла	С вазелиновым маслом
1	+/-	+/-	+/-	+/-
2	+/-	+/-	+/-	+/-
3	+/-	+/-	+/-	+/-
4	+/-	+/-	+/-	+/-

+ есть изменение цвета среды, – нет изменения цвета среды

Примечание: при положительной реакции цвет среды меняется на желтый

Практическое задание № 5

Определение способности микроорганизмов расщеплять глюкозу с образованием разных промежуточных продуктов

Цель:	изучить способность микроорганизмов утилизировать глюкозу до образования кислых или нейтральных продуктов
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: термостат, пробирки с ватно-марлевыми пробками, горелка (спиртовка), автоматические пипетки различного объема Питательные среды и реактивы: среда Кларка, 5% раствор альфа-нафтола в 70% этаноле, 40% раствор КОН, метиленовый синий, 96 % этанол
Объект исследования	Разные штаммы микроорганизмов

Для проведения занятия необходимо приготовить среды следующего состава:

Среда Кларка, г/л:

K_2HPO_4 – 5;

пептон – 7;

глюкоза – 5;

дистиллированная вода – 1 л

pH 6,9

Готовую среду автоклавируют при 121°C 15 мин или стерилизуют дробно 3 дня подряд текучим паром.

Таблица 34

Порядок выполнения практического задания

Эксперимент	Ход работы	Результат
Тест с индикатором метиленовым синим	Для приготовления индикатора смешивают 0,1 г метиленового синего и 300 мл 96% этилового спирта. Готовую среду	При положительном результате среда окрашивается в красный цвет, а при отрицательном – в желто-оранжевый. Микроорганизмы могут разлагать глюкозу до пировиноградной кислоты

	<p>Кларка разливают в пробирки по 5 мл и вносят взвесь суточных культур микроорганизмов (10^3 кл/мл), инкубируют 2–3 суток при температуре 35°C. Далее в чистые пробирки переносят 2,5 мл бактериальной суспензии, добавляют 5 капель и оставляют на 5–10 минут</p>	<p>(ПВК), однако у некоторых бактерий последующее превращение ПВК происходит по смешанному кислотному пути с образованием кислых продуктов (например, молочной и уксусной кислоты), снижающих рН ниже 4,4, у других – по бутиленгликолевому пути с образованием нейтральных продуктов, ацетоина и бутанодиола, повышающих потенциал среды ближе к нейтральному ($\text{pH} > 6,0$). Индикатор метиленовый синий реагирует на изменение рН, что приводит к изменению цвета среды.</p>
<p>Реакция Фогес-Проскауэра</p>	<p>Готовую среду Кларка разливают по пробиркам по 3–4 мл, вносят взвесь суточных культур микроорганизмов (10^3 кл/мл), инкубируют 4-5 суток при комнатной температуре. Далее 1 мл бактериальной суспензии переносят в чистые пробирки и добавляют 0,6 мл 5% раствора альфа-нафтола в 70% этаноле, круговыми движениями перемешивают. Затем добавляют 0,2 мл 40% раствора КОН, перемешивают и инкубируют в наклонном положении в течение 1 часа</p>	<p>При положительном результате среда окрашивается в красный или розовый цвет, а при отрицательном – желто-оранжевый. В случае положительного результата глюкоза метаболизируется до ПВК, которая далее превращается в нейтральные продукты – ацетоин и 2,3-бутандиол. При наличии кислорода и щелочи ацетоин и 2,3-бутандиол окисляются до диацетила, что приводит к появлению розового или красного окраса, который становится более ярким при добавлении альфа-нафтола.</p>

Запишите полученные результаты в таблицу по примеру

Таблица 35

Пример заполнения результатов

№ штамма	Тест с метиленовым синим	Реакция Фогес-Проскауэра
1	+/-	+/-
2	+/-	+/-

где, + есть рост колоний, – нет роста колоний.

Практическое задание № 6

Спиртовое брожение

Цель:	познакомиться с процессом и качественными реакциями спиртового брожения, с морфологией возбудителей этого вида брожения
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: водяная баня, термостат, горелка (спиртовка), штатив с лапкой, пробка с газоотводной трубкой, плоскодонная термостойкая колба на 200–250 см ³ , автоматические пипетки различного объема. Растворы: 10% раствор сахарозы, 10% раствор NaOH, йод кристаллический, насыщенный раствор Ca(OH) ₂ , конц. H ₂ SO ₄ , крист. K ₂ Cr ₂ O ₇ .
Объект исследования	дрожжи пекарские (1 г).

Для изучения процесса спиртового брожения следует поместить 20 мл 10% раствора сахарозы и 2 г пекарских дрожжей в колбу объемом 250 мл, закрыть ее ватно-марлевой пробкой и инкубировать в термостате при температуре 30°C в течение 1 часа. Полученная суспензия может быть использована для последующих экспериментов.

Таблица 36

Порядок выполнения практического задания

Эксперимент	Ход работы	Результат
Качественные реакции процесса брожения	В пробирку следует внести 10 мл приготовленной суспензии дрожжей и 1–2 мл 10% раствора NaOH, прогреть над пламенем спиртовки, не доводя до кипения, далее добавить несколько кристаллов йода и снова нагреть.	В присутствии спирта выпадает желтый осадок с характерным запахом. Качественные реакции $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 4\text{I}_2 + 6\text{NaOH} = \text{CHI}_3$ $\downarrow + \text{HCOONa} + 5\text{NaI} + 5\text{H}_2\text{O}$ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + 4\text{I}_2 = \text{C}_2\text{H}_4\text{I}_2 + 4\text{HI}$ $\text{C}_2\text{H}_4\text{I}_2 = \text{C}_2\text{H}_5\text{OI} + \text{HI}$ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OI} + \text{NaOH} = \text{HCOONa} + \text{CHI}_3 \downarrow$

Определение уксусного альдегида	В пробирку необходимо внести 2–3 мл подготовленной суспензии дрожжей и кристалл $K_2Cr_2O_7$, далее добавить 2–3 капли концентрированной H_2SO_4 . Смесь нагреть над пламенем горелки	При восстановлении хрома, наблюдается изменение цвета с оранжевого на зеленый. Выделяется в данной реакции уксусный альдегид, который можно ощутить по характерному запаху. Качественная реакция $K_2Cr_2O_7 + 4H_2SO_4 + 3C_2H_5OH = K_2[Cr_2(SO_4)_4] + 3CH_3COH + 7H_2O$
Определение углекислого газа	В 250 мл колбу необходимо добавить 50 мл 10% раствора сахарозы и 10 мл подготовленной суспензии дрожжей, далее закрыть пробкой с изогнутой трубкой и поместить на водяную баню при температуре 35–40 °С. После инкубации нижний конец трубки погрузить в пробирку с насыщенным раствором $Ca(OH)_2$	Спустя некоторое время в пробирке с насыщенным раствором $Ca(OH)_2$ начнут образовываться пузырьки газа. Во время проведения эксперимента важно наблюдать за выделением пузырьков и изменением прозрачности жидкости. По завершении процесса в результате образования карбоната кальция раствор известковой воды станет значительно помутневшим.

Запишите полученные результаты

Практическое задание № 7

Молочнокислое брожение

Цель	познакомиться с химизмом молочнокислого брожения, с качественными реакциями на молочную кислоту, с морфологией молочнокислых бактерий
Материалы и оборудование	<p>Посуда: колбы на 250 мл, пробирки, фильтровальная бумага, вата, предметные стекла, спиртовки, микроскопы, промывалки лабораторные, автоматические пипетки различного объема</p> <p>Растворы: 0,1н NaOH, насыщенный раствор CuSO₄, 5% KMnO₄, 10% аммиачный раствор, 10% раствор AgNO₃, конц. H₂SO₄, 5% раствор фенола, 5% FeCl₃, смесь Никифорова, раствор генцианвиолета, раствор Люголя, 96% этиловый спирт, раствор карболового фуксина, дистиллированная вода.</p>
Объекты исследования	свежее и кислое молоко, кефир, сметана

Таблица 37

Порядок выполнения практического задания

Эксперимент	Ход работы	Результат
Качественная реакция на молочную кислоту	<p>На первом этапе работы необходимо сначала смешать 1–2 мл 10% AgNO₃ в пробирке, затем по каплям добавить аммиак до образования осадка оксида серебра, который растворяется в избытке аммиака.</p> <p>После этого, фильтровальную бумагу смочить полученным аммиачным раствором нитрата серебра.</p>	<p>Принцип реакции заключается в том, что молочная кислота переводится в уксусный альдегид в кислой среде с использованием перманганата калия, а затем альдегид вступает во взаимодействие с аммиачным серебром, что приводит к образованию "серебряного зеркала".</p>

	<p>На втором этапе работы, в одну из двух конических колб объемом 250 мл необходимо добавить свежее молоко через бумажный складчатый фильтр, а во вторую – кислое молоко. Затем к 5 мл фильтрата добавить 2 мл раствора концентрированной H₂SO₄. Колбы поместить на плитку и довести до кипения. После чего, по каплям добавить 5 мл 5% раствора KMnO₄, а затем накрыть горлышко колб фильтровальной бумагой, смоченной аммиачным раствором нитрата серебра. Нагревание продолжить, прижимая фильтровальную бумагу к краям колбы. Уксусный альдегид улетучивается, его пары вступают в реакцию с аммиачным раствором нитрата серебра через поры фильтровальной бумаги.</p>	<p>Результатом эксперимента является образование металлического серебра на фильтровальной бумаге, смоченной аммиачным раствором нитрата серебра, при контакте с фильтратом кислого молока.</p> <p>Таким образом, происходит окисление молочной кислоты перманганатом калия и образуется уксусный альдегид:</p> $2\text{KMnO}_4 + 3\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{K}_2\text{SO}_4 + 2\text{MnSO}_4 + 3\text{H}_2\text{O} + 3\text{O}_2$ $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH} + 5[\text{O}] = 5\text{CH}_3\text{CON} + 5\text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}.$ $\text{CH}_3\text{CON} + 2[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH} + 3\text{H}_2\text{O} = \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{Ag} + 4\text{NH}_4\text{OH}$
	<p>В пробирки с 10 мл 5% раствора фенола необходимо добавить по несколько капель 5% раствора FeCl₃, в результате чего наблюдается образование интенсивно окрашенного фиолетового раствора. После этого, в одну пробирку</p>	<p>При добавлении нескольких капель сыворотки кислого молока, содержащей молочную кислоту, раствор приобретает зеленовато-желтоватый цвет.</p> <p>Эта реакция называется реакцией Уффельмана</p>

