

УТВЕРЖДАЮ  
 Руководитель ООП  
 А.В. Зиновьев  
 «05» апреля 2022 г.



Рабочая программа дисциплины

**Микробиология**

Закреплена за кафедрой **Ботаники**  
 Учебный план **Биология**  
 Квалификация **Бакалавр**  
 Форма обучения **очная**  
 Общая трудоемкость **4 ЗЕТ**

Часов по учебному плану 144  
 в том числе:  
 аудиторные занятия 45  
 самостоятельная работа 72  
 часов на контроль 27  
 Виды контроля в семестрах:  
 экзамены 6

**Распределение часов дисциплины по семестрам**

Семестр (<Курс>.<Семестр на курсе>)	6 (3.2)		Итого	
	Неделя 15			
Вид занятий	УП	РП	УП	РП
Лекции	15	15	15	15
Лабораторные	30	30	30	30
Итого ауд.	45	45	45	45
Контактная работа	45	45	45	45
Сам. работа	72	72	72	72
Часы на контроль	27	27	27	27
Итого	144	144	144	144

Программу составил(и):

канд. биол. наук, доц., Спирина Ульяна Николаевна \_\_\_\_\_

Рабочая программа дисциплины

**Микробиология**

разработана в соответствии с ФГОС ВО:

Федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования - бакалавриат по направлению подготовки 06.03.01 Биология (приказ Минобрнауки России от 8/7/2020 г. № 920)

## 1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ

1.1 формирование у студентов базовых теоретических и практических знаний в области микробиологии

### Задачи :

– освоение знаний о клеточных структурах и дифференцировке прокариот, метаболических процессах, обеспечивающих многообразие способов существования прокариот и их функций в природе, генетических механизмах, основах систематики микроорганизмов и микробной экологии;  
– знакомство с практическими аспектами, важными для решения продовольственных, энергетических проблем, а также для охраны окружающей среды и здоровья человека;  
– формирование умений и навыков использования стандартных микробиологических методов для наблюдения и изучения микроорганизмов в полевых и лабораторных условиях, а также знакомство с современными методами микробиологических исследований.

## 2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ООП

Цикл (раздел) ОП: Б1.О

### 2.1 Требования к предварительной подготовке обучающегося:

2.1.1 Основы геномики и протеомики

2.1.2 Биохимия и молекулярная биология

2.1.3 Цитология

### 2.2 Дисциплины (модули) и практики, для которых освоение данной дисциплины (модуля) необходимо как предшествующее:

2.2.1 Вирусология

2.2.2 Иммунология

2.2.3 Общая биология

2.2.4 Биологическая оценка среды

2.2.5 Методы молекулярно-генетических исследований

## 3. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ, СООТНЕСЕННЫЕ С ПЛАНИРУЕМЫМИ РЕЗУЛЬТАТАМИ ОСВОЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

**ОПК-1.1:** Применяет знание теоретических основ микробиологии, вирусологии, ботаники и зоологии для изучения жизни и свойств живых объектов, их идентификации и культивирования

**ОПК-1.2:** Применяет знание биологического разнообразия и его роли как ведущего фактора устойчивости живых систем и биосферы для анализа взаимодействий организмов различных видов друг с другом и со средой обитания

**ОПК-1.3:** Применяет методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов в природных и лабораторных условиях

**ОПК-8.1:** Выполняет сбор, обработку и систематизацию полевой и лабораторной информации для осуществления профессиональной деятельности, анализирует полученные результаты

**ОПК-8.2:** Работает с основными типами современного экспедиционного и лабораторного оборудования для осуществления профессиональной деятельности

## 4. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

Код занятия	Наименование разделов и тем	Вид занятия	Семестр / Курс	Часов	Источники	Примечание
	<b>Раздел 1. Раздел 1. Микробиология, ее объекты и методы</b>					
1.1	Микробиология, ее объекты и методы	Лек	6	1		
1.2	Микробиология, ее объекты и методы	Лаб	6	2		
1.3	Микробиология, ее объекты и методы	Ср	6	10		
	<b>Раздел 2. Раздел 2. Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот</b>					
2.1	Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот	Лек	6	2		

2.2	Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот	Лаб	6	4		
2.3	Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот	Ср	6	10		
<b>Раздел 3. Раздел 3. Рост и культивирование микроорганизмов</b>						
3.1	Рост и культивирование микроорганизмов	Лек	6	2		
3.2	Рост и культивирование микроорганизмов	Лаб	6	4		
3.3	Рост и культивирование микроорганизмов	Ср	6	10		
<b>Раздел 4. Раздел 4. Метаболизм прокариот</b>						
4.1	Метаболизм прокариот	Лек	6	2		
4.2	Метаболизм прокариот	Лаб	6	4		
4.3	Метаболизм прокариот	Ср	6	10		
<b>Раздел 5. Раздел 5. Генетика прокариот</b>						
5.1	Генетика прокариот	Лек	6	2		
5.2	Генетика прокариот	Лаб	6	4		
5.3	Генетика прокариот	Ср	6	10		
<b>Раздел 6. Раздел 6. Разнообразие и систематика прокариот</b>						
6.1	Разнообразие и систематика прокариот	Лек	6	2		
6.2	Разнообразие и систематика прокариот	Лаб	6	4		
6.3	Разнообразие и систематика прокариот	Ср	6	11		
<b>Раздел 7. Раздел 7. Экология микроорганизмов</b>						
7.1	Экология микроорганизмов	Лек	6	2		
7.2	Экология микроорганизмов	Лаб	6	4		
7.3	Экология микроорганизмов	Ср	6	6		
<b>Раздел 8. Раздел 8. Прикладная микробиология</b>						
8.1	Прикладная микробиология	Лек	6	2		
8.2	Прикладная микробиология	Лаб	6	4		
8.3	Прикладная микробиология	Ср	6	5		
<b>Раздел 9. Экзамен</b>						
9.1	Микробиология	Экзамен	6	27		

