

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Бурятская государственная сельскохозяйственная
академия имени В.Р. Филиппова»
факультет ветеринарной медицины
Кафедра ВСЭ, микробиологии и патоморфологии

КУРСОВАЯ РАБОТА

по дисциплине Микробиология

Тема: Рост и размножение микроорганизмов

Выполнил: обучающийся

Факультета ветеринарной медицины

группы 2203

Оюн Таисия Вячеславовна

Руководитель: кандидат ветеринарных
наук, доцент

Алексеева Саяна Мункуевна

Дата сдачи работы « 20 » мая 2020г.

Защита состоялась « 17 » июня 2020г.

Оценка хорошо

г. Улан – Удэ, 2020г

Оглавление

Введение	3
1. Понятие роста и размножения микроорганизмов	5
1.1. Рост микроорганизмов.....	5
1.2. Условия роста.....	6
1.3. Размножение микроорганизмов	7
1.4. Влияние окружающих условий на рост и развитие микроорганизмов.	9
2. Рост и размножение микроорганизмов на жидких и плотных питательных средах.....	13
2.1. Способы размножения микроорганизмов.....	13
2.2. Фазы развития бактериальной популяции	18
2.3. Питание и дыхание микроорганизмов	19
2.4. Особенности белкового и углеводного обмена у бактерий.....	23
3. Колонии микроорганизмов.....	26
3.1. Виды, форма, цвет и контурные края колонии микроорганизмов	26
3.2. Структура и консистенция колонии бактерий.....	28
Заключение	31
Список используемой литературы	33
Приложение А	35
Приложение Б.....	36
Приложение В	37
Приложение Г.....	38

Введение

Как сказал известный французский физиолог XIX века Клод Бернар, жизнь есть творение. Живые организмы отличаются от неживой природы главным образом тем, что растут и размножаются. Для микроорганизмов, как и для других живых существ, характерны рост и размножение.

Рост представляет собой увеличение количества химических компонентов микробной клетки. Для характеристики роста микроорганизмов используется понятие бактериальной массы, которое выражается плотностью бактерий (сухая масса на 1 мл). Размножение микробов описывается числом бактерий, отражающим концентрацию клеток в 1 мл. Строгой пропорциональности между увеличением числа бактерий и бактериальной массы нет. Размножение бактерий происходит путем прямого деления [3].

Рост бактериальной клетки не безграничен. Достигнув определенной величины, она перестает расти. Но ее жизнь при этом не кончается, она продолжает создавать живую материю, и под микроскопом мы можем наблюдать, как в известный момент она начинает делиться на две части, которые вскоре отделяются друг от друга и становятся двумя самостоятельными равноценными организмами. Так из одной материнской клетки появляются две дочерние. Вырастая, они тоже делятся, и в результате образуются четыре клетки, потом восемь, шестнадцать и т. д. Клетки, возникшие из одной материнской, представляют уже новое поколение (новую генерацию), подобно человеческому потомству [8].

Размножение — это увеличение числа клеток микроорганизмов в популяции. Микроорганизмы размножаются поперечным делением, происходящим в процессе роста, почкованием или образованием спор.

Прокариоты обычно размножаются бесполом путем — бинарным делением. В начале деления клетка удлиняется, затем делится нуклеоид. Воспроизведение нуклеоида, содержащего всю генетическую информацию,

необходимую для жизнедеятельности микроорганизма, — наиболее важный из всех процессов, которые происходят при росте клетки.

Их рост и размножение лучше всего наблюдать у таких одноклеточных микроорганизмов, как бактерии или дрожжи.

Целью курсовой работы является изучение роста и развития микроорганизмов.

Задачи курсовой работы:

- 1) раскрыть определение роста и развития микроорганизмов;
- 2) кратко ознакомить с условиями роста и развития;
- 3) описать основные фазы и формы влияния на рост и развития бактерий;
- 4) дать краткую характеристику видов колоний;

1. Понятие роста и размножения микроорганизмов

1.1. Рост микроорганизмов

Рост бактерий – увеличение бактериальной клетки в размерах без увеличения числа особей в популяции.

Рост всегда предшествует размножению. Бактерии размножаются поперечным бинарным делением, при котором из одной материнской клетки образуются две одинаковые дочерние.

В результате обменных процессов с окружающей средой и внутриклеточного метаболизма происходит рост и развитие организма. Конечная цель развития микроорганизма – размножение. Под ростом подразумевается не только рост отдельной клетки, но и большее увеличение числа клеток в результате размножения, т.е. рост культуры микроорганизмов.

Культура представляет собой совокупность особей, которое занимает определенное жизненное пространство.

Культуру называют чистой, если она представлена микроорганизмами одного вида.

Культуру, в которой содержится более чем один вид микробов, называют смешанной или гетерогенной.

Рост микроорганизмов зависит в первую очередь от наличия воды: грибы способны расти на субстрате, содержащий 12% воды, бактериям требуется для роста более 20%.

По потребности в воде для роста микроорганизмы подразделяются на три группы: гидрофиты – влаголюбивые, мезофиты – средневлаголюбивые и ксерофиты – минимально потребляющие воду. Большинство бактерий являются гидрофитами.

В питательной среде должны присутствовать все элементы, из которых строится клетка, и в такой форме, которую микроорганизм способен усваивать. В больших количествах необходимы макроэлементы: сера, фосфор, кислород и микроэлементы: цинк, никель, молибден и др.

Для роста микроорганизмов требуется и ряд дополнительных условий, микроорганизмы нуждаются:

- в определенных концентрациях некоторых химических веществ, особенно водородных ионов;
- в совершенно определенном соотношении разных ионов;
- в поддержании определенного окислительно-восстановительного потенциала среды.

Некоторые требовательные микроорганизмы и мутанты нуждаются, кроме того, в отдельных соединениях, которые сами синтезировать не могут. Такие необходимые дополнительные вещества называют факторами роста, их роль могут играть аминокислоты, витамины, пурины.

1.2. Условия роста

При удовлетворении всех потребностей в питательных веществах рост микроорганизмов зависит от определенных условий:

- рН среды ;
- температуры;
- осмотического давления.

Решающее значение для роста микроорганизмов имеет рН Среды. Большинство микроорганизмов лучше растет, когда концентрации НОН одинаковы (рН – 7,0). Грибы предпочитают более низкие значения рН. (Котова,2006)

К температуре различные микроорганизмы относятся по-разному. Большинство почвенных и водных бактерий лучше растут от 20 до 45 С- мезофилы. А спорообразующие бактерии лучше растут при температуре выше 45 С термофильные. Термофилы обитают в горячих источниках, гейзерах Камчатки, самонагревающихся скоплениях различных органических материалов (в зерне, сене, навозе, кампосте), в продуктах прошедших тепловую обработку. Другую крайность представляют

психрофильные бактерии, которые растут при температуре ниже 20 С (железобактерии).