	с приготовленным раствором по каплям нужно внести отфильтрованную сыворотку свежего молока, во вторую – кислого	$(C_6H_5O_3)_3Fe + 3CH_3CHOHCOOH$ $= (CH_3CHOHCOO)_3Fe + 6C_6H_5OH$ Фенолят железа + молочная кислота = лактат железа + фенол
Микроскопическое исследование молочнокислых бактерий	На предметное стекло наносят каплю исследуемого образца (свежее или кислое молоко, кефир, сметана) и каплю воды или физраствора, распределяют по поверхности для получения тонкого слоя мазка, высушивают на воздухе. Высушенный мазок обезжиривают и одновременно фиксируют смесью спирта с эфиром в соотношении 1:1 (смесь Никифорова). Для этого смесью Никифорова несколько раз обливают мазок на стекле и выдерживают на воздухе 10 минут. При такой фиксации параллельно идет извлечение эфиром жира (капельки молочного жира мешают рассмотрению микроорганизмов). Далее мазки окрашивают по методу Грама	В поле зрения микроскопа можно обнаружить различные молочнокислые бактерии, наиболее распространенные: <i>Lactococcus lactis</i> (молочнокислый стрептококк, сокращенно <i>Lac. lactis</i>) – клетки сферические или овальные размером 0,5-1,2 x 0,5-1,5 мкм, соединенные попарно (диплококки) или в виде коротких цепочек, грамположительные. <i>Lactococcus cremoris</i> (сливочный стрептококк – <i>Lac. cremoris</i>) – клетки шаровидные, располагаются в виде коротких и длинных цепочек, грамположительные. <i>Streptococcus thermophilus</i> (термофильный стрептококк – <i>S. thermophilus</i>) – клетки имеют овальную или шаровидную форму диаметром 0,7 – 1,0 мкм, часто соединены в длинные цепочки, грамположительные.

	<p><i>Lactobacillus bulgaricus</i> (болгарская палочка, сокращенно <i>L. bulgaricus</i>) – клетки длинные и короткие палочки размером 5-20 x 0,8-1,0 мкм. При окрашивании препаратов в клетках часто наблюдаются зёрна полифосфатов, иногда неравномерно окрашенные участки цитоплазмы, грамположительные.</p> <p><i>Lactobacillus lactis</i> (молочно-кислая палочка – <i>L. lactis</i>) – по морфологическим признакам схожа с болгарской палочкой.</p> <p><i>Lactobacillus acidophilus</i> (ацидофильная палочка) – клетки длинные и короткие палочки размером 3-40 мкм, толщиной 1,0-1,5 мкм. У некоторых штаммов так же, как и у болгарской палочки, в клетках наблюдается «зернистость», грамположительные.</p> <p><i>Lactobacillus brevis</i> (<i>L. brevis</i>) – мелкие палочки с закругленными концами размером 0,7-1,0 x 2-4 мкм</p> <p><i>Bifidobacterium</i> sp. – форма клеток – мелкие, иногда ветвящиеся палочки Y- или V- формы, прямые или изогнутые, булавовидные или лопатовидные, располагаются одиночно, парами, палисадом, розетками, редко – цепочками, размеры клеток 0,5-1,3 x 1,5-8 мкм, грамположительные.</p>
--	--

Запишите полученные результаты

Практическое задание № 8

Маслянокислое брожение

Цель	познакомиться с химизмом маслянокислого брожения, с качественными реакциями на масляную кислоту, с морфологией маслянокислых бактерий
Материалы и оборудование	Оборудование: термостат Посуда: пробирки на 20 мл, фильтровальная бумага, вата, предметные стекла, спиртовки, микроскопы, промывалки лабораторные, автоматические пипетки различного объема Растворы: раствор 5 % FeCl ₃ , 96 % этиловый спирт, конц. H ₂ SO ₄ , CaCO ₃ , раствор Люголя, раствор карболового фуксина, дистиллированная вода
Объекты исследования	збродивший настой картофеля

Необходимо нарезать ломтиками неочищенный промытый картофель за 5–7 дней до начала занятий. После этого поместить картофель в 5 пробирок, заполнив их на 1/3 объема, добавить щепотку CaCO₃ в каждую пробирку и залить дистиллированной водой на 2/3 объема. Прогреть пробирки на водяной бане при температуре 80°C в течение 10–15 минут, затем закрыть ватно-марлевыми пробками и поместить их в термостат с температурой 35°C на 5–7 дней. Через два-три дня в жидкости появятся бактерии маслянокислого брожения. Анаэробные условия способствуют их развитию, а добавка мела нейтрализует кислоты и также способствует дальнейшему развитию маслянокислых бактерий.

Таблица 38

Порядок выполнения практического задания

Эксперимент	Ход работы	Результат
Качественные реакции на масляную кислоту	Необходимо добавить в пробирку к 3–4 мл исследуемой жидкости 0,5 мл 96 % этилового спирта и 1–2 капли конц. H ₂ SO ₄ .	В присутствии масляной кислоты появляется запах масляно-этилового эфира, напоминающий запах ананаса

	<p>После этого хорошо встряхнуть содержимое пробирки и нагреть над пламенем горелки, но не доводить до закипания.</p>	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH} + \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} = \text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{COOCH}_2\text{CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$
	<p>В пробирку необходимо добавить 5 мл исследуемой жидкости и 2 мл 5%-го раствора FeCl_3. После этого рекомендуется хорошо перемешать содержимое пробирки и нагреть над пламенем горелки, не доводя до закипания.</p>	<p>При нагревании образуется маслянокислое железо коричневого цвета</p> $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH} + \text{FeCl}_3 = [\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COO}]_3\text{Fe} + 3\text{HCl}$
<p>Микроскопическое исследование маслянокислых бактерий</p>	<p>Для выявления гранул в клетке бактерий необходимо подготовить препарат "раздавленная капля". На центр чистого обезжиренного предметного стекла необходимо нанести каплю исследуемой жидкости, равномерно, очень тонким слоем распределить суспензию, затем добавить каплю концентрированного раствора Люголя, выдержать в течение 30 секунд, промыть водой и накрыть покровным стеклом. После этого провести микроскопирование.</p>	<p>Под микроскопом при исследовании жидкости обычно можно обнаружить бактерии <i>Clostridium pasteurianum</i>, которые представляют собой подвижные палочки с закругленными концами, существующие как одиночно, так и в парах. В клетках этих бактерий присутствуют гранулы. В старых культурах может встречаться спора у одного из концов клетки. Гранула при окрашивании раствором Люголя приобретает синий цвет.</p>

Запишите полученные результаты

Практическое задание № 9

Уксуснокислое брожение

Цель	познакомиться с химизмом уксуснокислого брожения, с качественными реакциями на уксусную кислоту, с морфологией уксуснокислых бактерий
Материалы и оборудование	Оборудование: термостат Посуда: конические колбы на 250 мл, пробирки, предметные стекла, спиртовки, микроскопы, автоматические пипетки различного объема Растворы: раствор 10 % FeCl ₃ , 96 % этиловый спирт, 10% раствор NaHCO ₃ , раствор генцианвиолета, раствор Люголя, 96% этиловый спирт, раствор карболового фуксина, дистиллированная вода.
Объекты исследования	Настой пива

Необходимо перед началом занятий за 5–7 дней в конические колбы объемом 250 мл налить тонкий слой пива (не превышающий 1 см) и 0,5 мл 96 % этилового спирта. Колбы следует закрыть ватно-марлевыми пробками и инкубировать 5–7 дней при температуре 30–35°C. Толщина слоя пива играет важную роль для успешного проведения опыта, поскольку для уксуснокислых бактерий необходимы аэробные условия.

Таблица 39

Порядок выполнения практического задания

Эксперимент	Ход работы	Результат
Качественная реакция на уксусную кислоту	К 5 мл скисшего пива в пробирку необходимо добавить 2 мл 10% раствора NaHCO ₃ и несколько капель 10 % раствора FeCl ₃ , затем прогреть над пламенем горелки, но не доводить до кипения	При наличии уксусной кислоты появляется красное окрашивание вследствие образования ацетата железа $3\text{CH}_3\text{COONa} + \text{FeCl}_3 = (\text{CH}_3\text{COO})_3\text{Fe} + 3\text{NaCl}$

Микроскопическое исследование уксуснокислых бактерий	Пленку, сформировавшуюся на поверхности настоя пива необходимо перенести на чистое обезжиренное предметное стекло с помощью микробиологической петли и добавить каплю воды, распределить на поверхности тонким слоем, высушить на воздухе и зафиксировать над пламенем горелки. Окрасить по методу Грама	Уксуснокислые бактерии, строго аэробные, неспороносные, грамотрицательные, обычно подвижные (имеют жгутики) бактерии палочковидной формы
--	--	--

Запишите полученные результаты

Тренировочные тестовые задания № 2

1. Брожение, при котором происходит распад глюкозы до ацетата и лактата, называется:

- А) молочнокислым
- Б) пропионовокислым
- В) спиртовым
- Г) маслянокислым

2. Брожение, при котором происходит образование бутирата, диоксида углерода, водорода с выделением энергии, называется:

- А) пропионовокислым
- Б) молочнокислым
- В) маслянокислым
- Г) спиртовым

3. Какой тип окисления описывается реакцией $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O + 38 \text{ АТФ}$

- А) полное
- Б) неполное
- В) соокисление
- Г) брожение

4. Какой тип окисления описывается реакцией $CH_3CH_2OH + O_2 = CH_3COOH + H_2O$

- А) полное
- Б) неполное
- В) соокисление
- Г) брожение

5. Брожение, при котором из глюкозы образуется только лактат, с малым количеством побочных продуктов, называется:

- А) гомоферментативным
- Б) гетероферментативным молочнокислым
- В) спиртовым
- Г) уксуснокислым

6. Какие микроорганизмы способны сбраживать глюкозу до лактата и ацетата без выделения CO_2

- А) молочнокислые бактерии

- Б) Лактобациллы
- В) Бифидобактерии
- Г) Термофильные стрептококки
- Д) Верно Б и В
- Е) Верно Б, В, Г

7. Брожение, при котором из глюкозы образуется лактат, ацетат, этанол, водород, CO₂ называется:

- А) спиртовым
- Б) гетероферментативным молочнокислым
- В) уксуснокислым
- Г) гомоферментативным

8. Возбудители спиртового брожения:

- А) дрожжами рода *Saccharomyces*
- Б) дрожжи рода *Mycoderma*
- В) дрожжи рода *Torula*
- Г) дрожжи рода *Candida*
- Д) бактерии рода *Clostridium*
- Е) молочнокислые бактерии
- Ж) пропионовокислые бактерии

9. Возбудители гомоферментативного молочнокислого брожения:

- А) *Streptococcus cremoris*
- Б) *Lactobacillus brevis*
- В) *Sarcina ventriculi*
- Г) *Bifidobacterium bifidum*
- Д) *Leuconostoc mesenteroides*
- Е) *Lactobacillus bulgaricus*
- Ж) верно А и Е
- З) верно А, Г и Е
- И) верно Б, Г и Д,
- К) верны все, кроме В

10. Возбудители гетероферментативного молочнокислого брожения:

- А) *Streptococcus cremoris*
- Б) *Lactobacillus brevis*

- В) *Sarcina ventriculi*
- Г) *Bifidobacterium bifidum*
- Д) *Leuconostoc mesenteroides*
- Е) *Lactobacillus bulgaricus*
- Ж) верно А и Е
- З) верно А, Г и Е
- И) верно Б, Г и Д,
- К) верны все, кроме В

11. Возбудители маслянокислого брожения:

- А) дрожжами рода *Saccharomyces*
- Б) бактерии рода *Pediococcus*
- В) дрожжи рода *Torula*
- Г) дрожжи рода *Candida*
- Д) бактерии рода *Clostridium*
- Е) бактерии рода *Acetobacter*
- Ж) бактерии рода *Propionibacterium*

12. Возбудители пропионовокислого брожения:

- А) дрожжами рода *Saccharomyces*
- Б) бактерии рода *Pediococcus*
- В) дрожжи рода *Torula*
- Г) дрожжи рода *Candida*
- Д) бактерии рода *Clostridium*
- Е) бактерии рода *Acetobacter*
- Ж) бактерии рода *Propionibacterium*

13. Возбудители уксуснокислого брожения:

- А) дрожжами рода *Saccharomyces*
- Б) бактерии рода *Pediococcus*
- В) дрожжи рода *Torula*
- Г) дрожжи рода *Candida*
- Д) бактерии рода *Clostridium*
- Е) бактерии рода *Acetobacter*
- Ж) бактерии рода *Propionibacterium*

14. Сколько молекул АТФ образуется при гликолизе:

- А) 1 АТФ
- Б) 2 АТФ

- Г) 3 АТФ
- Д) 23 АТФ
- Е) 36 АТФ

15. Спиртовое брожение выражено формулой:

- А) $C_6H_{12}O_6 = 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$
- Б) $C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3 + 18$ ккал
- В) $C_6H_{12}O_6 = CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2 + 20$ ккал

16. Масляно-кислое брожение выражено формулой:

- А) $C_6H_{12}O_6 = 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$
- Б) $C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3 + 18$ ккал
- В) $C_6H_{12}O_6 = CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2 + 20$ ккал

17. Какой побочный продукт не характерен для спиртового брожения:

- А) глицерин
- Б) этанол
- В) лактат
- Г) ацетат
- Д) пируват

18. Какие продукты образуются при первой форме брожения по Нейбергу:

- А) этанол, глицерин;
- Б) этанол, ацетат, глицерин, углекислый газ;
- В) глицерин, углекислый газ, ацетальдегидсульфит
- Г) этанол, углекислый газ
- Д) этанол, ацетат, лактат, углекислый газ

19. Какие продукты образуются при второй форме брожения по Нейбергу:

- А) этанол, глицерин;
- Б) этанол, ацетат, глицерин, углекислый газ;
- В) глицерин, углекислый газ, ацетальдегидсульфит
- Г) этанол, углекислый газ
- Д) этанол, ацетат, лактат, углекислый газ

20. Какие продукты образуются при третьей форме брожения по Нейбергу:

- А) этанол, глицерин;

- Б) этанол, ацетат, глицерин, углекислый газ;
- В) глицерин, углекислый газ, ацетальдегидсульфит
- Г) этанол, углекислый газ
- Д) этанол, ацетат, лактат, углекислый газ

21. Микроорганизмы, участвующие в созревании сыра:

- А) молочнокислые пропионовокислые бактерии
- Б) молочнокислые пропионовокислые и уксуснокислые бактерии
- В) пропионовокислые и уксуснокислые бактерии

22. Микроорганизмы, активные продуценты витамина В12:

- А) молочнокислые бактерии
- Б) пропионовокислые бактерии
- В) уксуснокислые бактерии
- Г) маслянокислые бактерии

23. Какие продукты можно получить при смешанном типе брожения (молочнокислого и спиртового):

- А) кефир
- Б) йогурт
- В) сметана
- Г) творог
- Д) кумыс
- Е) айран
- Ж) верны все кроме Г
- З) верны А, Д, Е
- И) верны А, В, Е
- К) верны Б, В, Г

24. Какие продукты можно получить при молочнокислом брожении:

- А) кефир
- Б) йогурт
- В) сметана
- Г) творог
- Д) кумыс
- Е) айран
- Ж) верны все кроме Г
- З) верны А, Д, Е

И) верны А, В, Е

К) верны Б, В, Г

25. Могут ли микроорганизмы сбраживать аминокислоты?

А) да

Б) нет

26. Где происходит процесс гликолиза в бактериальной клетке?

А) митохондриях

Б) лизосомах

В) цитоплазме

Г) на цитоплазматической мембране

27. Сколько всего молекул АТФ синтезируется за весь процесс гликолиза?

А) 1

Б) 2

В) 3

Г) 4

28. Компоненты дыхательной цепи расположены в бактериальной клетке:

А) митохондриях

Б) цитоплазматической мембране

В) цитоплазме

Г) пластидах

29. Общая реакция окислительного фосфорилирования:

А) $S \sim \Phi + \text{АДФ} \rightarrow S + \text{АТФ}$

Б) $\text{АДФ} + \Phi_{\text{H}} \rightarrow \text{АТФ}$

30. Пути катаболизма глюкозы у бактерий:

А) Гликолиз и пентозофосфатный путь

Б) путь Энтнера-Дудорова и Варбурга-Диккенса-Хореккера

В) путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса и Энтнера-Дудорова

Г) путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса, гликолиза и Энтнера-Дудорова

Д) путь Энтнера-Дудорова, Варбурга-Диккенса-Хореккера и Эмбдена-Мейергофа-Парнаса

Д) путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса, Варбурга-Диккенса-Хорекера и пентозофосфатный

31. Суммарная реакция катаболизма глюкозы, характерная для пути Эмбдена-Мейергофа-Парнаса

А) глюкоза \rightarrow 2 глюкозо-6-фосфат + ПВК + АТФ + 2НАД \cdot Н₂

Б) глюкоза \rightarrow 2ПВК + АТФ + НАД \cdot Н₂ + НАДФ \cdot Н₂

В) глюкоза \rightarrow 2ПВК + 2АТФ + 2НАД \cdot Н₂

32. Переносчики атомов водорода по дыхательной цепи:

А) Флавопротеины и FeS-белки

Б) FeS-белки и Хиноны

В) Хиноны и Цитохромы

Г) Флавопротеины и Хиноны

Д) FeS-белки и Цитохромы

33. Переносчики электронов по дыхательной цепи:

А) Флавопротеины и FeS-белки

Б) FeS-белки и Хиноны

В) Хиноны и Цитохромы

Г) Флавопротеины и Хиноны

Д) FeS-белки и Цитохромы

34. Основные фотособирающие компоненты при фотосинтезе у прохлоропласт

А) Хлорофилл а

Б) Хлорофилл b

В) Хлорофилл а и b

Г) Хлорофилл а и b, каратиноиды

Д) Фикобилипротеины, каратиноиды

35. Электронтранспортная цепь отсутствует при:

А) Хлорофильном фотосинтезе

Б) Бесхлорофильном фотосинтезе

В) Оксигенном фотосинтезе

Г) Аноксигенном фотосинтезе

36. Фотопоглощающий компонент, участвующий в бесхлорофильном фотосинтезе:

А) Бактериохлорофилл

Б) Бактериородопсин

В) Бактериоретиналь

Г) Каротиноид с

37. В процессе аноксигенного фотосинтеза при циклическом транспорте электронов:

А) не происходит образование восстановленных эквивалентов

Б) происходит образование восстановленных эквивалентов

В) не выделяется АТФ, а только синтезируются восстановленные эквиваленты

Г) происходит образование восстановленных эквивалентов за счет внешних доноров электронов и синтез АТФ

38. В процессе аноксигенного фотосинтеза при нециклическом транспорте электронов:

А) не происходит образование восстановленных эквивалентов

Б) происходит образование восстановленных эквивалентов, синтез АДФ и АМФ

В) не выделяется АТФ, а только синтезируются восстановленные эквиваленты

Г) происходит образование восстановленных эквивалентов за счет внешних доноров электронов и синтез АТФ

39. В процессе оксигенного фотосинтеза при нециклическом транспорте электронов:

А) Электрон передается на Фд, который восстанавливает НАДФ⁺ до НАДФН

Б) Электрон передается через ряд переносчиков к окисленному Р₇₀₀

В) Фотосистема I и фотосистема II не связаны между собой и работают независимо друг от друга

40. При аноксигенном фотосинтезе работает:

А) только фотосистема I

Б) только фотосистема II

В) и фотосистема I и фотосистема II

Г) фотосистема, фотособирающим компонентом которого являются только бактериородопсин и каротиноиды

Антибиотики и антибиотикорезистентность микроорганизмов

Антибиотики – это специфические продукты обмена веществ различных организмов, способствующие подавлению или смерти микроорганизмов (бактерии, грибы и др.), либо селективно задерживающие рост или полностью останавливающие развитие некоторых злокачественных опухолей.

Термин был введен в обращение З. Ваксманом – американским микробиологом, получившим в 1952 году Нобелевскую премию за открытие стрептомицина.

Сам термин «антибиоз» был придуман Л. Пастером и нес определенный смысл – «жизнь против жизни».

Антибиоз – антагонистические отношения видов, когда один организм ограничивает возможности другого, невозможность сосуществования организмов, например, из-за интоксикации одними организмами (антибиотиками, фитонцидами) среды обитания других организмов. Случай, когда негативное воздействие направлено лишь в одну сторону, называется *аменсализм*, обоюдное негативное влияние организмов описывается термином *конкуренция*.

Антибионт – организм, участвующий в антибиозе.

Антагонизм же определяется как взаимоотношение микроорганизмов в природных или лабораторных условиях, при которых один вид задерживает или подавляет полностью рост другого. Антагонистами могут быть представители всех групп микроорганизмов.

Существует «*пассивный*» и «*активный*» антагонизм.

Микроорганизмы способны синтезировать различные антимикробные соединения при этом четкой связи между таксономическим положением микроорганизмов и способностью синтезировать тот или иной антибиотик нет. Так, например один вид бактерий способен синтезировать самые разнообразные по химическому строению и действию антибиотики, в другом случае, один и тот же антибиотик может продуцироваться представителями разных видов.