## 5. ОЦЕНОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ТЕКУЩЕЙ И ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

### 5.1. Оценочные материалы для проведения текущей аттестации

См. ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

### 5.2. Оценочные материалы для проведения промежуточной аттестации

См. ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

## 6. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)

### 6.1. Рекомендуемая литература

#### 6.3.1 Перечень программного обеспечения

6.3.1.1	Microsoft Windows 10 Enterprise
6.3.1.2	Microsoft Office профессиональный плюс 2013
6.3.1.3	Kaspersky Endpoint Security 10 для Windows
6.3.1.4	Google Chrome
6.3.1.5	WinDjView
6.3.1.6	Foxit Reader
6.3.1.7	Mozilla Firefox
6.3.1.8	Многофункциональный редактор ONLYOFFICE

#### 6.3.2 Современные профессиональные базы данных и информационные справочные системы

6.3.2.1	ЭБС «ZNANIUM.COM»
6.3.2.2	ЭБС «ЮРАИТ»
6.3.2.3	ЭБС «Университетская библиотека онлайн»

6.3.2.4	ЭБС IPRbooks
6.3.2.5	ЭБС «Лань»
6.3.2.6	ЭБС BOOK.ru
6.3.2.7	ЭБС ТвГУ
6.3.2.8	Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU (подписка на журналы)

#### **7. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)**

Аудитория	Оборудование
5-318	мультимедийный комплекс, переносной ноутбук, учебная мебель
5-324	микроскопы , термостат, центрифуга, холодильник «Чинар», электроплитки, стерилизатор, весы торсионные, светильники настольные, шкаф сушильный, баня комбинированная, переносной мультимедийный комплекс, переносной ноутбук, учебная мебель
5-316	мультимедийный комплекс, переносной ноутбук, учебная мебель

#### **8. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

См. ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

**5. ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ****5.1. Оценочные материалы для проведения текущей аттестации****Тестовые задания для подготовки к коллоквиуму по теме «Метаболизм прокариот»**

Большинство цианобактерий относят к а)

- а) хемолитоавтотрофам;
- б) хемоорганогетеротрофам;
- в) фотолитоавтотрофам;
- г) фотоорганавтотрофам.

Фотосинтезирующие прокариоты используют а)

- а) только видимую часть спектра;
- б) ультрафиолетовую и видимую;
- в) ультрафиолетовую и инфракрасную; г) видимую и инфракрасную.

3. Набор пигментов у фототрофных эубактерий

- а) постоянен для определенных систематических групп; б) одинаков у всех систематических групп;
- в) варьирует в пределах одной и той же систематической группы; г) различен даже в пределах одного вида.

4. Фотосинтетические пигменты с химической точки зрения относят к

В клетке фототрофов-прокариот обнаружены а)

- а) хлорофиллы и бактериохлорофиллы;
- б) только бактериохлорофиллы;
- в) только хлорофиллы;
- г) у одних хлорофиллы, у других бактериохлорофиллы.

Максимум поглощения в самой длинноволновой части спектра имеет а)

- а) хлорофилл а;
- б) хлорофилл b;
- в) бактериохлорофилл а;
- г) бактериохлорофилл b.

Фикобилипротеины найдены у а)

- а) цианобактерий;
- б) прохлорофитов; в) зеленых бактерий;
- г) пурпурных бактерий.

8. Каротиноиды у прокариот выполняют следующие функции:

- а) являются вспомогательными фотосинтетическими пигментами, участвуют в реакциях фототаксиса, защищают от токсических эффектов синглетного кислорода;
- б) придают оранжевую окраску клеткам, являются вспомогательными фотосинтетическими пигментами, защищают от токсических эффектов синглетного кислорода;

- в) придают оранжевую окраску клеткам, участвуют в реакциях фототаксиса, защищают от токсических эффектов синглетного кислорода;
- г) являются вспомогательными фотосинтетическими пигментами, участвуют в реакциях фототаксиса, придают оранжевую окраску клеткам.

9. Спектр поглощения у фотосинтетических прокариот сдвинут в а)

- красную область;
- б) синюю область; в)
- зеленую область; г)
- желтую область.

10. Фотосинтетический аппарат у прокариот состоит из следующих функциональных компонентов

- а) светособирающих пигментов, фотохимических реакционных центров, фотосинтетических электронтранспортных систем; б) мембран, светособирающих пигментов, электронтранспортных систем;
- в) светособирающих пигментов и реакционных центров; г)
- мембран, хлорофиллов, каротиноидов.