Психрофилы встречаются в полярных зонах, в северных морях, снегах Арктики, на охлажденных продуктах. Термотолерантными называют бактерии, которые могут расти в области средних температур, но могут переносить и более высокие температуры (мин – 37 С, макс – 50 С).

К осмотическому давлению питательной среды большинство бактерий проявляет большую устойчивость. Многие бактерии могут расти на средах с содержанием солей от 0,1 до 10%.

Всем аэробным бактериям в качестве акцептора необходим кислород. Для бактерий, которые растут в тонких слоях жидкости в присутствии воздуха кислорода достаточно. В жидких средах при большом объеме жидкости аэробные бактерии могут расти только на поверхности. Для этого требуется аэрация. М/организмы способны использовать только растворенный кислород.

Для роста строго анаэробных бактерий исключается доступ кислорода воздуха. В технике применяют: прокипяченные, лишенные воздуха питательные среды, закрытые без пузырьков сосуды, применение различных веществ, поглощающих кислород и др.

1.3. Размножение микроорганизмов

Размножение – это увеличение числа особей. Наиболее распространенное – бинарное деление, в результате которого материнская клетка делится с образованием 2-х дочерних. Процессу деления предшествует репликация ДНК. Существует 2 типа бинарного деления: - перетяжкой – кострикция (для Г-). В начале деления в центре клетки происходит инвагинация оболочки и образование 2-х дочерних клеток. - с помощью поперечной перегородки (для Г+). В процессе бинарного деления образуются 2 одинаковые по размеру клетки (равновеликое бинарное

деление). Имеет место симметрия продольной и поперечной оси. Разновидностью бинарного деления является множественное, оно характерно для цианобактерий. Под клеточной оболочкой происходит множественное бинарное деление, образуются бациллы¹ (до 1000), материнская оболочка лопается и бациллы выходят во внешнюю среду. Разновидностью бинарного деления является почкование, которое можно рассматривать как неравновеликое бинарное деление. Сначала образуется почка, растет, закладывается перегородка и почка может оторваться. Симметрия наблюдается в продольной оси. Почкующиеся прокариоты имеют индивидуальность и подвержены старению. Материнский организм не меняется. Бинарное деление может проходить в одной или нескольких плоскостях, что приводит к образованию различных морфологических структур. Размножение спорами в среде прокариот существует группа микроорганизмов (актиномицеты), которые размножаются спорами (экзогенные). Артроспоры образуются в результате деления гиф на фрагменты. Могут размножаться с помощью гиф, но он должен содержать нуклеоид. Период от деления к делению называется онтогенезом. Выделяют несколько типов вегетативного клеточного цикла: - мноморфный цикл; Клетка от деления к делению находится в одном морфологическом состоянии. - диморфный цикл; Возникают 2 морфологических вида клеток. – полиморфный тип; Образует несколько типов (в процессе роста меняет свою форму). Например, коринебактерии, микобактерии, артробактерии. Под ростом микроорганизмы понимают увеличение биомассы клетки. Оно должно сопровождаться увеличением всех компонентов клетки. Если у высших организмов увеличение размера особи сопровождается увеличением числа клеток, то у бактерий различают 2 типа: индивидуальный рост; рост бактерии в популяции. Индивидуальный рост – рост клетки в процессе её онтогенеза. Размеры клеток можно определить прямым методом, с помощью

¹ Бациллы - род одноклеточных гетероконтозных паразитов, принадлежащих к группе организмов, известных как Stramenopiles, которые включают водоросли, диатомовые водоросли и водные плесени.

микрометров, которые встроены в систему микроскопа. А также косвенный метод, который позволяет измерять негативные изображения микрофотографий. Ошибка – 10-15%. Существуют формулы измерения объема сферической клетки: Для эллипсоидных: где a – малая диагональ (половина ширины клетки), b – большая диагональ (половина длины клетки). Для цилиндрических клеток: Цилиндрические формы с закругленными концами: Скорость роста клетки определяется во многом внешними данными. Чем более оптимальная среда, тем выше скорость роста. При постоянных условиях – рост постоянный, где V – объем клетки в момент времени t , V_0 – начальный объем клетки, C – постоянная скорость роста, e – основание натурального логарифма, t – время наблюдения.

1.4. Влияние окружающих условия на рост и развитие микроорганизмов

Концентрация растворенных веществ внутри микробной клетки, как правило, превышает их концентрацию во внешней среде. Это справедливо как для природного окружения микроорганизмов, так и для большинства культуральных сред. К тому же растворенные вещества, находящиеся в клетке и в окружающей среде, качественно различны. Основным барьером, регулирующим переход растворенных веществ между клеткой и внешней средой, служит клеточная мембрана – структура постоянной толщины (приблизительно 10 нм), которая состоит из темной смеси белков, липидов и гликопротеидов. Хотя молекулярная организация мембранных компонентов еще не выяснена, большое количество данных свидетельствует о том, что клеточная мембрана построена из двойного слоя фосфолипидов, в который включены различные белки.

Роль бактериальной мембраны в дыхательном метаболизме и в сегрегации хромосом обсуждалась. Здесь мы рассмотрим роль мембраны в сохранении определенного химического состава содержимого клетки.

У грамотрицательных бактерий внешний слой клеточной стенки (иногда называемый внешней мембраной, так как на поперечных срезах его тонкая структура напоминает структуру клеточной мембраны) также играет определенную, хотя и второстепенную, роль в регуляции распределения некоторых молекул между клеткой и внешней средой. Промежуток между клеточной мембраной и внешними слоями стенки грамотрицательных бактерии, называемый периплазматическим пространством, по химическому составу отличается и от содержимого клетки, и от внешней среды.

В этом отношении функции мембраны многообразны: она удерживает внутри клетки необходимые метаболиты и макро – молекулы, «накачивает» в клетку определенные питательные вещества против градиента концентрации, позволяет свободно «вытекать» из клетки другим питательным веществам, а так – же препятствует проникновению в клетку некоторых растворенных веществ из окружающей среды.

Поскольку клеточная мембрана содержит двойной липидный слой, по чисто химическим соображениям она должна полностью препятствовать проникновению всех полярных молекул. В действительности, однако, питательные вещества большей частью представляют собой полярные молекулы. Поэтому мембрана должна содержать определенные химически модифицированные участки, через которые проникают: в клетку этих необходимые полярные молекулы; следовательно, такие участки функционируют в мембранном транспорте.