«Пассивный» и «активный» антагонизм у микроорганизмов

Антагонизм	Особенности	Взаимоотношения микроорганизмов
Пассивный	Угнетение роста одного вида микроорганизма другим может происходить только при определенных, иногда крайне ограниченных условиях развития этих организмов.	а) взаимоотношения микроорганизмов, складывающиеся при совместном развитии разных видов, которые нуждаются в одних и тех же питательных веществах; б) насильственный антагонизм. Антагонизм, обусловленный использованием разными организмами, развивающимися вместе, одних и тех же питательных веществ. При этом, один вид микроорганизма может использовать в качестве субстрата другие виды.
Активный	Угнетение роста или полное подавление жизнедеятельности одного вида микроорганизма другим происходит в результате обогащения окружающей среды продуктами обмена, выделяемыми организмами при развитии.	а) взаимоотношения, обусловленные образованием микроорганизмами органических кислот, спиртов или других продуктов обмена, происходящим в результате использования отдельных компонентов субстрата; б) образованием и выделением в окружающую среду антибиотических веществ. К этой группе следует отнести явления паразитизма и хищничества.

Классификация антибиотиков

Антибиотики классифицируются:

по спектру действия	а) препараты, узкого спектра действия, подавляющие грамположительные или грамотрицательные кокки или палочки; б) антибиотики широкого спектра действия, активные в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий; в) противопротозойные антибиотики;
----------------------------	---

	<p>г) противотуберкулезные антибиотики; д) противогрибковые антибиотики; е) противоопухолевые антибиотики</p>
по способу получения	<p>а) природные – получают, путем культивирования микроорганизмов-продуцентов на специальной питательной среде оптимальной для получения максимального выхода антибиотиков; б) полусинтетические – получаю путем модификации молекул природных антибиотиков; в) синтетические – получают путем химического синтеза, аналоги природных антибиотиков</p>
по механизму действия	<p>а) антибиотики, нарушающие синтез клеточной стенки; б) антибиотики, нарушающие молекулярную организацию и синтез клеточных мембран; в) антибиотики, нарушающие синтез белка; г) антибиотики — ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот; д) антибиотики, подавляющие синтез пуринов и пиримидинов; е) антибиотики, ингибирующие энергетический метаболизм; ж) антибиотики, ингибирующие окислительное фосфорилирование; з) антибиотики-антиметаболиты; и) антибиотики-иммуномодуляторы</p>
по типу действия	<p>а) бактерицидные (фунгицидные) – способны вызывать лизис микроорганизмов, действуют незамедлительно б) бактериостатические (фунгиостатические) – подавляют рост и размножение микроорганизмов, но не убивают их. в) сочетанное действие</p>
по продуцентам	<p>а) бактерии (большинство антибиотиков синтезируют актиномицеты); б) микроскопические грибы; в) лишайники; г) высшие растения и животные</p>
по химической структуре	<p>а) бета-лактамы – соединения, содержащие бета-лактамное кольцо; б) макролиды – соединения, содержащие лактонное кольцо; в) аминогликозиды – соединения, в состав молекулы которых входят аминсахара;</p>

	<p>г) тетрациклины – соединения, имеющие в своем составе четыре циклических кольца</p> <p>д) гликопептиды — высокомолекулярные углеродсодержащие соединения;</p> <p>е) линкозамиды – соединения, содержащие пирролидиновое кольцо, связанного с пиранозным фрагментом (метилтиолинкозамидом) амидной связью</p> <p>ж) левомитецин – имеет в составе молекулы нитробенzenовое «ядро»;</p> <p>з) полиены – соединения, содержащие в молекуле не менее трёх двойных углерод-углеродных связей</p> <p>и) сульфаниламиды – соединения, основу молекулы которых составляет парааминогруппа;</p> <p>к) рифамицин – состоит из двух основных частей: хромоформной нафтогидрохиноновой и 24-членной алифатической цепи с 5 метильными группами</p> <p>л) другие.</p> <p>Классификация по химической структуре условна, поскольку некоторые антибиотики могут быть отнесены к нескольким классам в зависимости от строения, либо не подходить ни под одно описание</p>
--	--

Таблица 42

Наиболее распространенные группы антибиотиков

Антибиотик	Механизм действия	Пример
Бета-лактамыные антибиотики (β-лактамыные антибиотики, β-лактамы)	<p>Ингибирование бактериального синтеза клеточной стенки, бактерицидное действие, в основном широкого спектра действия (против грам+ и грам- бактерий).</p> <p>Группа антибиотиков, которые объединяет наличие в структуре β-лактамного кольца.</p> <p>Мишень их действия – пенициллинсвязывающие белки (ПСБ) бактерий, которые выполняют роль ферментов на завершающем этапе синтеза пептидогликана.</p>	<p>Пенициллины:</p> <p>Пенициллин;</p> <p>Амоксицилин;</p> <p>Флуклоксациллин.</p> <p>Цефалоспорины:</p> <p>Цефокситин;</p> <p>Цефотаксим;</p> <p>Цефтриаксон;</p>

	Пептидогликан и пенициллиносвязывающие белки отсутствуют у млекопитающих, специфическая токсичность в отношении макроорганизма для β -лактамов нехарактерна.	Карбапенемы: Имипенем
Макролиды	Ингибирование бактериального синтеза белка на этапе трансляции в клетках, в основном бактериостатическое действие, широкий спектр действия. Группа лекарственных средств, большей частью антибиотиков, основой химической структуры которых является макроциклическое 14- или 16-членное лактонное кольцо, к которому присоединены один или несколько углеводных остатков. Макролиды относятся к классу поликетидов, соединениям естественного происхождения.	Эритромицин; Азитромицин; Кларитромицин
Тетрациклины	Ингибирование бактериального синтеза белка, преимущественно бактериостатическое действие, широкий спектр действия. Группа антибиотиков, относящихся к группе поликетидов, близких по химическому строению и биологическим свойствам.	Тетрациклин
Фторхинолоны	Ингибирование синтеза бактериальной ДНК, бактерицидное действие, широкий спектр действия. Группа лекарственных веществ, обладающих выраженной противомикробной активностью, широко применяющихся в медицине в качестве антибактериальных лекарственных средств широкого спектра действия. По широте спектра противомикробного действия, активности, и показаниям к применению они близки к антибиотикам, но отличаются	Офлоксацин; Пефлоксацин; Норфлоксацин; Левифлоксацин; Максифлоксацин

	от них по химической структуре и происхождению Антибиотики являются продуктами природного происхождения либо близкими синтетическими аналогами таковых в то время, как фторхинолоны не имеют природного аналога.	
Сульфамиды	Блокирует бактериальный метаболизм клеток путем ингибирования ферментов, бактериостатическое действие, широкий спектр действия. Группа лекарственных веществ, основу молекулы которых составляет парааминогруппа. Их действие связано, главным образом, с нарушением образования микроорганизмами необходимых для их развития ростовых факторов — фолиевой и дигидрофолиевой кислот и других веществ, в молекулу которых входит пара-аминобензойная кислота.	Стрептоцид; Норсульфазол; Сульфазин; Сульфадимезин; Этазол; Сульфапиридазин; Сульфадиметоксин; Фталазол; Фтазин; Сульгин
Аминогликозиды	Ингибирование бактериального синтеза белка, относятся к бактерицидным высокотоксичным препаратам, активным в отношении грамотрицательных аэробных бактерий. Быстро и эффективно уничтожают болезнетворные бактерии даже при ослабленном иммунитете. Для запуска механизма уничтожения бактерий требуются аэробные условия, то есть антибиотики данной группы не «работают» в мертвых тканях и органах со слабым кровообращением (каверны, абсцессы).	Стрептомицин; Неомицин; Канамицин; Амикацин; Гентамицин
Имидазолы	Ингибирует синтез бактериальной ДНК, но в основном действуют на мембрану грибов, в основном фунгистатическое действие, широкий спектр действия	Клотримазол; Метранидозол

	по отношению к патогенным грибам. Противогрибковое действие. Ингибируют биосинтез стероидов, что приводит к повреждению наружной клеточной мембраны грибов и повышению ее проницаемости.	
<i>Полиены</i>	<p>Действие полиеновых антибиотиков заключается в ингибировании нормальной работы цитоплазматической мембраны, проявляют как фунгистатическое, так и фунгицидное действие, широкий спектр действия.</p> <p>Механизм их действия основан на образовании химических связей со стеролами клеточных мембран грибов. Молекула полиена встраивается в мембрану и образует проводной канал, через который клеточные компоненты выходят наружу, что приводит к ликвидации клетки. В низких дозах полиены оказывают фунгистатическое воздействие, а в высоких дозах – фунгицидное. Однако они не активны против бактерий и вирусов.</p>	Пимафуцин; Нистатин; Леворин
<i>Полимиксины</i>	<p>Нарушают целостность цитоплазматической мембраны, бактерицидное действие, активны в отношении грамотрицательных бактерий.</p> <p>Способны соединяться с липидами мембраны, что вызывает нарушение их структуры и гибель бактерий.</p>	Полимиксин В и М
<i>Линкозамиды</i>	<p>Оказывают бактериостатическое действие, которое обусловлено ингибированием синтеза белка рибосомами.</p> <p>В высоких концентрациях в отношении высокочувствительных микроорганизмов могут проявлять бактерицидный эффект. Узкий спектр действия.</p>	Линкомицин; клиндамицин

Основные продуценты антибиотиков

Продуцент	Антибиотики
Актиномицеты	<ul style="list-style-type: none"> • канамицин – <i>Actinomyces kanamycetus</i> • неомицин – <i>Actinomyces iracie</i>, <i>Streptomyces fradiae</i>, <i>Str. albogriseolus</i> • линкомицин – <i>Streptomyces linconiensis</i> • природный левомицетин (хлорамфеникол) – <i>Streptomyces venezuelae</i> • рифамицин – <i>Streptomyces mediterranei</i>, <i>Nocardia mediterranea</i> • стрептомицин – <i>Streptomyces griseus</i> • гентамицин – <i>Micromonospora purpurea</i> • хлортетрациклин – <i>Streptomyces aureofaciens</i> • окситетрациклин – <i>Streptomyces rimosus</i>, <i>Actinomyces ninesus</i> • эритромицин – <i>Streptomyces erythreus</i> • олеандоимицин – <i>Streptomyces antibioticus</i> • магнамицин – <i>Streptomyces halstedii</i> • филиппин – <i>Streptomyces filipensi</i> • галамицины – <i>Micromonospora halophytica</i> • блеомицин – <i>Streptomyces verticillirus</i>
Микроскопические грибки	<ul style="list-style-type: none"> • пенициллины – <i>Penicillium chrysogenum</i>, <i>P. notatum</i> • цефалоспорины – <i>Cephalosporium acremonium</i>, <i>C. saltosynnematum</i> • фумалгин – <i>Aspergillus fumigatus</i> • гризеофульвин – <i>Penicillium nigricans</i>, <i>P. griseofulvum</i> • трихоцетин – <i>Trichthecium roseum</i> • глиотоксин – <i>Aspergillus fumigatus</i>
Бактерии	<ul style="list-style-type: none"> • пиоцианин, пиолипоевая кислота – <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • грамицидин, тиротрицин – <i>Bacillus brevis</i> • бацитрацин, субтилилин, трипанотоксин, эндосубтилилин, бациллин, обутин, ксантелин, бацилломиксин, микобациллин, петрин – <i>Bacillus subtilis</i> • полимиксин – <i>Bacillus polimixa</i> • монобактамы – <i>Chromobacterium violaceum</i>