11. Отметьте верные характеристики для группы гелиобактерий

- а) строгие анаэробы;
- б) содержат только бактериохлорофилл g; в)
- аноксигенный фотосинтез;
- г) грамположительная клеточная стенка; д)
- фотолитоавтотрофы;
- е) способны к азотфиксации.

12. Отметьте верные характеристики для цианобактерий

- а) только оксигенный фотосинтез;
- б) могут размножаться почкованием;
- в) сложная морфологическая дифференцировка; г)
- грамположительная клеточная стенка;
- д) имеют разорванный ЦТК; е)
- облигатные аэробы;
- ж) способны к азотфиксации.

13. Отметьте верные характеристики для прохлорофитов

- а) аноксигенный фотосинтез;
- б) отсутствие хлорофилла b; в)
- одноклеточные;
- г) грамположительная клеточная стенка; д)
- микроаэрофилы;
- е) способны к азотфиксации.

14. Отметьте верные характеристики для пурпурных бактерий

- а) грамотрицательная клеточная стенка;
- б) одноклеточные;
- в) могут размножаться почкованием; г)
- аноксигенный фотосинтез
- д) облигатные фотолитоавтотрофы;

е) аэробы;

ж) способны к азотфиксации.

15. Основным механизмом автотрофной фиксации углекислоты у прокариот являются

- а) незамкнутый ацетил-КоА путь;
- б) восстановительный ЦТК (цикл Арнона);
- в) восстановительный пентозофосфатный путь (цикл Кальвина);
- г) цикл Кальвина, но при условии, что углекислота – единственный источник углерода.

16. Аноксигенный фотосинтез осуществляют

- а) пурпурные, зеленые и гелиобактерии;
- б) пурпурные, цианобактерии и прохлорофиты; в) зеленые, гелиобактерии и цианобактерии;
- г) пурпурные, зеленые и прохлорофиты.

17. К группе несерных пурпурных бактерий относят

- а) *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*;
- б) *Thiospirillum*, *Thiocystis*;
- в) *Ectothiorhodospira*, *Chromatium*; г) *Rhodobacter*, *Thiocapsa*.

18. Нециклический путь переноса электронов является единственным для

- а) пурпурных и зеленых нитчатых;
- б) зеленых серобактерий и гелиобактерий; в) цианобактерий и прохлорофит;
- г) пурпурных и цианобактерий.

19. В качестве конечного продукта фотосинтетического процесса восстановитель образуется в реакциях

- а) циклического электронного транспорта;
- б) нециклического электронного транспорта;
- в) и циклического, и нециклического транспорта; г) у разных по-разному.

20. Экзогенными донорами электронов при нециклическом электронном транспорте являются

- а) сульфиды, тиосульфаты, органические соединения;
- б) соединения серы и органические вещества; в) органические соединения;
- г) сульфиды, тиосульфаты.

21. Две фотосистемы (I и II) функционируют у

- а) цианобактерий и прохлорофитов;
- б) пурпурных бактерий и цианобактерий; в) пурпурных и зеленых бактерий;
- г) гелиобактерий и прохлорофитов.

22. У прокариот в конструктивном метаболизме углекислота выполняет следующие основные функции: \_\_\_\_\_



**Темы рефератов**

1. Научная деятельность отечественных микробиологов: Н.Ф. Гамалеи, Л.А. Зильбера, З.В. Ермолевой, В.Н. Шапошникова.
2. Красители, применяемые в практике микроскопических исследований.
3. Электронный микроскоп, его применение в микробиологии.
4. Подготовка биологических образцов для электронной микроскопии.
5. Методы определения числа бактерий и бактериальной массы.
6. Определение кинетических параметров роста культур микроорганизмов.
7. Накопительные, чистые, смешанные культуры микроорганизмов.
8. Условия культивирования микроорганизмов.
9. Характеристика микроорганизмов, используемых в бродильном производстве
10. Использование микроорганизмов при производстве хлебопродуктов. Производство пива и вин.
11. Характеристика аноксигенных фототрофных бактерий. Эритробактерии и гелиобактерии.
12. Целлюлозоразрушающие бактерии.
13. Характеристика прокариот, осуществляющих анаэробное дыхание.
14. Синтез вторичных метаболитов.
15. Антибиотики.
16. Диссоциация бактерий.
17. Идентификация некультивируемых микроорганизмов.
18. Семейство *Acetobacteriaceae*.
19. Семейство *Legionellaceae*.
20. Семейство *Neisseriaceae*.
21. Экстремально галофильные археи.
22. Метаногены.
23. Экстремальные термофилы.
29. Влияние излучений на микроорганизмы.
30. Влияние гидростатического давления на микроорганизмы.
31. Взаимосвязь микроорганизмов с позвоночными животными.
32. Азотфиксирующие бактериальные препараты.
33. Энтмопатогенные микроорганизмы и их использование для защиты растений от вредных насекомых
34. Использование микроорганизмов в процессах биоремедиации.
35. Использование микроорганизмов в биогидрометаллургии.

Типовые контрольные задания и способ проведения текущей аттестации

Критерии оценивания и шкала оценивания

Темы рефератов:

1. Научная деятельность отечественных микробиологов: Н.Ф. Гамалеи, Л.А. Зильбера, З.В. Ермолевой, В.Н. Шапошникова.
2. Красители, применяемые в практике микроскопических исследований.
3. Электронный микроскоп, его применение в микробиологии.
4. Подготовка биологических образцов для электронной микроскопии.
5. Методы определения числа бактерий и бактериальной массы.