Мембранный транспорт осуществляется посредством различных механизмов, простейший из которых пассивная диффузия. Перемещение вещества путем пассивной диффузии происходит только за счет различия в его концентрации по обе стороны мембраны (градиента концентрации), причем в результате такого перемещения это различия исчезает. Скорость перемещения – прямая функция величины градиента, но она имеет предел даже при очень большом различии, а концентрации вещества. Пассивная

диффузия свидетельствует о существовании в мембране участков, через которые свободно проходят некоторые вещества, примерно так же, как небольшие молекулы проходят через искусственные мембраны, используемые для диализа. Вода – основное вещество, которое проникает в клетку и покидает ее путем пассивной диффузии.

В процессе функционирования клетки транспортные механизмы выполняют две главные задачи, Во-первых, они поддерживают на достаточно высоком уровне внутриклеточные концентрации всех важнейших субстратов, обеспечивая работу как катаболических так и анаболических путей со скоростями, близкими к максимальным, даже при низких концентрациях исходных субстратов во внешней среде. Это подтверждается тем, что скорости экспоненциального роста микробных популяций сохраняются постоянными до тех пор, пока количество одного на необходимых питательных веществ не снизится до почти полного его истощения. При этой концентрации лимитирующего питательного вещества скорость роста популяции быстро падает до нуля. Во-вторых, активный транспорт выполняет функцию осморегуляции, поддерживая в клетках, оптимальным для метаболической активности уровень растворенных веществ (главным образом небольших молекул и ионов), даже если осмолярность окружающей среды изменяется в относительно широких пределах.

Скорость химической реакции является прямой функцией температуры и подчиняется закономерности, впервые описанной Аррениусом.

Быстрое падение скорости роста при высоких температурах называется тепловой денатурацией белков, и возможно, и таким образом структуры клетки, как мембраны. Максимальная температура роста – это температура, при которой деструктивные реакции становятся необратимыми, Такая температура обычно лишь на несколько градусов выше, чем оптимальная температура, при которой наблюдается максимальная скорость роста.

Исходя из влияния температуры на скорость химической реакции, можно было бы предположить, что все бактерии продолжают расти при снижении температуры (хотя и с постепенно уменьшающейся скоростью) до тех пор, пока система не замерзнет. Однако большинство бактерий перестает расти при температуре, которая намного выше точки замерзания воды (минимальная температура роста). Для каждого микроорганизма существует минимальная температура роста ниже, которой рост не наблюдается, как бы долог ни был период инкубации.

Численные значения основных температурных точек (минимальной, оптимальной и максимальной), а также интервал температур, в котором возможен рост, у бактерий сильно варьируют. Некоторые бактерии, выделенные на горячих источниках, могут расти при такой высокой температуре, как 95 °С. Другие, существующие в холодной среде обитания, растут при очень низких температурах, например при -10°С, если высокая концентрация солей предотвращает замерзание среды. На основе температурного диапазона роста бактерий часто делят на три большие группы: термофилы, растущие при высокой температуре (выше 55°С); мезофилы, растущие в среднем диапазоне температуры (от 20 до 45 °С), и психрофилы, хорошо растущие при 0°С.

Как это часто бывает в системах биологической классификации, такая терминология проводит более резкие различия между типами, чем те, которые наблюдаются в природе. Разделение бактерий на три группы, но их реакции на температуру не отражает полностью различия между ними в отношении широты температурного интервала, в котором возможен рост того или иного вида.

2. Рост и размножение микроорганизмов на жидких и плотных питательных средах

2.1. Способы размножения микроорганизмов

I. Половой способ размножения наблюдается только у эукариот.

II. Бесполое размножение.

1. Равновеликое бинарное поперечное деление (простое деление, изоморфное деление, митоз) наблюдается у большинства одноклеточных микроорганизмов (бактерий, риккетсий, простейших, дрожжей), в результате образуются две новые дочерние полноценные особи, наделенные генетической информацией материнской клетки, симметричные в отношении продольной и поперечной оси, сама материнская клетка исчезает.

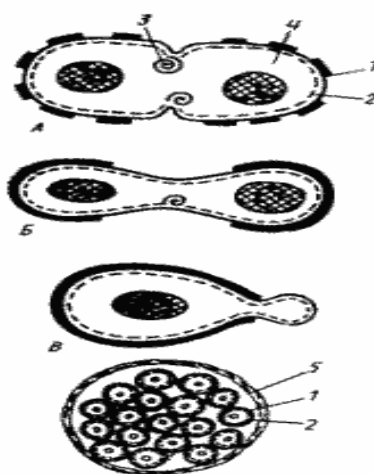
При этом у большинства Грамм «+» бактерий деление происходит путем синтеза поперечной перегородки, идущей от периферии к центру (рис. 1А). Клетки большинства Грамм «-» бактерий делятся путем перетяжки клетки (клетка истончается посередине) (Рисунок 1).

2. Почкование (неравновеликое бинарное деление) наблюдается у представителей родов *Francisella* и *Mycoplasma* и дрожжеподобных грибов. При почковании материнская клетка дает начало дочерней клетке: на одном из полюсов материнской клетки образуется маленький вырост (почка), увеличивающийся в процессе роста. Постепенно почка достигает размеров материнской клетки, после чего отделяется. КС почки полностью синтезируется заново. В процессе почкования симметрия наблюдается в отношении только продольной оси. Между материнской и дочерней клетками существуют морфологические и физиологические различия. Новая дочерняя клетка лучше приспосабливается к меняющимся условиям. (Поздеев,2010)

3. Фрагментация нитевидных форм характерна для рода *Actinomyces* и *Mycoplasma*.

4. Образование экзоспор характерно для *Streptomyces*, дрожжеподобных и плесневых грибов.

5. Особый цикл развития наблюдается у *Chlamydia*. К делению в клетках макроорганизма способны лишь вегетативные формы хламидий (ретикулярные или инициальные тельца). Их цикл, состоящий из нескольких делений, завершается образованием промежуточных форм, из которых формируются элементарные тельца, дающие начало вегетативным формам. После разрушения стенки вакуоли и клетки-хозяина элементарные тельца высвобождаются, и цикл повторяется. Цикл длится 40–48 ч [3].



A – деление путем образования поперечной перегородки;

B – деление путем перетяжки;

B – почкование;

Г – множественное деление.

1 – КС (толстой линией обозначена КС материнской клетки, тонкой – заново синтезированная);

2 – ЦПМ;

3 – мембранная структура;

4 – цитоплазма, в центре которой расположен нуклеоид;

5 – дополнительный фибриллярный слой КС

Рисунок 1. Способы деления и синтез КС у прокариот

6. Множественное деление описано для одной группы одноклеточных цианобактерий. В основе множественного деления лежит принцип равновеликого бинарного деления. Отличие заключается в том, что

в этом случае после бинарного деления не происходит роста образовавшихся дочерних клеток, а они снова подвергаются делению.

Множественное деление (шизогония) описано также у простейших (малярийных плазмодиев): ядерный материал делится на множество ядрышек, окружается участками цитоплазмы, в результате образуется множество дочерних клеток. [1].