Антибиотикорезистентность микроорганизмов

Резистентность	Характеристика
<i>Истинная (природная)</i>	<p>1) характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или недоступности мишени вследствие первично низкой проницаемости или ферментативной инактивации</p> <p>2) является постоянным видовым признаком и легко прогнозируется</p> <p>3) при наличии данной устойчивости у бактерий антибиотика клинически неэффективны</p>
<i>Приобретенная</i>	<p>1) свойство отдельных штаммов микроорганизмов сохранять жизнеспособность при тех концентрациях антибиотиков, которые подавляют основную часть микробной популяции. Устойчивость возникает в результате мутации отдельных штаммов и селекции устойчивых клонов микроорганизмов, либо в результате внехромосомного (плазмидного) обмена генетической информацией между отдельными микробными клетками</p> <p>2) приобретенная резистентность необязательно сопровождается снижением клинической эффективности антибиотика</p>

Известны следующие биохимические механизмы устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП):

- 1) модификация мишени действия АМП;
- 2) инактивация АМП;
- 3) активное выведение АМП из микробной клетки (эффлюкс);
- 4) нарушение проницаемости внешних структур микробной клетки;
- 5) формирование метаболического «шунта».

**Примеры антибиотикорезистентности
у микроорганизмов по отношению к разным АМП**

Антибиотики	Механизмы антибиотикорезистентности у микроорганизмов
<i>Бета-лактамы антибиотики</i>	<p>1. Ферментативная инактивация. За счет гидролиза одной из связей бета-лактамного кольца ферментами бета-лактамазами</p> <p>2. Модификация мишени действия. Мишенями действия бета-лактамов являются ферменты – пенициллинсвязывающие белки (ПСБ), участвующие в синтезе клеточной стенки бактерий. В результате модификации ПСБ у некоторых бактерий уменьшается сродство к бета-лактамам, что проявляется в снижении клинической эффективности</p> <p>3. Активное выведение бета-лактамов из микробной клетки за счет наличия специфических транспортных систем</p>
<i>Аминогликозиды</i>	<p>1. Ферментативная инактивация путем модификации с помощью аминогликозидомодифицирующих ферментов (АМФ). Модифицированные молекулы аминогликозидов теряют способность связываться с рибосомами и подавлять биосинтез белка. Выделяют три группы АМФ: аденилтрансферазы, или нуклеотидилтрансферазы, осуществляющие инактивацию молекулы аминогликозида путем присоединения нуклеотида аденина; ацетилтрансферазы – остатка уксусной кислоты и фосфотрансферазы – остатка фосфорной кислоты.</p> <p>2. Снижение проницаемости внешних клеточных структур.</p> <p>3. Модификация мишени действия. Основной мишенью действия аминогликозидных антибиотиков является 30S субъединица бактериальной рибосомы, в некоторых случаях устойчивость может быть связана с ее модификацией.</p>
<i>Хинолоны и фторхинолоны</i>	<p>1. Модификация мишени действия. Ведущим механизмом устойчивости к хинолонам и фторхинолонам является модификация мишеней – двух бактериальных ферментов ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, опосредующих конформационные изменения в молекуле бактериальной ДНК, необходимые для ее нормальной репликации.</p> <p>2. Активное выведение АМП из микробной клетки</p>

Макролиды и линкозамиды	<p>1. Модификация мишени действия. Основной мишенью действия макролидных и линкозамидных АМП является 50S субъединица бактериальной рибосомы. Несмотря на различия в структуре, все эти АМП имеют общий участок связывания с рибосомой. У большинства бактерий устойчивость возникает в результате метилирования или мутаций 23S субъединицы рРНК.</p> <p>2. Активное выведение АМП из микробной клетки. Активное выведение макролидов и линкозамидов осуществляют несколько транспортных систем.</p> <p>3. Ферментативная инактивация. Ферменты, инактивирующие макролиды и линкозамиды могут обладать широким субстратным профилем (макролидфосфотрансферазы <i>E. coli</i> и <i>Staphylococcus</i> spp.) и узким, которые инактивируют только отдельные антибиотики (эритромицинэстеразы, распространенные среди семейства <i>Enterobacteriaceae</i>, линкомицинацетилтрансферазы <i>Staphylococcus</i> и <i>Enterococcus</i>).</p>
Тетрациклины	<p>1. Активное выведение АМП из микробной клетки</p> <p>2. Формирование метаболического шунта. Защита рибосомы за счет наличия защитных белков, которые несмотря на связывание с рибосомой молекулы тетрациклина способствуют синтезу бактериальных белков</p>

Вопросы для контроля усвоения материала

1. На какие группы делятся антибиотики по механизму действия?
2. Назовите механизмы устойчивости бактерий к антибиотикам
3. В чем отличие антибиотиков бактерицидного действия от бактериостатического действия?
4. Каков механизм действия бета-лактамных антибиотиков?
5. Какую роль играют плазмиды в антибиотикорезистентности бактерий?

Для закрепления изученного материала рекомендуется выполнить практические задания.

Практическое задание № 10

Определение способности микроорганизмов к образованию антибиотиков

Цель	определить способность исследуемого микроорганизма к образованию антимикробных соединений
Материалы и оборудование	Оборудование: автоклав, термостат, Посуда: чашки Петри, микробиологическая петля, спиртовка (горелка), автоматические пипетки различного объема Реактивы: ГРМ-агар (плотный, полужидкий), хлороформ
Объекты исследования	Бактерии рода <i>Bacillus</i>

Для проведения занятия необходимо приготовить ГРМ-агар (плотный и полужидкий).

Состав г/л:

панкреатический гидролизат рыбной муки – 15;

панкреатический гидролизат казеина–10;

дрожжевой экстракт – 2;

NaCl – 3,5;

глюкоза – 1;

агар бактериологический – 10,0±2;

дистиллированная вода – 1 л

pH 7,2±0,2.

Автоклавируют при 121°C в течение 15 мин.

Для приготовления полужидкого ГРМ-агара необходимо уменьшить концентрацию агара бактериологического до содержания в конечной концентрации 0,5–0,7%

Стерильный и расплавленный ГРМ-агар необходимо разлить в чашки Петри по 10–15 мл, остудить до полного застывания, далее с помощью микробиологической петли точечно высеять на поверхности агаризованной пластинки исследуемые штаммы рода *Bacillus*, инкубировать в термостате при температуре 37°C 4–5 суток. После инкубирования

выросшие колонии инактивировать с помощью хлороформа и залить чашки Петри расплавленным и охлажденным до 50–55°C 0,7 % полужидким ГРМ-агаром, предварительно смешав его с тест-штаммами микроорганизмов, потенциально чувствительных к антимикробным соединениям бактерий рода *Bacillus*. Затем чашки Петри поместить на сутки в термостат при температуре, оптимальной для развития тест-культур.

Учет результатов

Если на поверхности агаризованной пластинки вокруг колоний инактивированного штамма рода *Bacillus* образуются зоны отсутствия роста тест-организма, то это свидетельствует о способности бацилл к синтезу антимикробных соединений. Размеры диаметра зон отсутствия роста вокруг колоний микроорганизма бывают различными. Чем больше образуется антибиотика, тем большей будет зона отсутствия роста тест-организма.

Запишите полученные результаты

Практическое задание № 11

Определение антибиотикорезистентности у микроорганизмов с помощью диско- диффузионного метода

Цель	Изучить влияние антимикробных препаратов (АМП) на разные штаммы бактерий
Материалы и оборудование	Оборудование и посуда: автоклав, термостат, чашки Петри, микробиологическая петля, шпатель Дригальского, спиртовка (горелка), пипетка, пинцет, автоматические пипетки различного объема Реактивы: среда АГВ для определения антибиотикорезистентности микроорганизмов, бумажные диски, пропитанные разными антимикробными веществами
Объект исследования	Разные штаммы бактерий

Для проведения занятия необходимо приготовить питательную среду АГВ (среда Гивенталья–Ведьминой), которая предназначена для

определения чувствительности микроорганизмов к АМП диско-диффузионным методом.

Состав (г/л):

панкреатический гидролизат рыбной муки – 21;

пептон ферментативный – 10;

NaCl – 3;

крахмал – 1,5;

дистиллированная вода – 1 л;

агар бактериологический – 12 ± 3 .

Среду автоклавируют в течение 15 мин при температуре 121°C. Далее разливают по 20 мл в стерильные чашки Петри. После застывания среды, открытые чашки со средой подсушивают в течение 50–60 мин при температуре (37 ± 1) °C, соблюдая правила асептики.

Таблица 46

Используемые в работе диски, пропитанные АМП

Класс АМП	АМП	Концентрация в бумажном диске, мкг
Бета-лактамы АМП	Ампициллин	10
	Цефотаксим	30
	Цефтазидим	30
	Азтреонам	30
	Имипенем	10
Аминогликозиды	Канамицин	30
	Гентамицин	10
	Амикацин	30
Хинолоны	Норфлоксацин	10
	Офлоксацин	5
	Налидиксовая кислота	30
Тетрациклины	Тетрациклин	30
	Доксициклин	30
Макролиды	Эритромицин	15
	Кларитромицин	15
	Азитромицин	15
Линкозамиды	Линкомицин	15
	Клиндамицин	2
Гликопептиды	Ванкомицин	30

При определении чувствительности микроорганизмов используют стандартный инокулюм, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно 10^6 КОЕ/мл. Для этого, суточную культуру бактериальных клеток добавляют в буферный раствор и с помощью стандарта мутности доводят до нужной концентрации КОЕ на мл. Далее необходимо внести в чашки Петри с питательной средой АГВ по 10 мкл бактериальной суспензии и распределить равномерно по всей поверхности агаризованной пластинки с помощью шпателя Дригальского. Аппликацию бумажных дисков, пропитанных АМП, проводят стерильным пинцетом, на расстоянии не менее 2 см друг от друга. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом. Инкубировать 1–2 суток в термостате при 37°С.