Критерии оценивания реферата: Изложенное понимание реферата как целостного авторского текста определяет критерии его оценки: новизна текста; обоснованность выбора источника; степень раскрытия сущности вопроса; соблюдения требований к оформлению. Новизна текста: а) актуальность темы исследования; б) новизна и самостоятельность в постановке проблемы, формулирование нового аспекта известной проблемы в установлении новых связей (межпредметных, внутрипредметных, интеграционных); в) умение

<p>6. Определение кинетических параметров роста культур микроорганизмов.</p>	<p>работать с исследованиями, критической литературой, систематизировать и структурировать материал; г) явленность авторской позиции, самостоятельность оценок и суждений; д) стилевое единство текста, единство жанровых черт. Степень раскрытия сущности вопроса: а) соответствие плана теме реферата; б) соответствие содержания теме и плану реферата; в) полнота и глубина знаний по теме; г) обоснованность способов и методов работы с материалом; е) умение обобщать, делать выводы, сопоставлять различные точки зрения по одному вопросу (проблеме).</p> <p>Обоснованность выбора источников: а) оценка использованной литературы: привлечены ли наиболее известные работы по теме исследования (в т.ч. журнальные публикации последних лет, последние статистические данные, сводки, справки и т.д.). Соблюдение требований к оформлению: а) насколько верно оформлены ссылки на используемую литературу, список литературы; б) оценка грамотности и культуры изложения (в т.ч. орфографической, пунктуационной, стилистической культуры), владение терминологией; в) соблюдение требований к объёму реферата. «Отлично» ставится, если выполнены все требования к написанию и защите реферата: обозначена проблема и обоснована её актуальность, сделан краткий анализ различных точек зрения на рассматриваемую проблему и логично изложена собственная позиция, сформулированы выводы, тема раскрыта полностью, выдержан объём, соблюдены требования к внешнему оформлению, даны правильные ответы на дополнительные вопросы. «Хорошо» – основные требования к реферату и его защите выполнены, но при этом допущены недочёты. В частности, имеются неточности в изложении материала; отсутствует логическая последовательность в суждениях; не выдержан объём реферата; имеются упущения в оформлении; на дополнительные вопросы при защите даны неполные ответы.</p> <p>«Удовлетворительно» – имеются существенные отступления от требований к реферированию. В частности: тема освещена лишь частично; допущены фактические ошибки в содержании реферата или при ответе на дополнительные вопросы; во время защиты отсутствует вывод. «Неудовлетворительно» – тема реферата не раскрыта, обнаруживается существенное непонимание проблемы или реферат не представлен.</p>
<p>Тесты:</p> <p>1. Клинически значимые виды микроорганизмов в основном: а) анаэробы б) метатрофы в) ауксотрофы г) фототрофы</p> <p>2. Ферменты, постоянно синтезирующиеся в микробных клетках, называют: а) протеолитические</p>	<p>Правильно выбран вариант ответа – 1 балл Тест из 30 заданий, 20 баллов – «удовлетворительно» 25 баллов – «хорошо» 30 баллов – «отлично»</p>

<p>б) сахаролитические в) индуцибельные г) конститутивные д) все вышеназванные 3. Клинически значимые виды микроорганизмов в основном: а) психрофилы б) мезофилы в) термофилы г) анаэробы д) аэробы 4. Ферменты, синтез которых зависит от наличия субстрата, называют: а) индуцибельные б) конститутивные в) экзоферменты г) эндоферменты д) субстратные</p>	
<p>Задания для самостоятельной работы: Задание 1. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы: 1. Использование микроорганизмов в биогидрометаллургии. 2. Применение микроорганизмов в процессах биоремедиации. 3. Микробная утилизация ТБО и других отходов. Получение биотоплива. 4. Землеудобрительные препараты (азотфиксирующие бактериальные препараты, фосфоробактерин и др.). 5. Микробиологические препараты для борьбы с болезнями и вредителями сельскохозяйственных растений.</p>	<p>Тема раскрыта с опорой на соответствующие понятия и теоретические положения, факты и примеры в полном объеме обосновывают выводы – отлично Аргументация на теоретическом уровне неполная, смысл ряда ключевых понятий не объяснен, допущена фактическая ошибка, не приведшая к существенному искажению смысла – хорошо Терминологический аппарат непосредственно не связан с раскрываемой темой, допущены фактические и логические ошибки, свидетельствующие о непонимании темы – удовлетворительно Работа не выполнена – неудовлетворительно</p>
<p><b>5.2. Оценочные материалы для проведения промежуточной аттестации</b></p>	
<p><b>Вопросы для подготовки к экзамену:</b> 1. Открытие микроорганизмов А. Левенгуком. Морфологический период развития микробиологии. Физиологический период развития микробиологии. Научная деятельность Л. Пастера. Исследования Р. Коха в области медицинской микробиологии. Научные исследования отечественных микробиологов. Современный период развития микробиологии. 2. Предмет и задачи микробиологии. Основные направления развития современной микробиологии. 3. Прокариотные и эукариотные микроорганизмы, основные различия. Отличительные особенности архей. 4. Морфология прокариот. Строение, химический состав и функции компонентов прокариотной клетки. Цитоплазма. Рибосомы. Внутрицитоплазматические включения. Внутрицитоплазматические мембраны. 6. Генетический аппарат прокариот. Нуклеоид. Плазмиды. Мигрирующие генетические элементы (транспозоны, IS-элементы). 7. Цитоплазматическая мембрана прокариот, химический состав, структура, функции. Механизмы мембранного транспорта.</p>	