Механизм и фазы простого деления:

А. Рост до определенной степени зрелости. Рост клетки не беспредель и после достижения определенных размеров бактериальная клетка начинает делиться. Во время деления рост клетки замедляется и начинается вновь после деления.

Б. Кариокинез (репликация ДНК и деление нуклеоида). Из созревшей цитоплазмы поступает сигнал, который активирует ген-инициатор на ДНК. Микроорганизмы под действием гена – инициатора синтезируют белок-инициатор, который действует на ген-репликатор – специальный участок ДНК, с которого начинается удвоение ДНК и деление на две нити.

Деление молекулы ДНК (репликация) происходит по полуконсервативному механизму и в норме всегда предшествует делению клетки. Репликация ДНК начинается в точке прикрепления кольцевой хромосомы к ЦПМ, где локализован ферментативный аппарат, ответственный за репликацию. [7].

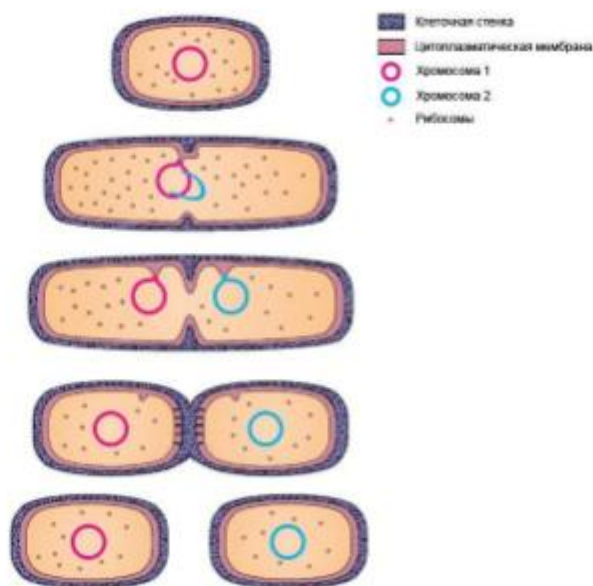


Рисунок 2. Репликация хромосомы у бактерий

Контакт ДНК с ЦПМ осуществляется посредством мезосом. Репликация, начавшаяся в точке прикрепления, идет затем в двух противоположных направлениях. Возникающие дочерние хромосомы остаются прикрепленными к мембране (Рисунок 2).

Механизм репликации ДНК выражается в разрыве водородных связей между ее двумя полинуклеотидными цепями, раскручивании их и синтезе с помощью ДНК-полимеразы вдоль каждой старой цепи новых цепей с комплементарной последовательностью оснований. После расхождения в дочерние клетки по одной старой и одной новой полинуклеотидной цепи между ними восстанавливаются водородные связи, и формируется полуконсервативная двухцепочечная ДНК [11].

В норме существует определенная временная связь между репликацией хромосомы и делением бактериальной клетки. Воздействия различными химическими веществами и физическими факторами, приводящие к подавлению репликации ДНК, останавливают и клеточное деление. Однако при некоторых условиях связь между обоими процессами может быть нарушена, и клетки способны делиться в отсутствие синтеза ДНК.

В. Цитокинез (деление клетки). Параллельно с репликацией молекул ДНК происходит синтез мембраны рядом с мезосомой, в области контакта

ДНК с ЦПМ. Образование перегородки приводит к делению клетки. Моментом, инициирующим деление клетки, является окончание репликации ДНК. Это приводит к разделению дочерних молекул ДНК и оформлению обособленных хромосом. Вновь образованные дочерние клетки отделяются друг от друга.

Угнетение синтеза мембраны до окончания репликации приводит к нарушению процесса деления: клетка перестает делиться и растет в длину. У некоторых бактерий образование перегородки не приводит к разделению клеток: образуются многокамерные клетки [10].

Г. Расхождение образовавшихся дочерних клеток происходит в результате лизиса среднего слоя КС. Если после многократного деления в одной плоскости клетки не расходятся, образуются цепочки палочковидных (*Bacillus*) или сферических (*Streptococcus*) клеток или парные клетки (*Neisseria*). Разъединение клеток возможно с обособлением одной из клеток путем движения по поверхности другой, в результате бактерии располагаются беспорядочно (*Escherichia*). Если при разъединении одна из дочерних клеток, не отрываясь от точки деления, передвигается по дуге, создается V-образная форма (*Corynebacterium*, *Bifidobacterium*). После бинарного деления и расхождения клеток в нескольких плоскостях образуются клеточные скопления разной формы: гроздья (*Staphylococcus*), пакеты (*Sarcina*) (рис. 3). Если деление нуклеоида предшествует клеточному делению, образуются многонуклеоидные микроорганизмы. Под влиянием неблагоприятных внешних факторов (соли желчных кислот, УФ – лучи, ПАВ, антибиотики) деление клетки может остановиться с сохранением ее роста. В таком случае возможно образование удлинённых нитевидных клеток.

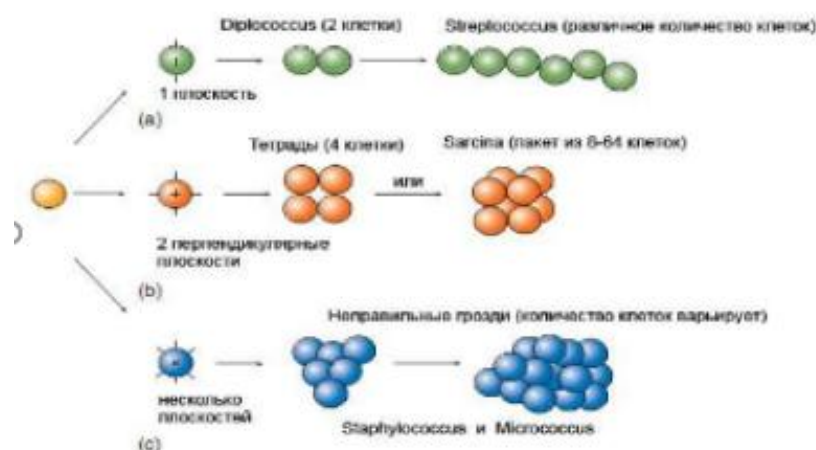


Рис. 3. Деление кокков

Период генерации – интервал времени, в течение которого происходит удвоение количества бактерий. Скорость размножения микроорганизмов и период генерации зависят от вида микроорганизма, величины и свойств инокулята, состава питательной среды, ее pH, аэрации, температуры инкубации, других факторов. При благоприятных условиях у многих микроорганизмов деление происходит через 15–30 мин (*E. coli*, *S. typhi*). У прихотливых микроорганизмов деление осуществляется через 45–90 мин (*Streptococcus*, *Corynebacterium*) и даже через 18 ч (*M. tuberculosis*). [8].