Учет результатов

Учет результатов проводится по диаметру (мм) зоны задержки роста колоний микроорганизмов вокруг дисков с АМП. При измерении зон задержки роста следует ориентироваться на зону полного подавления видимого роста. Данный метод основан на способности АМП диффундировать из пропитанных ими бумажных дисков в питательную среду и угнетать рост микроорганизмов.

Таблица 47

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности микроорганизмов, пограничные значения диаметров зон подавления роста

Класс АМП	АМП	Конц. в бумажном диске, мкг	Диаметр зоны подавления роста (мм)		
			резистентные	пограничные	чувствительные
<i>Бета-лактамы АМП</i>	Ампициллин	10	13	14-16	≥ 17
	Цефотаксим	30	≤ 14	15-22	≥ 23
	Цефтазидим	30	≤ 14	15-17	≥ 18
	Азтреонам	30	≤ 15	16-21	≥ 22
	Имипенем	10	≤ 13	14-15	≥ 16

Класс АМП	АМП	Конц. в бу- мажном диске, мкг	Диаметр зоны подавления роста (мм)		
			резистент- ные	погра- ничные	чувстви- тельные
<i>Аминоглико- зиды</i>	Канамицин	30	≤13	14-17	≥18
	Гентамицин	10	≤12	13-14	≥15
	Амикацин	30	≤14	15-16	≥17
<i>Хинолоны</i>	Норфлокса- цин	10	≤12	13-16	≥17
	Офлокса- цин	5	≤12	13-15	≥16
	Налидиксо- вая кислота	30	≤13	14-18	≥19
<i>Тетрацик- лины</i>	Тетрацик- лин	30	≤14	15-18	≥19
	Доксицик- лин	30	≤12	13-15	≥16
<i>Макролиды</i>	Эритроми- цин	15	≤13	14-22	≥23
	Кларитро- мицин	15	≤13	14-17	≥18
	Азитроми- цин	15	≤13	14-17	≥18
<i>Линкозамиды</i>	Линкоми- цин	15	≤17	17-20	≥21
	Клиндами- цин	2	≤14	15-20	≥21
<i>Гликопеп- тиды</i>	Ванкоми- цин	30	-	-	≥15

Запишите полученные результаты в таблицу.

Пример оформления результатов

№ шт ам ма	А м п	Ц е ф	Ц е ф т	А з т	И м и н	К а н т	Г е н т	А м и к	Н о р ф	О ф л к - т а	Н а л т	Т е к с т	Д о к с т	Э р л а т р	А з и н т	Л и н к	К л и н	В а н к	
1	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч
2	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч
3	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч	р/ п/ ч

Примечание р – резистентные, п – пограничные, ч – чувствительные

Пример оформления результатов

Класс АМП	Механизм действия	Спектр действия	Механизм антибиотикорезистентности против АМП
Бета-лактамы			
Аминогликозиды			
Хинолоны			
Тетрациклины			
Макролиды			
Линкозамиды			
Гликопептиды			

Тренировочные тестовые задания № 3

1. Основной механизм действия β -лактамных антибиотиков сводится:

- А) к подавлению синтеза клеточных стенок
- Б) к нарушению синтеза нуклеиновых кислот
- В) к нарушению функций цитоплазматической мембраны
- Г) к нарушению синтеза белка

2. Наиболее частым механизмом устойчивости к антибиотикам является:

- А) модификация мишени
- Б) нарушение проницаемости микробной клетки
- В) выведение антибиотика из клетки
- Г) энзиматическая инактивация антибиотика

3. Дisko-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности микроорганизмов относится к:

- А) качественной оценке
- Б) полуколичественной оценке
- В) количественной оценке

4. Е – тест определения антибиотикочувствительности микроорганизмов относится к:

- А) качественной оценке
- Б) полуколичественной оценке
- В) количественной оценке

5. К ингибиторам синтеза клеточной стенки бактерий относятся следующие группы антибиотиков:

- А) пенициллины
- Б) цефалоспорины
- В) полимиксины
- Г) рифампицины
- Д) аминогликозиды
- Е) верны А и Б
- Ж) верны А, Б и Д
- З) верны все кроме В

6. К ингибиторам синтеза белка у бактерий относятся следующие группы антибиотиков:

- А) пенициллины
- Б) цефалоспорины
- В) аминогликозиды
- Г) полимиксины
- Д) рифампицины
- Е) верны А и Б
- Ж) верны А, Б и Д
- З) верны все кроме В

7. К ингибиторам функций цитоплазматической мембраны у бактерий относятся следующие группы антибиотиков:

- А) пенициллины
- Б) цефалоспорины
- В) аминогликозиды
- Г) полимиксины
- Д) рифампицины
- Е) верны А и Б
- Ж) верны А, Б и Д
- З) верны все кроме В

8. Антибиотики, подавляющие синтез РНК бактерий, ингибируя ДНК-зависимую РНК-полимеразу:

- А) пенициллины
- Б) цефалоспорины
- В) аминогликозиды
- Г) полимиксины
- Д) рифампицины
- Е) верны А и Б
- Ж) верны А, Б и Д
- З) верны все кроме В

9. Антибиотики, входящие в группу аминогликозидов:

- А) полимиксин
- Б) стрептомицин
- В) гентамицин

- Г) тетрациклин
- Д) верны все кроме Г
- Е) верны Б и В
- Ж) верны А и Б

10. Антибиотики, входящие в группу полиенов:

- А) пимафуцин
- Б) нистатин
- В) полимиксин
- Г) леворин
- Д) клиндамицин
- Е) метронидазол
- Ж) верны все, кроме Е
- З) верны А, Б и Г
- И) верны А, В, и Д

11. Укажите характерные признаки для бета-лактамных антибиотиков (несколько правильных вариантов ответа):

- А) ингибирование бактериального синтеза клеточной стенки
- Б) бактериостатическое действие
- В) бактерицидное действие
- Г) узкого спектра действия
- Д) широкого спектра действия
- Е) ингибирование бактериального синтеза белка

12. Укажите характерные признаки для макролидов (несколько правильных вариантов ответа):

- А) бактерицидное действие
- Б) ингибирование бактериального синтеза белка
- В) ингибирование бактериального синтеза клеточной стенки
- Г) бактериостатическое действие
- Д) широкого спектра действия
- Е) узкого спектра действия

13. Антибиотики, получаемые путем культивирования микроорганизмов-продуцентов на специальной питательной среде оптимальной для получения максимального выхода антибиотиков:

- А) природные

- Б) синтетические
- В) полусинтетические

14. Антибиотики, ингибирующие нормальную работу цитоплазматической мембраны у грибов:

- А) имидазолы
- Б) полимиксины
- В) полиены
- Г) линкозамиды
- Д) аминогликозиды
- Е) верны А и В
- Ж) верны Б, Г
- З) верны все, кроме Д

15. Какие антибиотики эффективны только в аэробных условиях?

- А) имидазолы
- Б) полимиксины
- В) полиены
- Г) линкозамиды
- Д) аминогликозиды
- Е) верны А и В
- Ж) верны Б, Г
- З) верны все, кроме Д

16. Антибиотики, имеющие в своем строении четыре циклических кольца:

- А) аминогликозиды
- Б) тетрациклины
- В) макролиды
- Г) рифампицины
- Д) полиены
- Е) линкозамиды

17. Антибиотики, содержащие пирролидиновое кольцо, связанного с пиранозным фрагментом (метилтиолинкозамидом) амидной связью:

- А) аминогликозиды
- Б) тетрациклины

- В) макролиды
- Г) рифампицины
- Д) полиены
- Е) линкозамиды

18. Продуцентами антибиотиков являются:

- А) только бактерии и микроскопические грибы
- Б) только микроскопические грибы
- Г) микроскопические грибы и высшие растения
- Д) бактерии, микроскопические грибы и лишайники
- Е) бактерии, микроскопические грибы, лишайники, высшие растения и животные

19. К противотуберкулезным антибиотикам относятся (несколько правильных вариантов ответа):

- А) аминогликозиды
- Б) тетрациклины
- В) макролиды
- Г) рифампицины
- Д) полиены
- Е) линкозамиды

20. Антибиотики, содержащие в своей структуре не менее трёх двойных углерод-углеродных связей:

- А) аминогликозиды
- Б) тетрациклины
- В) макролиды
- Г) рифампицины
- Д) полиены
- Е) линкозамиды

21. Антибиотики, ингибирующие синтез бактериальной ДНК и нарушающие целостность цитоплазматической мембраны у грибов:

- А) полиены
- Б) имидазолы
- В) макролиды
- Г) тетрациклины

22. Резистентность микроорганизмов к антибиотикам может быть:

- А) истинной и приобретенной
- Б) первичной и вторичной
- В) передаваемой и не передаваемой
- Г) рациональной и не рациональной

КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Автоклав – устройство (герметичный аппарат) для проведения различных процессов при повышенной температуре и давлении выше атмосферного. В микробиологической практике используют автоклавы разной конструкции для стерилизации объектов высокотемпературным насыщенным водяным паром.

Автотрофы – организмы, способные использовать углекислоту в качестве единственного или главного источника углерода и обладающие системой ферментов для ее ассимиляции, а также способные синтезировать все компоненты клетки. Некоторые А. могут нуждаться в экзогенных (поступающих извне) витаминах и факторах роста (ауксотрофы). В зависимости от источника энергии, используемого А. для восстановления CO_2 , различают фотоавтотрофы (наземные зеленые растения; водоросли; цианобактерии, способные к кислородному фотосинтезу; фототрофные бактерии, осуществляющие анакислородный фотосинтез) и хемоавтотрофы, получающие энергию за счет окисления неорганических соединений и осуществляющие хемосинтез. Большинство А. ассимилируют углекислоту через восстановительный пентозофосфатный путь (цикл Кальвина). А. – продуценты органического вещества в биосфере, образующие первый трофический уровень в сообществах.

Автохтонные микроорганизмы – типичные обитатели экосистемы, постоянно живущие и размножающиеся в ней.

Адаптация – комплекс морфофизиологических, поведенческих и информационно-биоценологических особенностей особи, популяции, вида или сообщества, обеспечивающий им успех в конкуренции с другими особями, популяциями, видами и сообществами и устойчивость к воздействию факторов абиотической среды.

Аллохтонные микроорганизмы – микроорганизмы, наличие которых зависит от случайного повышения концентрации питательных веществ, как правило, попадающие при загрязнении.

Аммонификаторы – физиологическая группа бактерий, использующих белки и аминокислоты в качестве энергетических субстратов, что сопровождается выделением в среду аммиака.

Аммонификация – разложение микроорганизмами азотсодержащих органических соединений (белков, мочевины, нуклеиновых кислот и др.) с образованием свободного аммиака.