8. Клеточная стенка прокариот. Химический состав и структура клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Клеточные стенки архебактерий. Прокариоты без клеточных стенок. Образование L-форм, сфероидов, протопластов. Функции клеточной стенки прокариот.
9. Капсулы, слизистые слои и чехлы. Химический состав, структура, функции.
10. Жгутиковый аппарат бактерий. Строение, химический состав, расположение жгутиков. Механизм движения. Микроворсинки: обыкновенные пили, F-пили. Химический состав, строение, функции.
11. Основные типы движения прокариот. Таксисы у прокариот.
12. Морфологически дифференцированные клетки прокариот. Эндоспоры, цисты, акинеты, экзоспоры, L-формы. Гормогонии, бaeоцисты, гетероцисты, бактериоды.
13. Размножение бактерий. Способы размножения. Фазы амитоза.
14. Рост клеток и рост популяции бактерий. Экспоненциальный рост и время генерации. Рост бактерий в периодической культуре. Кривая роста периодической культуры. Фазы роста. Параметры кривой роста. Скорость экспоненциального роста.
15. Непрерывное культивирование. Рост бактерий в хемостате. Зависимость скорости роста от концентрации субстрата. Кривая насыщения. Уравнение Моно.
16. Отношение прокариот к O<sub>2</sub>. Токсические эффекты молекулярного кислорода и его производных и механизмы их детоксикации.
17. Влияние температуры на жизнедеятельность микроорганизмов. Температурный диапазон. Психрофилы, мезофилы, термофилы и их распространение в природе. Механизмы психро- и термофилии. Использование высоких температур для инактивации микроорганизмов. Использование низких температур для хранения микроорганизмов.
18. Влияние pH среды на жизнедеятельность микроорганизмов. Ацидофилы, нейтрофилы, алкалофилы, их распространение в природе. Механизмы pH-гомеостаза.
19. Влияние излучений на микроорганизмы. Видимый свет. Фотосинтетически активная радиация. Влияние инфракрасного, ультрафиолетового, ионизирующего излучения на микроорганизмы. Механизмы радиостойчивости. Действие ультразвука на микробные клетки.
20. Влияние гидростатического давления на микроорганизмы. Облигатные барофилы и баротолерантные бактерии. Механизмы устойчивости к высокому давлению.
21. Водная активность и микроорганизмы.
22. Химический состав прокариотной клетки. Источники биогенных элементов. Пищевые потребности прокариот. Источники углерода. Автотрофы и гетеротрофы. Сапрофиты и паразиты. Олиготрофы и копиотрофы. Источники азота, серы, фосфора. Необходимость ионов металлов. Потребности в факторах роста. Ауксотрофы и прототрофы.
23. Типы энергетического и конструктивного метаболизма прокариот. Фототрофия и хемотрофия. Литотрофия и органотрофия. Автотрофия и гетеротрофия. Способы существования прокариот (8 типов). Облигатный и факультативный тип метаболизма.
24. Принцип приготовления питательных сред. Типы сред, используемые для культивирования микроорганизмов. Условия культивирования микроорганизмов. Культивирование мезофильных, термофильных, психрофильных, аэробных, анаэробных, фотосинтезирующих микроорганизмов. Поверхностное и глубинное выращивание.
25. Общая характеристика брожений. Сбраживаемые и несбраживаемые соединения.
26. Гомоферментативное молочнокислое брожение. Биохимия процесса. Характеристика гомоферментативных молочнокислых бактерий, распространение и роль в природе, использование в пищевой промышленности.
27. Спиртовое брожение. Образование этанола дрожжами. Отношение дрожжей к O<sub>2</sub>. «Эффект Пастера». Характеристика дрожжей, промышленное использование. Образование этанола бактериями.
28. Маслянокислое брожение. Характеристика бактерий р. *Clostridium*. Сахаролитические, протеолитические, пуринолитические клостридии. Распространение и значение клостридий в природе. Практическое использование.
29. Гетероферментативное молочнокислое брожение. Характеристика гетероферментативных молочнокислых бактерий, распространение и роль в природе, использование в пищевой промышленности.
30. Бактериальный фотосинтез. Оксигенные и аноксигенные фототрофные бактерии. Пигменты аноксигенных фототрофных бактерий. Механизм аноксигенного фотосинтеза. Фотосинтетический аппарат. Циклический и нециклический пути передачи электронов. Характеристика аноксигенных фототрофных бактерий (пурпурные, зеленые бактерии). Их распространение и роль в природе. Использование световой энергии галобактериями.