2.2 Фазы развития бактериальной популяции

Теоретически допускается, что если бактериям создать условия непрерывного притока и прогрессивного увеличения массы свежей питательной среды и оттока продуктов выделения, то размножение будет возрастать логарифмически, а гибель – арифметически (Приложение 1).

1. Исходная (стационарная, латентная, или фаза покоя). Представляет собой время от момента посева бактерий на питательную среду до их роста. В этой фазе число живых бактерий не увеличивается, а может даже уменьшиться. Продолжительность исходной фазы 1 – 2 ч.

2. Фаза задержки размножения. В течение этой фазы бактериальные клетки интенсивно растут, но слабо размножаются. Эта фаза занимает около 2 ч и зависит от ряда условий [3].

3. Логарифмическая фаза. В этой фазе скорость размножения клеток и увеличение бактериальной популяции максимальны. Период генерации (лат. *generatio* – рождение, воспроизведение), то есть время, прошедшее между двумя последовательными делениями бактерий, в этой стадии будет постоянным для данного вида, а количество бактерий станет удваиваться в геометрической прогрессии.

4. Фаза отрицательного ускорения. Скорость размножения бактерий перестает быть максимальной, число делящихся особей уменьшается, а число погибших увеличивается (длительность около 2 ч)

5. Стационарная фаза максимума. В ней число новых бактерий почти равно числу отмерших, то есть наступает равновесие между погибшими клетками и вновь образующимися. Продолжается эта фаза 2 ч.

6. Фаза ускорения гибели. Характеризуется прогрессивным превосходством числа погибших клеток над количеством вновь нарождающихся. Длится она около 3 ч.

7. Фаза логарифмической гибели. Отмирание клеток происходит с постоянной скоростью (длительность около 5 ч).

8. Фаза уменьшения скорости отмирания. Остающиеся в живых клетки переходят в состояние покоя [10].

2.3 Питание и дыхание микроорганизмов

Физиология микроорганизмов изучает особенности развития, питания, энергетического обмена и других процессов жизнедеятельности микробов в различных условиях среды (Приложение 2).

- Питание микроорганизмов.

Питание микробов осуществляется путем диффузии через оболочку и мембрану растворенных в воде питательных веществ. Нерастворимые сложные органические соединения предварительно расщепляются вне клетки с помощью ферментов, выделяемых микробами в субстрат.

По способу питания микроорганизмы разделяют на автотрофные и гетеротрофные.

Автотрофы способны синтезировать из неорганических веществ (в основном углекислого газа, неорганического азота и воды) органические соединения. В качестве источника энергии для синтеза эти микробы используют световую энергию (фотосинтез) или энергию окислительных реакций (хемосинтез) [9].

Гетеротрофы используют для питания в основном готовые органические соединения. Микробы, питающиеся органическими веществами отмерших животных или растительных организмов, называют сапрофитами. К ним относятся бактерии гниения, грибы и дрожжи. Паразитотрофные микроорганизмы, или паразиты, живут за счет питательных веществ живых клеток организма хозяина. К паразитотрофам относится большинство болезнетворных микробов [1].

- Обмен веществ и состав микроорганизмов

Все реакции обмена веществ в микробной клетке происходят при помощи биологических катализаторов - ферментов. Большинство ферментов состоят из белковой части и простатической небелковой группы. В простатическую группу могут входить такие металлы, как железо, медь, кобальт, цинк, а также витамины или их производные. Некоторые ферменты состоят только из простых белков. Ферменты специфичны и действуют только на одно определенное вещество. Поэтому в каждом микроорганизме находится целый комплекс ферментов, причем некоторые ферменты способны выделяться наружу, где участвуют в подготовке к усвоению сложных органических соединений. Ферменты микроорганизмов используются в пищевой и других видах промышленности (Приложение 3)

Вода. Микробная клетка на 75 – 85 % состоит из воды. Большая часть воды находится в цитоплазме клетки в свободном состоянии. В воде протекают все биохимические процессы обмена веществ, вода является также растворителем этих веществ, так как питательные вещества поступают

в клетку только в виде раствора, а продукты обмена удаляются из клетки тоже с водой. Часть воды в клетке находится в связанном состоянии и входит в состав некоторых клеточных структур. В спорах бактерий и грибов количество свободной воды снижено до 50 % и менее. При значительной потере связанной воды микробная клетка погибает.

Органические вещества микробной клетки представлены белками (6 – 14 %), жирами (1 – 4%), углеводами, нуклеиновыми кислотами. [10].

Белки – основной пластический материал любой живой клетки, и микробной в том числе. Белки составляют основу цитоплазмы, входят в состав оболочки клетки и некоторые клеточные структуры. Они выполняют очень важную каталитическую функцию, так как входят в состав ферментов, катализирующих реакции обмена в микробной клетке.

В клетке микробов содержатся дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК). ДНК находится в основном в ядре клетки или нуклеотидах, РНК – в цитоплазме и рибосомах, где участвует в синтезе белка.

Содержание жиров у различных микроорганизмов различно, у некоторых дрожжей и плесеней оно выше в 6 – 10 раз, чем у бактерий. Жиры (липиды) являются энергетическим материалом клетки. Жиры в виде липопротеидов входят в состав цитоплазматической мембраны, которая выполняет важную функцию в обмене клетки с окружающей средой. Жиры могут находиться в цитоплазме в виде гранул или капелек.

Углеводы входят в состав оболочек, капсул и цитоплазмы. Они представлены в основном сложными углеводами – полисахаридами (крахмал, декстрин, гликоген, клетчатка), могут быть в соединении с белками или липидами. Углеводы могут откладываться в цитоплазме в виде зерен гликогена, как запасного энергетического материала.

Минеральные вещества (фосфор, натрий, магний, хлор, сера и др.) входят в состав белков и ферментов микробной клетки, они необходимы для

обмена веществ и поддержания нормального внутриклеточного осмотического давления.

Витамины необходимы для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов. Они участвуют в процессах обмена веществ, так как входят в состав многих ферментов. Витамины, как правило, должны поступать с пищей, однако некоторые микробы обладают способностью синтезировать витамины, например В2 или В12. [10].

- Дыхание микроорганизмов

Процессы биосинтеза веществ микробной клетки протекают с затратой энергии. Большинство микробов используют энергию химических реакций с участием кислорода воздуха. Этот процесс окисления питательных веществ с выделением энергии называется дыханием. Энергия высвобождается при окислении неорганических (автотрофы) или органических (гетеротрофы) веществ.

Аэробные микроорганизмы (аэробы) используют энергию, выделяемую при окислении органических веществ кислородом воздуха с образованием неорганических веществ, углекислого газа и воды. К аэробам относятся многие бактерии, грибы и некоторые дрожжи. В качестве источника энергии они чаще всего используют углеводы. [1].