Анабиоз – состояние организма, при котором жизненные процессы настолько замедлены, что отсутствуют все видимые проявления жизни. А. наблюдается при резком ухудшении условий существования организма (низкая температура, отсутствие воды и др.). При наступлении благоприятных условий происходит восстановление нормального уровня жизненных процессов. А. – приспособление организма к неблагоприятным внешним условиям, широко распространен в мире микроорганизмов, обеспечивает стойкость к высушиванию, охлаждению, нагреванию спорообразующих бактерий, микроскопических грибов, образующих цисты простейших.

Анаболизм (или биосинтез, ассимиляция, пластический обмен, конструктивный или строительный обмен) – совокупность химических процессов, составляющих одну из сторон обмена веществ в организме, направленных на образование клеток и тканей. Анаболизм заключается в способности микроорганизмов усваивать различные питательные вещества из внешней среды для синтеза компонентов собственных клеток.

Антагонизм – взаимоотношения микроорганизмов в природных или лабораторных условиях, при которых один вид задерживает или подавляет полностью рост другого. Антагонистами могут быть представители всех групп микроорганизмов. При пассивном А. угнетение конкурента достигается неспецифическими продуктами жизнедеятельности (кислотами, спиртами и т. д.), при активном А. конкуренты выделяют в среду антибиотики или другие специфические соединения. Деятельность микробов–антагонистов – один из факторов очищения почвы, воды от патогенных микроорганизмов.

Анаэроостат – устройство для культивирования анаэробных микроорганизмов.

Анаэробные микроорганизмы – это микроорганизмы, которые производят энергию путем разложения питательных веществ в отсутствии свободного молекулярного кислорода. Анаэробы подразделяются

на облигатные (строгие) и факультативные, которые могут использовать как аэробные, так и анаэробные пути окисления для получения энергии.

Апоптоз – генетически запрограммированная гибель клетки как результат нормальной клеточной дифференцировки или повреждения клетки.

Арнона цикл – путь ассимиляции углекислоты некоторыми бактериями. Циклический механизм, в основе которого лежат реакции восстановительного карбоксилирования органических кислот. В результате одного оборота цикла происходит фиксация CO_2 в четырех реакциях, две из которых идут при участии восстановленного ферредоксина. При этом из 4 молекул углекислоты и восстановителя с затратой АТФ синтезируется 1 молекула щавелевой кислоты. Укороченный вариант цикла с синтезом ацетата представляет собой, по существу, обращенный цикл трикарбоновых кислот (ЦТК).

Аэробные микроорганизмы – это микроорганизмы, для которых необходим молекулярный кислород для производства энергии путем разложения питательных веществ.

Ауксотрофы – микроорганизмы, в противоположность прототрофам утратившие способность к самостоятельному синтезу какого-либо метаболита (аминокислоты, витамины и т. д.) в результате мутации и потери способности к образованию соответствующих ферментов, могут расти только на средах, в которые добавлен данный метаболит.

Биоиндикация – оценка качества природной среды по состоянию её биоты.

Биомасса – общая масса особей одного вида, группы видов или сообщества (растений, микроорганизмов, животных) на единицу поверхности, объема местообитания или массы субстрата. Б. выражают в массе сырого или сухого вещества (г/л, кг/га, кг/м³ и т. д.).

Биоремедиация – комплекс методов очистки вод, грунтов и атмосферы с использованием метаболического потенциала биологических объектов.

Брожение – анаэробный метаболический процесс превращения органических веществ, при котором АТФ образуется за счет субстратного фосфорилирования, а продукты расщепления субстрата могут одновременно служить как донорами, так и акцепторами водорода.

Вид – таксономическая категория в систематике микроорганизмов.

Время термической гибели – время, в течение которого погибают бактерии определенного вида в данной среде и при данной температуре. Определяется экспериментально, имеет практическое значение.

Гетеротрофы – организмы, использующие для питания органические вещества, произведенные другими организмами.

Гликолиз (фруктозобисфосфатный путь, путь эмбдена–мейергофа–парнаса, гликолитический путь) – процесс анаэробного ферментативного расщепления углеводов (главным образом глюкозы) клетками растений, животных и микроорганизмов. Конечным продуктом у животных является молочная кислота, у растений и микроорганизмов – пировиноградная кислота.

Глюкоза (виноградный сахар) – один из наиболее распространенных моносахаридов группы гексоз, важнейший источник энергии в живых клетках. Существует в двух основных формах – α -D- и β -D-глюкопираноза. Входит в состав различных олигосахаридов (лактозы, мальтозы, сахарозы), многих полисахаридов (гликогена, крахмала, целлюлозы), некоторых гликопротеидов и т. д. Участвует во многих реакциях энергетического и конструктивного обмена веществ в клетке. У автотрофов образуется из CO_2 и H_2O в результате фотосинтеза и хемосинтеза, у других организмов – в процессе глюкогенеза.

Дыхание – совокупность протекающих в организме физико-химических и физиологических процессов, в ходе которых обеспечивается поступление кислорода и удаление углекислого газа, а также использование кислорода клетками и тканями для окисления органических веществ.

Запасные вещества – осмотически инертные включения клеток микроорганизмов (полисахариды, жиры, полифосфаты и др.), образующиеся при ограничении роста клеток из-за недостатка отдельных компонентов питания или наличия ингибиторов. Полисахариды, жиры могут продлевать жизнь клетки в отсутствие внешних источников энергии (эндогенный метаболизм).

Иммерсионное масло – природные или синтетические масла, обладающие специфическими оптическими характеристиками и вязкостью, необходимыми для использования в микроскопии. Типичные используемые масла имеют показатель преломления около 1,515.

Инкубация – выдерживание микробной культуры при определенных параметрах (температурных, кислородных и т. д.) в течение фиксированного времени.

Инокуляция – введение живых микроорганизмов, инфицированного материала в питательные среды.

Кальвина цикл – наиболее распространенный путь восстановления углекислоты при фотосинтезе (исключение составляют зеленые бактерии) и хемосинтезе, представляет собой обращенный пентозофосфатный окислительный путь расщепления сахаров.

Катаболизм (или энергетический обмен, диссимиляция, биологическое окисление) – процесс метаболического распада, разложения на более простые вещества (дифференциация) или окисления какого-либо вещества, обычно протекающий с высвобождением энергии в виде тепла и в виде АТФ. Катаболические реакции лежат в основе диссимиляции: утраты сложными веществами своей специфичности для данного организма в результате распада до более простых. Катаболизм характеризуется расщеплением сложных органических веществ до более простых продуктов с освобождением энергии, заключенной в них. Эта энергия используется микроорганизмами для биосинтеза веществ данной клетки.

Клон – культура микроорганизмов, полученная из одной материнской клетки.

Колония микроорганизмов – это видимое невооруженным глазом скопление клеток или мицелия, образуемое в процессе роста и размножения микроорганизмов на (или в) плотном питательном субстрате. Колонии могут различаться у разных видов величиной, характером поверхности, консистенцией, пигментацией и другими признаками.

Кривая роста – кривая, описывающая зависимость логарифма числа живых клеток от времени при росте культуры на несменяемой среде. Типичная К. р. (для периодической микробной культуры) – имеет S-образную форму и состоит из нескольких фаз, сменяющих друг друга в определенной последовательности–1) начальная (или лаг-) фаза; 2) экспоненциальная (или логарифмическая); 3) стационарная; 4) фаза отмирания.

Кребса цикл – последовательность окислительных превращений лимонной кислоты и др. три- и дикарбоновых кислот в живых организ-

мах. важнейший биохимический механизм, обеспечивающий энергетический и конструктивный метаболизм всех живых клеток.

Культивирование – процесс инкубации микроорганизмов в лабораторных или промышленных условиях

Культивирование глубинное – выращивание микроорганизмов в жидкой или агаризованной среде ниже ее поверхности.

Культивирование непрерывное – выращивание микроорганизмов с постоянным обновлением среды (турбидостат, хемостат).

Культивирование периодическое – выращивание микроорганизмов на несменяемой среде от инокуляции до окончания роста клеток вследствие истощения питательных субстратов или накопления вредных веществ.

Культура микроорганизмов – совокупность микроорганизмов, выращенная на плотной или жидкой питательной среде.

культура микроорганизмов чистая (чистая культура микроорганизмов) – совокупность однородных микробных клеток, со сходными морфологическими, тинкториальными (отношение к красителям), культуральными, биохимическими и антигенными свойствами.

Культура микроорганизмов смешанная (смешанная культура микроорганизмов) – совокупность различных видов микроорганизмов.

Культура накопительная – начальный этап получения чистой культуры микроорганизма из природных субстратов. Заключается в создании селективных (избирательных) условий для роста организма определенного вида или группы сходных видов, при которых он (они) преодолевает(ют) конкуренцию других микроорганизмов. В качестве селективных факторов могут выступать – кислая реакция питательной среды (для получения культуры ацидофилов), отсутствие источника азота в среде (выделение азотфиксаторов), предварительное прогревание культуры (выделение спорообразующих бактерий) и др.

Культура синхронная – культура, содержащая клетки, находящиеся в одной стадии развития. К. с. получают экспериментально для изучения «возрастных» особенностей клеток конкретного вида.

Метод Грама – метод окраски микроорганизмов для исследования, позволяющий дифференцировать бактерии по биохимическим

свойствам их клеточной стенки. По Граму бактерии окрашивают анилиновыми красителями – генциановым или метиловым фиолетовым и др., затем краситель фиксируют раствором иода. При последующем промывании окрашенного препарата спиртом те виды бактерий, которые оказываются прочно окрашенными в синий цвет, называют грамположительными бактериями (обозначаются Грам (+)), – в отличие от грамотрицательных (Грамм (–)), которые при промывке обесцвечиваются.

Микробиологический бокс – камера для работы в стерильных или каких–либо специальных условиях.

Микробиологическая петля – инструмент, предназначенный для перевивки жидких культур микроорганизмов, засева чашек Петри, косога агара, счета колоний, снятия колоний с агара и взятия биологического материала для бактериологических исследований. Представляют собой палочки с колечком на одном конце и инокулирующей иглой на другой стороне, изготовленные из нихрома или пластика.

Микроскопия – совокупность методов изучения малых объектов с помощью микроскопов.

Микроэлементы – химические элементы, содержащиеся в живых организмах в очень малых количествах (10–2—10–6 весового процента).

Окрашивание витальное – прижизненное окрашивание клеток микроорганизмов (обычно анилиновыми красителями) для изучения морфологии, подвижности.

Окраска дифференциальная – специальные приемы окраски, позволяющие различать микроорганизмы сходной формы, размеров, но относящиеся к различным видам.