31. Аэробное дыхание. Дыхательные цепи прокариот, их организация и функционирование. Группы аэробных хемоорганотрофных бактерий (метанотрофы и метилотрофы, уксуснокислые, аммонифицирующие и целлюлозоразрушающие бактерии).
32. Хемосинтез. Дыхательные цепи хемолитотрофных прокариот. Группы хемолитотрофных прокариот (нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии, железобактерии, карбоксидобактерии).
33. Анаэробное дыхание. Нитратное, сульфатное, серное, карбонатное, «железное» дыхание. Характеристика прокариот, осуществляющих анаэробное дыхание.
34. Пути усвоения углекислоты фотосинтезирующими эубактериями (цикл Арнона, цикл Кальвина). Ассимиляция углекислоты гетеротрофными прокариотами. Рибулозомонофосфатный и сериновый циклы ассимиляции формальдегида у метилотрофных бактерий. Использование C2-субстратов и других органических соединений.
35. Усвоение соединений азота. Ассимиляционная нитратредукция. Фиксация молекулярного азота. Свободноживущие и симбиотические азотфиксаторы.
36. Ассимиляционная сульфатредукция.
37. Синтез основных биополимеров: нуклеиновых кислот, белков, липидов, углеводов, других важнейших соединений микробной клетки.
38. Антибиотики, синтез, классификация по происхождению, химической структуре, механизмам действия.
39. Регуляция метаболизма у прокариот.
40. Положение прокариот среди других организмов. Трехдоменная система живых организмов К. Вёзе: домен *Bacteria*, домен *Archaea*, домен *Eucarya*. Две основные эволюционные линии прокариот: домен *Archaea* и домен *Bacteria*.
41. Систематика прокариот. Разделы систематики прокариот. Номенклатура. Международный кодекс номенклатуры бактерий. Таксономические категории. Понятия «штамм», «клон», «культура», «вариант». Концепция вида у бактерий. Филогенетическая и искусственная классификация прокариот.
42. Определители бактерий. Принципы систематизации прокариот в определителе бактерий Берджи (1991). Сочетание генотипического и фенотипического подходов к классификации прокариот в Руководстве Берджи по систематической бактериологии (*Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*), 2001–2007 гг.
43. Идентификация бактерий. Морфологические, тинкториальные, культуральные, физиолого-биохимические, серологические признаки. Систематика бактерий на основе генетического родства. 16S р-РНК – система идентификации. Использование хемотаксономических признаков для идентификации. Идентификация некультивируемых микроорганизмов.
44. Домен *Archaea*. Филум AI. *Crenarchaeota*.
45. Филум AII. *Euryarchaeota*. Классы *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Methanopyri*, *Methanomicrobia*.
46. Филум AII. *Euryarchaeota*. Класс *Halobacteria*.
47. Филум AII. Класс *Thermoplasmata*
48. Филум AII. Класс *Thermococci*. Класс *Archaeoglobi*.
49. Филум AIII. *Nanoarchaeota*. Филум AIV. *Korarchaeota*. Филу AV. *Thaumarchaeota*.
50. Домен *Bacteria*. Филум B1. *Aquificae*. Филум B2. *Thermotoga*. Филум B3. *Thermodesulfobacteria*.
51. Филум B4. *Deinococcus – Thermus*. Филум B5. Филум *Chrysiogenetes*.
52. Филум B6. *Chloroflexi*.
53. Филум B7. *Thermomicrobia*.
54. Филум B8. *Nitrospirae*.
55. Филум B9. *Deferribacteres*.
56. Филум B10. *Cyanobacteria*.
57. Филум B11. *Chlorobi*.
58. Филум B12. *Proteobacteria*.
59. Филум B13. *Firmicutes*.
60. Филум B14. *Actinobacteria*.
61. Филум B15. *Planctomycetes*.