Анаэробные микроорганизмы (анаэробы) не используют для дыхания кислород, они живут и размножаются при отсутствии кислорода, получая энергию в результате процессов брожения. Анаэробами являются бактерии из рода клостридий (ботулиновая палочка и палочка перфрингенс), маслянокислые бактерии и др.

В анаэробных условиях проходят спиртовое, молочнокислое и маслянокислое брожение, при этом процесс превращения глюкозы в спирт, молочную или масляную кислоту происходят с выделением энергии. Около 50 % выделенной энергии рассеивается в виде тепла, а остальная часть аккумулируется в АТФ (аденозинтрифосфорная кислота).

Некоторые микроорганизмы способны жить как в присутствии кислорода, так и без него. В зависимости от условий среды они могут переходить с анаэробных процессов получения энергии на аэробные, и наоборот. Такие микроорганизмы называются факультативными анаэробами. [4].

2.4. Особенности белкового и углеводного обмена у бактерий

- Белковый обмен у бактерий – это, с одной стороны, - процесс синтеза собственных аминокислот и белков путем ассимиляции необходимых компонентов из внешней среды, а с другой, - внеклеточное расщепление белков под воздействием различных ферментов. Если расщепление белков происходит в анаэробных условиях, то этот процесс называется гниение, а если он идет в аэробных условиях - тление.

При наличии у бактерий протеаз белки расщепляются ими до промежуточных продуктов распада – пептонов, а при наличии у бактерий пептидаз пептоны расщепляются ими до аминокислот и продуктов их распада (аммиака, сероводорода, индола). Протеолитические (способность расщеплять белки) и пептолитические (способность расщеплять пептоны) свойства выражены далеко не у всех бактерий, поэтому их изучение в совокупности с другими ферментативными свойствами помогает идентифицировать бактерии [8].

- Углеводный обмен у бактерий также носит двойкий характер – это процесс синтеза и распада углеводов. Расщепление углеводов бактериями (сахаролитические свойства) в аэробных условиях с образованием углекислого газа и воды называется горением, а расщепление ими углеводов в анаэробных условиях – брожением [4].

В зависимости от характера конечных продуктов разложения углеводов в анаэробных условиях различают брожение:

- спиртовое,
- молочнокислое,

- пропионовокислое,
- муравьинокислое,
- маслянокислое,
- уксуснокислое.

Молекулярный кислород в процессах брожения не участвует. Большинство бактерий, осуществляющих брожение - облигатные анаэробы. Однако некоторые из них – факультативные анаэробы, способны осуществлять процесс брожения в присутствии кислорода, но без его участия. Более того, этот кислород подавляет процесс брожения. И оно сменяется горением (дыханием - конечный акцептор водорода – кислород). Этот эффект был назван эффектом Пастера и является одним из классических примеров смены метаболизма у бактерий в зависимости от условий среды. (<https://bio.wikireading.ru/4223>)

При изучении процесса размножения бактерий необходимо учитывать, что бактерии всегда существуют в виде более или менее многочисленных популяций, и развитие бактериальной популяции в жидкой питательной среде в периодической культуре можно рассматривать как замкнутую систему. В этом процессе выделяют 4 фазы:

- 1-я - начальная, или лаг-фаза, или фаза задержки размножения, она характеризуется началом интенсивного роста клеток, но скорость их деления остается невысокой;
- 2-я - логарифмическая, или лог-фаза, или экспоненциальная фаза, она характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток и значительным увеличением числа клеток в популяции;
- 3-я - стационарная фаза, она наступает тогда, когда число клеток в популяции перестает увеличиваться. Это связано с тем, что наступает равновесие между числом вновь образующихся и гибнущих клеток. Число живых бактериальных клеток в популяции на единицу объема питательной среды в стационарной фазе обозначается как М-концентрация. Этот показатель является характерным признаком для каждого вида бактерий;

- 4-я - фаза отмирания (логарифмической гибели), которая характеризуется преобладанием в популяции числа погибших клеток и прогрессивным снижением числа жизнеспособных клеток популяции. [11].

3. Колонии микроорганизмов

3.1. Виды, форма, цвет и контурные края колонии микроорганизмов

Для изучения свойств колоний микробы культивируют на плотных питательных средах в чашках Петри. При посеве материала стараются получить изолированный рост колоний. Чашки с посевом просматривают сначала невооруженным глазом или через лупу, затем помещают их на столик микроскопа вверх дном и просматривают колонии в проходящем свете с объективом малого увеличения и с суженной диафрагмой. [6].

Колонии характеризуют по величине, форме, контуру края, рельефу, поверхности, цвету, структуре и консистенции (Приложение 4).

Величина колонии определяется ее диаметром. В зависимости от диаметра различают колонии точечные (диаметр меньше 1 мм), мелкие (диаметр 1 – 2 мм), средние (диаметр 2 – 4 мм) и крупные (диаметр 4 – 6 мм и более).

Форма колонии бывает правильная – круглая, неправильная – амёбовидная, ризоидная – корневидная, напоминающая переплетающиеся корни деревьев.

Характер контура края определяют при рассмотрении колонии под лупой или микроскопом с малым увеличением. Различают ровные края в виде четко выраженной линии и неровные. Последние делят на:

1. фестончатый край, состоящий из крупных, слегка округлых или уплощенных зубцов правильной формы;
2. волнистый край, который несколько отличается от фестончатого тем, что крупные зубцы его выражены нечетко;
3. эрозированный, или зазубренный, край, состоящий из острых зубцов различной величины и формы;
4. бахромчатый край, имеющий нежные ворсинки. В некоторых случаях четко выраженная линия, отграничивающая колонию от поверхности среды, отсутствует. Такой край колонии называется расплывчатым. [2].

Рельеф колонии характеризуется приподнятостью ее над поверхностью питательной среды и контуром формы в вертикальном разрезе. Определяется рельеф колонии невооруженным глазом или с лупой при рассматривании сверху и сбоку. Различают:

1. каплеобразные и куполообразные колонии правильной круглой формы с различно выраженной степенью выпуклости, которые в вертикальном разрезе представляют собой сегмент шара и отличаются только длиной радиуса. Колонии слабовыпуклые имеют большую длину радиуса; куполообразные – меньшую;

2. колонии плоско-выпуклые с плоским верхом, пологими или круто обрывающимися краями; имеют в вертикальном разрезе форму трапеции;

3. колонии конусообразные, имеющие в вертикальном разрезе форму треугольника:

4. колонии с приподнятой в виде соска серединой и валиком по периферии;

5. колонии с вдавленным центром;

6. колонии плоские, стелющиеся по поверхности среды. [11].