Пастеризация – процесс одноразового нагревания чаще всего жидких продуктов или веществ до 60 °С в течение 60 минут или при температуре 70—80 °С в течение 30 мин. Технология была предложена в середине XIX века французским микробиологом Луи Пастером. Применяется для обеззараживания пищевых продуктов, а также для prolongation срока их хранения.

Петри чашка – вид лабораторной посуды, плоский круглый контейнер диаметром 8—10 см из стекла или прозрачной пластмассы,

используемый в практике для выращивания и исследования бактерий на плотных питательных средах (агаровые, питательный желатин и др.).

Прототрофы – микроорганизмы дикого типа, способные развиваться на простых средах без добавления сложных органических соединений.

Сапротрофные бактерии (уст. сапрофитные) – бактерии, превращающие органические вещества отмерших организмов в неорганические, обеспечивая круговорот веществ в природе. Термин используется для противопоставления понятию «паразитическое существование бактерий». Для обозначения типа питания бактерий чаще используют термин «гетеротрофные бактерии».

Стерилизация – обеспложивание, полное освобождение от живых микроорганизмов различных веществ и предметов, например, пищевых продуктов, питательных сред, хирургического инструмента, посуды и т. д. Осуществляется действием высоких температур, бактериальных фильтров (холодная С.), а также применением хим. веществ, ионизирующих излучений.

Термостат – устройство, предназначенное для поддержания постоянной температуры. Существуют разные виды термостатов в зависимости от диапазона температур (термостаты высоких, средних и низких температур), рабочего тела (воздушные, жидкостные, твердотельные), точности поддержания температуры, области и способу применения.

Фактор роста – необходимые для роста и размножения микроорганизмов вещества, которые не синтезируются самим организмом, вследствие чего они должны поступать в микробные клетки в готовом виде.

Ферменты индуцибельные – ферменты, скорость синтеза которых изменяется в зависимости от условий существования организма. Регуляция синтеза Ф.и. происходит на генетическом уровне под действием индукторов, в роли которых выступают соответствующие субстраты и метаболиты.

Ферменты конститутивные – ферменты, постоянно синтезирующиеся организмом независимо от условий существования или наличия соответствующих субстратов.

Фототрофные микроорганизмы – фотосинтезирующие микроорганизмы, использующие энергию света для биосинтеза компонентов клеток и других энергозависимых процессов, обеспечивающих их рост.

Хемостат – аппарат для непрерывного культивирования микроорганизмов, обеспечивающий оптимальные температурные условия и постоянное поступление свежей питательной среды при одновременном удалении части микробной культуры.

Центрифуга – аппарат для механического разделения смеси на составные части под действием центробежных сил.

Шпатель Дригальского – это инструмент, используемый для равномерного распределения микробных клеток на поверхности плотных сред. Представляет собой цилиндрический стержень или проволоку из металла или стекла, изогнутую на конце в форме треугольника.

Штамм – чистая культура микроорганизмов, выделенная из конкретного источника в определенный момент времени и отличающаяся от других представителей того же вида.

ОТВЕТЫ НА ТРЕНИРОВОЧНЫЕ ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Тесовые задания № 1	Тестовые задания № 2	Тестовые задания № 3
1. Е	1. А	1. А
2. 1- А, Е, К; 2 – Б, Д	2. В	2. Г
3. А, Б, Г	3. А	3. А
4. В, Д	4. Б	4. Б
5. А	5. А	5. Е
6. Б	6. В	6. В
7. Д	7. Б	7. Г
8. Г	8. А	8. Д
9. Б	9. Ж	9. Е
10. А	10. И	10. З
11. В, Д	11. Д	11. А, В, Д
12. Б	12. Ж	12. Б, Г, Д
13. Д	13. Е	13. А
14. Б	14. Б	14. Е
15. Г	15. А	15. Д
16. А	16. В	16. Б
17. Б	17. В	17. Е
18. Г	18. Г	18. Е
19. Б	19. В	19. А, Г
20. А	20. Б	20. Д
21. А	21. А	21. Б
22. Б	22. Б	22. А
23. В	23. З	
24. Г	24. К	
25. А	25. А	
26. Г	26. В	
27. В	27. Г	
28. Б	28. Б	
29. Д	29. Б	
30. Б	30. Д	

31. Е	31. В	
32. А	32. Г	
33. Б, В	33. Д	
34. Г	34. Г	
	35. Б	
	36. Б	
	37. А	
	38. Г	
	39. А	
	40. А	

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биология: Большой энциклопедический словарь: репринт «Биологический энциклопедический словарь» / Гл. ред. М. С. Гиляров. – М.: Большая Российская энциклопедия, 1999. – 864 с.
2. Зверев В.В., Бойченко М.Н. Микробиология, вирусология: руководство к практическим занятиям: учеб. пособ. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2022. – 360 с.
3. Бузолева Л.С., Богатыренко Е.А. Словарь терминов и тестовые задания по микробиологии: уч. пособ. – Владивосток: Мор. гос. ун-т, 2014. – 111 с.
4. Глухарева Т.В. Основы получения и применения антибиотиков: уч. пособ./ Глухарева Т.В., Селезнева И.С., Уломский Е.Н. – Екатеринбург: Урал. ун-т, 2021. – 150 с.
5. Громова В.А., Захарова Ю.В. Руководство для самостоятельной работы студентов по санитарной микробиологии воды, почвы, лечебно-профилактических организаций. – Кемерово: Кемеровская гос. мед. академ., 2010. – 90 с.
6. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология: учеб. для вузов. – М.: Дрофа, 2005. – 445 с.
7. Калганова Т. Н. Практикум по микробиологии и биотехнологии: лабораторные работы. – Южно-Сахалинск: СахГУ, 2011. – 56 с.
8. Ким А. В. Влияние антропогенного загрязнения на таксономическое разнообразие и биологические свойства культивируемых бактерий акваторий Приморского края: дис. ... канд. биол. наук / Александра Вячеславовна Ким; Дальневосточный федеральный университет. – Владивосток, 2022. – 134 с.
9. Колычев Н.М., Госманов Р.Г. Ветеринарная микробиология и микология: Учебник. – СПб.: Лань, 2014. – 624 с.
10. Кустова Н.А. Лабораторный практикум по микробиологии. – М.: МГУИЭ, 2006. – 210 с.
11. Литусов Н.В. Физиология бактерий: Иллюстр. учеб. пособ. – Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2015. – 43 с.
12. Лысак В.В. Микробиология. Практикум: учеб. пособ. / В.В. Лысак, Р.А. Желдакова, О.В. Фомина – Минск: БГУ, 2015. – 115 с.

13. Лысак, В.В., Игнатенко Е.И. Физиология микроорганизмов: учебно-методическое пособие. — Минск: БГУ, 2016. — 80 с.
14. Маракулин И.В., Широких И.Г. Спецглавы микробиологии. Лабораторный практикум: учебно-метод. пособ. — Киров: ФГБОУ ВПО «ВятГУ», 2011. — 59 с.
15. Микробиология: практикум / под ред. И.С. Татьянченко. — зерноград: АЧИИ ФГБОУ ВО ДГАУ, 2018. — 92 с.
16. Нетрусов, А.И., Котова И.Б. Микробиология: теория и практика в 2 ч. Ч. 1: учеб. для вузов. — М.: Юрайт, 2024. — 315 с.
17. Пилькевич Н.Б. Основы микробиологии: учеб. пособ. для студ. высш. учеб. завед./ Н.Б. Пилькевич, А.А. Виноградов, Е.Д. Боярчук — Луганск: Альма-матер, 2008. — 192 с.
18. Оценка параметров роста микроорганизмов в условиях периодического и непрерывного культивирования: методические указания к выполнению лабораторной работы по курсу «Основы микробиологии и биотехнологии» для студентов специальности 280201.65 «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов» / сост. Л.А. Гаретова, О.А. Кириенко. — Хабаровск: Изд-во Тихоокеан. гос. ун-та, 2010. — 16 с.
19. Плотников А. О. Частная микробиология и систематика: Методические указания к лабораторному практикуму. — Оренбург: ГОУ ОГУ, 2007. — 75 с.
20. Практикум по микробиологии: учеб. пособ. для студ. высш. учеб. завед. / под ред. А.И. Нетрусова. — Москва: ИЦ "Академия", 2005. — 608 с
21. Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2024-02. — Смоленск: МАКМАХ, СГМУ, 2024. — 192 с.
22. Сахарова О.В., Сахарова Т.Г. Общая микробиология и общая санитарная микробиология: учебное пособие — 2-е изд., испр. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 224 с.
23. Сизенцов, А.Н. Методы определения антибиотикопродуктивности и антибиотикорезистентности: методические указания к лабораторному практикуму. — Оренбург: ОГУ, 2009. — 102 с.

24. Сизенцов, А.Н. Антибиотики и химиотерапевтические препараты: учебник / А.Н. Сизенцов, И.А. Мисетов, И.Ф. Каримов – Оренбург: ОГУ, 2012. – 489 с.

25. Сердюченко И. В. Микробиология: лекционный курс по дисциплине для студентов факультета «Защита растений» – Краснодар: «Световод», 2015. – 87 с.

26. Степаненко И.С., Ямашкин С.А. Активные противомикробные молекулы: монография – Москва: Лаборатория знаний, 2023. – 380 с.

27. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; под ред. В.К. Шильниковой. – 6-е изд., стереотип. – Москва: Дрофа, 2005. – 256 с.

28. Типы брожения. Качественные реакции спиртового, молочнокислого, маслянокислого брожения: методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам «Микробиология», «Фармакология, биохимия, микробиология» и «Биотехнология» для студентов ИПР, ИФВТ дневной формы обучения / сост. А.П. Асташкина. – Томск: Изд-во Томского политех. ун-та, 2015. – 18 с.

29. Фирсов Н. Н. Микробиология: словарь терминов. – Москва: Дрофа, 2006. – 256 с.

30. Якубик О.Л., Литвинова З.А. Микробиология учебно-методическое пособие к лабораторным работам. – Благовещенск: Дальневосточный ГАУ, 2021. – 222 с.

Учебное издание

**Ким Александра Вячеславовна,
Богатыренко Елена Александровна,
Сидоренко Марина Леонидовна**

Физиология и метаболизм микроорганизмов

Учебное пособие

Подписано в печать 07.02.2025 г.
Формат 60×84 / 16. Усл. печ. л. 7,56.
Тираж 300 экз. (1-й завод 1–30). Заказ 430.

Дальневосточный федеральный университет
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.

Отпечатано в Дальневосточном федеральном университете
690922, Приморский край, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, 10.
(Типография Издательства ДВФУ,
690091, г. Владивосток, ул. Пушкинская, 10)