<p>62. Филум B16. <i>Chlamydiae</i>.  63. Филум B17. <i>Spirochaetes</i>.  64. Филум B18. <i>Fibrobacteres</i>. Филум B19. <i>Acidobacteria</i>.  65. Филум B20. <i>Bacteroidetes</i>. Филум B21. <i>Fusobacteria</i>.  66. Филум B22. <i>Verrucomicrobia</i>. Филум B23. <i>Dictyoglomi</i>.  Генотип и фенотип. Наследственная и ненаследственная изменчивость. Мутационная природа изменчивости. Частота и типы мутаций. Спонтанный и индуцированный мутагенезы. Применение мутантов микроорганизмов в научных исследованиях и в практических целях.  79. Рекомбинации генетического материала у прокариот. Трансформация, трансдукция, конъюгация.  80. Ненаследуемые изменения свойств бактерий. Морфологические и биохимические модификации. Диссоциация микроорганизмов.  81. Участие микроорганизмов в круговороте углерода, азота, серы.  Взаимоотношения микроорганизмов между собой и с другими организмами. Симбиозы, мутуализм, комменсализм, метабиоз, паразитизм и др. Типы взаимоотношений микроорганизмов с растениями и животными. Нормальная микрофлора человека и ее роль. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы. Микроскопические методы изучения микроорганизмов. Световой микроскоп. Устройство, принцип работы. Увеличение, разрешающая способность. Фазово-контрастная и люминесцентная микроскопия. Электронная микроскопия. Просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия. Подготовка образцов для электронной микроскопии. Ультратонкие срезы. Методы электронной микроскопии, основанные на получении механических реплик: «замораживание – скалывание» и «замораживание – травление».  84. Чистые и смешанные культуры микроорганизмов. Накопительные культуры. Принцип селективности. Методы получения чистых культур. Методы определения числа бактерий и бактериальной массы. Прямые и косвенные методы количественного учета микроорганизмов. Определение биомассы взвешиванием. Определение количества клеток и биомассы нефелометрическим методом.  86. Понятия «стерилизация», «дезинфекция». Методы стерилизации, используемые в микробиологической практике. Использование микроорганизмов в биотехнологии, биогидрометаллургии, биоремедиации. Бактериальные биоpestициды, биоудобрения, микробная утилизация ТБО и других отходов. Использование микроорганизмов в здравоохранении.  88. Методы и принципы проведения санитарно-микробиологических исследований объектов внешней среды. Группы СПМ.</p>		
Планируемый образовательный результат (компетенция, индикатор)	Типовые контрольные задания и способ проведения промежуточной аттестации (2–3 примера заданий)	Критерии оценивания и шкала оценивания
ОПК-1.1: Применяет знание теоретических основ микробиологии, вирусологии, ботаники и зоологии для изучения жизни и свойств живых объектов, их идентификации и культивирования ОПК-1.2: Применяет знание биологического разнообразия и его роли как ведущего фактора устойчивости живых систем и биосферы для анализа взаимодействий организмов различных видов друг с другом и со средой обитания	Тесты: 1. Стафилококки – морфологическая форма бактерий, при которой а) деление клеток происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием пакетов (тупков) из 8 и большего числа особей б) деление клеток происходит в двух взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием тетрад в) деление клеток происходит в нескольких плоскостях с образованием объемных неправильной формы скоплений г) деление клеток происходит в одной плоскости с образованием цепочек различной длины	Правильно выбран вариант ответа – 1 балл Тест из 30 заданий, 0-19 баллов – «неудовлетворительно» 20-24 балла – «удовлетворительно» 25-29 баллов – «хорошо» 30 баллов – «отлично»

	<p>2. Включениями бактериальной клетки принято называть</p> <p>а) запасные питательные вещества, хлоросомы, карбоксисомы</p> <p>б) продукты клеточного метаболизма, мембранные структуры со специфическими функциями</p> <p>в) хлоросомы, газовые вакуоли, цианофициновые зерна</p> <p>г) отложения серы, гранулезы, липидные и полифосфатные гранулы</p> <p>3. К покоящимся формам морфологически дифференцированных клеток прокариот относят</p> <p>а) эндоспоры, экзоспоры, цисты, гормогонии,</p> <p>б) эндоспоры, экзоспоры, гетероцисты, бактериоды</p> <p>в) эндоспоры, экзоспоры, цисты, акинеты г) эндоспоры, акинеты, цисты, гетероцисты</p>	
	<p>Подготовьте реферативное сообщение, презентацию и доклад по одной из следующих тем:</p> <p>1. Определение кинетических параметров роста культур микроорганизмов.</p> <p>2. Накопительные, чистые, смешанные культуры микроорганизмов.</p> <p>3. Условия культивирования микроорганизмов.</p> <p>4. Характеристика микроорганизмов, используемых в бродильном производстве</p> <p>5. Использование микроорганизмов при производстве хлебопродуктов. Производство пива и вин.</p>	<p>Оригинальность текста составляет свыше 75% - 3 балла</p> <p>Оригинальность текста составляет 50-74 % - 2 балла</p> <p>Оригинальность текста составляет 25-49 % - 1 балл</p> <p>Оригинальность текста составляет менее 25% - 0 баллов</p> <p>Выполнен адекватный отбор источников и литературы по теме, привлечены ли наиболее известные работы по теме исследования (в т.ч. публикации последних лет, зарубежная литература) – 2 балла</p> <p>Реферат опирается на учебную литературу и/ или устаревшие издания – 1 балл</p> <p>Отражение в плане ключевых аспектов темы – 2 балла;</p> <p>Фрагментарное отражение ключевых аспектов темы – 1 балл;</p> <p>Полное соответствие содержания теме и плану реферата – 2 балла;</p>

		<p>Частичное соответствие содержания теме и плану реферата – 1 балла;  Все представленные выводы обоснованы – 2 балла;  Аргументирована только часть выводов – 1 балл.  Верно оформлены ссылки на используемую литературу – 1 балл  Сопоставление различных точек зрения по одному вопросу (проблеме) – 1 балла;  Соблюдены правила орфографической, пунктуационной, стилистической культуры – 1 балл;  Соблюдены требования к объёму реферата – 1 балл.  15 баллов – отлично 10-14 баллов – хорошо  5-9 баллов – удовлетворительно 0-4 балла - неудовлетворительно</p>
<p>ОПК-1.3: Применяет методы наблюдения, идентификации, классификации, воспроизводства и культивирования живых объектов в природных и лабораторных условиях  ОПК-8.1: Выполняет сбор, обработку и систематизацию полевой и лабораторной информации для осуществления профессиональной деятельности, анализирует полученные результаты  ОПК-8.2: Работает с основными типами современного экспедиционного и лабораторного оборудования для осуществления профессиональной деятельности</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Приготовить среды для получения накопительных культур аэробных и анаэробных свободноживущих азотфиксирующих бактерий.</li> <li>2. Получить накопительную культуру картофельной палочки.</li> <li>3. Просмотреть посевы, сделанные на прошлом занятии. Обратит внимание на характер роста культуры на скошенном и прямом МПА и в чашке Петри.</li> <li>4. Из полученных культур приготовить препараты, промикроскопировать и зарисовать</li> </ol>	<p>Среда приготовлена верно, культура получена качественная, препараты сделаны качественно, рисунки сделаны верно – отлично  Среда приготовлена не совсем верно, культура получена не совсем качественная, препараты сделаны не совсем качественно, рисунки сделаны не совсем верно – хорошо  Среда приготовлена с ошибками, культура низкокачественная, препараты сделаны некачественно, рисунки сделаны с ошибками - удовлетворительно  Среда не приготовлена, культура не получена, препараты не сделаны, рисунки не сделаны – неудовлетворительно</p>