Поверхность колонии изучают с помощью лупы или под микроскопом при малом увеличении. Поверхность колоний бывает матовая или блестящая с глянцем, сухая или влажная, гладкая или шероховатая. Гладкие колонии обозначают буквой S (smooth), шероховатые – буквой R (rough), что означает соответственно «гладкий» и «шероховатый». Механизм формирования гладких и шероховатых форм колоний обусловлен различием процессов клеточного деления. Микробные клетки в колониях S-форм располагаются, соприкасаясь своими боковыми поверхностями, клетки R-форм, сохраняя при делении цитоплазматические мостики, образуют цепочки, которые, накладываясь друг на друга, обуславливают шероховатую поверхность и неровный край колонии. [6].

Переход S-форм в R-формы наблюдается при диссоциации. Явление диссоциации у патогенных микробов наблюдается под действием

антибиотико- и химиотерапии, факторов специфического иммунитета, формирующихся в течение инфекционного процесса, а также факторов внешней среды. Среди шероховатых форм колоний различают: складчатые, гирозные, по виду напоминающие исчерченную извилинами поверхность мозга; бородавчатые, концентрически или радиально исчерченные; шагреньевые, т. е. мелкозернистые.

Цвет колонии определяется пигментом, который продуцирует культура микробов. Преобладающее большинство патогенных бактерий пигмента не образуют, вследствие чего колонии их бесцветны или молочно – мутного цвета, похожи на опал. В проходящем свете такие колонии в большей или меньшей степени прозрачны. Пигментообразующие виды микробов дают колонии различных цветов: кремовые, желтые, золотисто-оранжевые, синие, красные, сиреневые, черные и др [1].

3.2. Структура и консистенция колонии бактерий

Структура колоний определяется в проходящем свете при слабом увеличении микроскопа, суженой диафрагме или при несколько опущенном конденсоре. У пигментированных колоний и колоний, не пропускающих света, она не определяется.

По характеру структуры различают следующие виды колоний:

1. гиалиновые – бесцветные, прозрачные, без видимой определенной структуры;
2. зернистые, которые в зависимости от величины зерен разделяются на мелко- и грубозернистые;
3. нитевидные или волокнистые, характеризующиеся наличием длинных, густо переплетающихся нитей в толще колонии [4].

Колонии бывают однородные и неоднородные. Строение первых одинаково во всех частях, у вторых центральная часть отличается от

периферической или отдельные сектора имеют строение, неодинаковое с остальной массой [2].

Консистенцию колонии, определяющую ее физическое состояние, исследуют посредством прикосновения или взятия из нее части материала бактериальной петлей. По характеру консистенции колонии бывают:

1. пастообразные, легко снимающиеся и размывающиеся по поверхности питательной среды наподобие сливочного масла;
2. вязкие или слизистые, прилипающие и тянущиеся за петлей;
3. волокнистые или кожистые, плотные, снимающиеся с поверхности питательной среды в виде упругой пленки, соответствующей величине и форме колонии;
4. хрупкие, сухие, рассыпающиеся при прикосновении петли [7].

На жидких питательных средах характер роста микробов менее разнообразен, чем на плотных питательных средах. Однако и здесь выявлены следующие формы роста бактерий.

Рост бактерий с равномерным помутнением среды, цвет которой остается неизменным или изменяется в соответствии с цветом водорастворимого пигмента, образующегося в культуре микроба. Такой рост характерен для многих патогенных бактерий, относящихся к группе факультативных анаэробов.

Придонный рост бактерий характеризуется образованием осадка на дне пробирки с жидкой питательной средой. Осадок может быть скудным или обильным, крошковидным, гомогенным, волокнистым или в виде крупных рыхлых хлопьев, по консистенции вязким, слизистым, хрупким или пастообразным. Питательная среда над осадком может быть прозрачной или мутной. Цвет осадка и среды, находящейся над ним, определяется наличием пигмента, продуцируемого культурой микробов. Если культура пигмента не образует, цвет среды не изменяется, а осадок приобретает, как правило, серовато-белый или желтоватый цвет. Придонный рост специфичен для бактерий с анаэробным типом дыхания [1].

Пристеночный рост бактерий выражается в том, что питательная среда, находящаяся в пробирке, остается совершенно прозрачной. Бактерии растут, образуя более или менее крупные рыхлые хлопья или, наоборот, компактные зерна, прикрепленные к внутренней поверхности стенок сосуда, с которых в зависимости от вида бактерий снимаются легко или с трудом.

Поверхностный рост бактерий характеризуется появлением на поверхности жидкой питательной среды пленки, внешний вид и характер которой могут быть различны:

- пленка тонкая, нежная, бесцветная, имеет вид едва заметного налета, исчезающего при встряхивании пробирки и взбалтывании среды;

- пленка влажная, толстая, хорошо видимая простым глазом, вязкой, слизистой консистенции, прилипает к петле и тянется за ней;

- пленка плотная, сухая, внешним видом напоминает кусочки кожи и при попытке взятия из нее материала снимается целиком в виде круглого диска, соответствующего диаметру пробирки:

- пленка плотная, сухая, со сморщенной, а иногда бородавчатой поверхностью, краями прикрепленная к стенкам сосуда; при взбалтывании жидкости или прикосновении бактериальной петли разбивается на кусочки, погружающиеся в глубь жидкости [9].

Цвет пленки, как и питательной среды, зависит от пигмента, вырабатываемого растущей культурой микробов. Рост бактерий в виде поверхностной пленки характерен для микробов – аэрофилов

Заключение

В любой биологической системе рост может быть, определен как согласование увеличение количества всех химических компонентов. Возрастание массы не обязательно связаны с ростом, поскольку клетки способны просто накапливать запасные вещества, такие, как гликоген или в оксibuтират. Однако в подходящей среде, и которой они полностью адаптированы, бактерии находятся в состоянии сбалансированного роста. В период сбалансированного роста удвоение биомассы сопровождается удвоением всех других учитываемых параметров популяции, например количеств. Сложные процессы метаболизма, происходящие в клетке, отражаются такими явлениями, как рост и размножение микроорганизмов.

Термин «рост» означает увеличение массы клеток микроорганизмов в результате синтеза клеточного материала.

Интенсивность роста микроорганизмов можно определить делением их массы на численность особей в единице объема в отдельные промежутки времени. Рост индивидуальной клетки заканчивается размножением.

Размножение – это увеличение числа особей. Наиболее распространенное – бинарное деление, в результате которого материнская клетка делится с образованием 2-х дочерних. Процессу деления предшествует репликация ДНК. Существует 2 типа бинарного деления: перетяжкой – кострикция.

Размножение бактерий определяется временем генерации. Это период, в течение которого осуществляется деление клетки. Продолжительность генерации зависит от вида бактерий, возраста, состава питательной среды, температуры и других факторов. В период генерации (время, прошедшее микроорганизмы могут использовать большой набор окисляемых органических соединений, чаще всего глюкозу. Энергия получается из этих соединений в результате их окисления или, точнее, отдачи ими электронов.

