

ЗАДАНИЯ
практического тура заключительного этапа
XLII Всероссийской олимпиады школьников по биологии. 2025-26 уч. год.
10 класс. МИКРОБИОЛОГИЯ
50 баллов

Оборудование и материалы: 3 пластиковые микропробирки с чистыми культурами («А», «Б», «В»), чашка Петри с колониями совместно выращенных культур, 3% КОН, микроскоп, предметные стекла, покровные стекла, кусочки фильтровальной бумаги, пипетки Пастера, пинцет, микробиологическая петля, спиртовка, маркер.

Введение: Из недр изумрудных копий Малышевского месторождения ученые-микробиологи УрФУ выделили 3 микроорганизма, имеющие биотехнологический потенциал. Их вырастили в виде чистых культур, чтобы изучить физиологические свойства и биохимию. Однако дополнительно ученые попробовали культивировать эти культуры совместно, после чего произвели посев на чашки Петри, чтобы определить численность. Помогите микробиологам проанализировать полученные результаты!

Цель работы: Изучить три выделенные культуры и особенности их совместного существования.

Задачи:

- 1) Провести микроскопический анализ чистых культур.
- 2) Проанализировать эффект от совместного культивирования.
- 3) Установить биохимические свойства культур.

Ход работы

Задание 1. Микроскопический анализ культур (макс. 30 баллов).

1) Приготовьте препарат «раздавленная капля» каждой чистой культуры («А», «Б», «В»). Для этого нанесите пипеткой Пастера каплю культуры на предметное стекло и накройте её сверху покровным стеклом. Микроскопируйте препараты с объективом 40х и **заполните таблицу в Задании 1 на листе ответов**, указав варианты морфологии, характерные для каждой культуры.

Обратите внимание! В данной работе использованы только чистые культуры. Они могут иметь как один, так и несколько вариантов морфологии. При наличии различных микроорганизмов в препарате (например, вследствие загрязнения) учитывайте самый многочисленный.

2) Проведите экспресс-тест на грампринадлежность каждой культуры. Для этого нанесите каплю 3% КОН на предметное стекло, внесите небольшое количество культуры и размешивайте стерильной микробиологической петлёй в течение 30 сек. В случае грамотрицательных микроорганизмов при попытке поднять петлю из капли за ней потянется слизистая нить. В случае грамположительных микроорганизмов такого эффекта не наблюдается. **Внесите результаты в последний столбец таблицы в Задании 1 на листе ответов.**

3) После совместного культивирования 3 культуры были анаэробно посеяны на чашку Петри. Но выросло только 2 из них, причем в разном количестве. Ученые успели определить только то, что обе культуры окрашивались по Граму положительно. Определите, какая из 3 чистых культур преобладала на чашке, а какая была минорной, и **запишите в Задании 1 на листе ответов.**

Задание 2. Анализ чашек Петри (макс. 12 баллов).

1) Укажите номер чашки **в Задании 2 на листе ответов.**

2) Подсчитайте число колоний **минорной** культуры на чашке. **Запишите в Задании 2 на листе ответов.**

3) Известно, что при культивировании *в одиночестве* в тех же условиях и за то же время минорная культура в среднем образует 30 колоний на чашку. Используйте формулу распределения Пуассона, чтобы рассчитать вероятность получить столько колоний, сколько вы посчитали на вашей чашке:

$$P(X) = \frac{\lambda^X \cdot e^{-\lambda}}{X!}$$

Где: X – число наблюдаемых колоний;

λ – среднее ожидаемое число колоний на чашке;

$P(X)$ – вероятность получить X колоний при среднем ожидаемом λ ;

e – число Эйлера $\approx 2,71828$.

Если вероятность не превышает 5%, то принято считать, что результат значительно отличается от ожидания.

Запишите в Задании 2 на листе ответов рассчитанную вероятность (в процентах), а также вывод о том, насколько наблюдаемое число колоний соответствует ожидаемому.

Задание 3. Биохимия культур (макс. 8 баллов).

Для установления конкретного типа метаболизма трёх культур были идентифицированы ключевые гены. В таблице представлено наличие (+) или отсутствие (-) генов, кодирующих ферменты метаболических путей, а также структурные компоненты дыхательных цепей:

Ген	Культура А	Культура Б	Культура В
цитохром-с-оксидаза субстрат _{восст} +O ₂ → субстрат _{окисл} +H ₂ O	-	+	-
сульфатредуктаза (dsrAB) субстрат _{восст} +SO ₄ ²⁻ → субстрат _{окисл} +S ⁰	-	-	+
ацетаткиназа (ack) и фосфотрансацетилаза (pta) ацетил-КоА+Ф _n ⇌ ацетилфосфат+КоА ацетилфосфат+АДФ ⇌ ацетат+АТФ	+	-	-
цитратсинтаза (gltA) ацетил-КоА+оксалоацетат+H ₂ O ⇌ цитрат+КоА+H ⁺	-	+	-
гидрогеназа (NiFe) субстрат _{восст} + 2H ⁺ → субстрат _{окисл} +H ₂	+	-	+

На основе данных таблицы оцените верность следующих утверждений и **укажите это в таблице Задания 3 на листе ответов**, поставив знак **✗** в поле “*верное*” или “*неверное*”:

- 1) Культура А продуцирует ацетат в анаэробных условиях.
- 2) Культура Б способна к окислительному фосфорилированию с использованием кислорода в качестве конечного акцептора электронов.
- 3) Культура В восстанавливает сульфат до серы.
- 4) Культура А имеет полный цикл трикарбоновых кислот (ЦТК).
- 5) Культуры А и В способны выделять водород, который может использоваться в анаэробных условиях в качестве донора электрона для микроорганизмов-литотрофов.
- 6) Культура Б может использовать в качестве донора электрона органические вещества и/или O₂, NO₃⁻ или SO₄²⁻.
- 7) Культура В может использоваться для восстановления рН шахтных вод, после процесса биовыщелачивания (разрушения сульфидных руд до серной кислоты).
- 8) Культура В образует серу в результате аноксигенного фотосинтеза.