Различают множество видов колонии микроорганизмов, характерные каждому виду цвет и формы. Колонии бывают круглой, розеткообразной, звездчатой, древовидной формы, могут иметь поверхность гладкую, выпуклую, плоскую, куполообразную, вдавленную. Колонии отмечаются также по строению края, который, может быть ровным (S-форма) и шероховатым (R-форма). По величине колонии подразделяют на крупные (свыше 4 мм) в диаметре, средние (2-4 мм), мелкие (1-2 мм) и карликовые (меньше 1мм).

Колонии отличаются также по консистенции, плотности, прозрачности, цвету. Они бывают слизистыми, сметанообразными, влажными, сухими, прозрачными, полупрозрачными и непрозрачными, окрашенными и бесцветными.

Различные виды микроорганизмов образуют специфические колонии на плотных питательных средах и дают характерный рост на жидких средах. Особенности роста микробов на питательных средах называют культуральными свойствами. Их учитывают при определении видов микроорганизмов.

Список используемой литературы

1. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология / А.А. Воробьев, Ю.С.Кривошеин, В.П. Ширококов.— М.: Академия, 2003
2. Германов И.И. «Микробиология», 1969
3. Гусев М.В. , Минеева Л.А. Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минеева, 2003.
4. Котова И.Б. Микробиология / И.Б. Котова , А.И. Нетрусов, 2006.
5. Мудрецова-Висс К.А., Колесник С.А. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии / К.А. Мудрецова – Висс, С.А. Колесник, 1975
6. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / О. К. Поздеев, В. И. Покровского. — М.: 2010
7. Орлов, В. И. Основы микробиологии, 1965.
8. Прозоркина Н.В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии / Н.В. Прозоркина, Л.А. Рубашкина. – М.: Ростов-на-Дону, 2002г.
9. Работнова И.Л. Общая микробиология. – М, - 1966
10. Стейниер Р. Мир микробов / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Ингрэм Дж, 1979.
11. Шлегель Г. Общая микробиология, Микробиология, 1972.
12. Муруева, Г.Б. Инфекционные болезни. – М.: ФГБОУ ВО БГСХА, 2020. - 54 с
13. Галсанова, Г. Д. Санитарно-микробиологическая характеристика продуктов животного происхождения и факторов внешней среды. – М.: БГСХА , 2014. - 67 с.
14. Колычев Н.М. Ветеринарная микробиология и микология / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. – М.: Лань, 2014. – 624 с.
15. Красникова Л.В. Микробиология / Л.В. Красникова, Л.В. – М.: Троицкой мост, 2012. – 296 с.

16. Кисленко В.Н. Ветеринарная микробиология и микология / Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов. – М.: Лань, 2014. – 624 с.
17. <https://baker-group.net/quality-control/microbiology-of-milk-and-milk-products/the-growth-and-reproduction-of-microorganisms.html>
18. https://studme.org/287619/ekologiya/rost_razmnozhenie_mikroorganizmov
19. <https://bio.wikireading.ru/4223>
20. https://med-microbiology.com/index/rost_i_razmnozhenie_mikroorganizmov/0-31

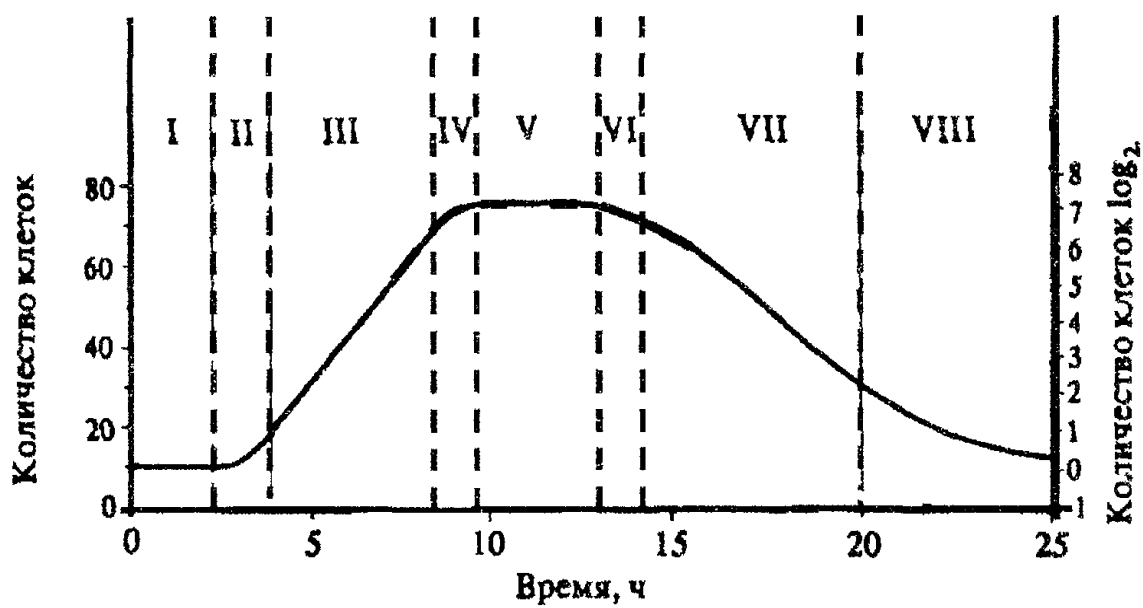


График роста бактерий в бактериальной популяции



Способы питания бактерий



Обмен веществ и состав микроорганизмов

Признаки колоний			
размер (диаметр, мм)	форма	край	поверхность
точечные - до 1мм мелкие - 1-2мм средние - 2-4мм крупные - >4мм	правильная (круглая) неправильная (волокнистая, ризоидная, веретеновидная)	ровный волнистый зубчатый лопастной складчатый	матовая блестящая складчатая морщинистая
прозрачность	консистенция (определяют, прикасаясь к колонии бакпетлём)	профиль	цвет
непрозрачные (<i>стафилококки, бациллы</i>) полупрозрачные (<i>энтеробактерии, бактериоды</i>) прозрачные как «капельки росы» (<i>гонококки, вибрионы</i>)	вязкая, тянущаяся сухая, плотная	плоский высокий выпуклый подушечкообразный й кратерообразный конусовидный пуповидный	бесцветная окрашенная
непрозрачные (<i>стафилококки, бациллы</i>) полупрозрачные (<i>энтеробактерии, бактериоды</i>) прозрачные как «капельки росы» (<i>гонококки, вибрионы</i>)	вязкая, тянущаяся сухая, плотная	плоский высокий выпуклый подушечкообразный кратерообразный конусовидный пуповидный	бесцветная окрашенная

Признаки колоний микроорганизмов