**8. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)**

**Содержание дисциплины**

**Раздел 1. Микробиология, ее объекты и методы**

Тема 1. Предмет, задачи микробиологии. История возникновения и развитие микробиологии. Основные направления современной микробиологии

Предмет, задачи микробиологии, ее место в современной биологии. Мир микроорганизмов, их важнейшие свойства, общие признаки и разнообразие. Многообразие способов существования микроорганизмов. Роль микроорганизмов в биосфере, их участие в гетеротрофном процессе разложения и в биогеохимических циклах, в регуляции газового состава атмосферы, в самоочищении водоемов, в очистке окружающей среды от токсичных веществ, в поддержании плодородия почвы, в образовании полезных ископаемых.

История возникновения и развития микробиологии. Открытие микроорганизмов А. ван Левенгуком. Научная деятельность Л. Пастера. Значение работ Р. Коха для развития медицинской микробиологии. Развитие отечественной микробиологии. Научные исследования Л.С. Ценковского, И.И. Мечникова, С.Н.

Виноградского, Д.И. Ивановского, Н.Ф. Гамалеи, П.В Циклинской, Л.А. Зильбера, Г.А. Надсона, В.Л. Омелянского, Б.Л. Исаченко, В.Н. Шапошникова, З.В. Ермольевой, Е.В. Талаласава и др. Современный этап развития микробиологии. Значение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических исследований в развитии микробиологии и вирусологии. Перспективы развития микробиологии и вирусологии. Основные направления современной микробиологии. Медицинская, санитарная, ветеринарная, промышленная, почвенная, водная, космическая микробиология, геомикробиология.

Генетика микроорганизмов, экология микроорганизмов, молекулярная экология.

Тема 2. Микроскопические методы исследования микроорганизмов

Микроскопические методы изучения микроорганизмов. Световой микроскоп и его разновидности: темнопольная, фазово-контрастная и люминесцентная микроскопия. Исследования живых и фиксированных объектов. Простые и дифференциальные методы окраски бактерий. Электронный микроскоп и его применение в микробиологии. Просвечивающий (трансмиссионный) и сканирующий микроскопы.

Подготовка биологических образцов для электронной микроскопии. Ультратонкие срезы. Методы электронной микроскопии, основанные на получении механических реплик: «замораживание – скальвание» и «замораживание – травление».

**Раздел 2. Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот**

Тема 3. Морфологическое разнообразие прокариот. Структура, химический состав и функции компонентов прокариотной клетки. Морфологически дифференцированные клетки прокариот

Сходство и различие в организации клеток эукариот и прокариот. Отличительные особенности архей.

Размеры прокариот. Разнообразие форм клеток прокариот. Клеточные ассоциации прокариот.

Спорообразующие и неспорообразующие бактерии. Типы спорообразования. Типы жгутикования. Строение, химический состав и функции компонентов клетки.

*Поверхностные клеточные структуры.* Клеточная стенка прокариот. Грамположительные, грамотрицательные и кислотоустойчивые бактерии. Строение, химический состав, функции клеточных стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий. Клеточные стенки архей: псевдомуреиновые, белковые, гетерополисахаридные, гликопротеиновые. Прокариоты без клеточных стенок. Образование L-форм, сфероидов, протопластов.

Капсулы, слизистые слои и чехлы. Химический состав структура и функции. Микроворсинки. Пили (фимбрии). F-пили. Клеточные выросты: простеки, гифы, шипы.

*Подвижность бактериальных клеток.* Жгутики прокариот. Особенности строения базального тела у грамположительных и грамотрицательных бактерий. Механизм движения прокариот, имеющих жгутики.

Движение в жидких средах (плавание), движение по типу роения. Движение спирохет. Подтягивающий тип движения. Движение по типу скольжения. Движение, основанное на актине. Таксисы.

Антигенные свойства поверхностных структур прокариот.

*Цитоплазматические клеточные структуры.* Коллоидная фаза цитоплазмы и структурные элементы.

Генетический аппарат прокариот. Нуклеоид (бактериальная хромосома). Внехромосомные молекулы ДНК.

Плазмиды. Регуляторные и кодирующие функции плазмид. Мигрирующие генетические элементы.

Инсерционные последовательности (IS-элементы). Транспозоны (Tn-элементы).

Рибосомы прокариот: состав, строение, функции. Различия рибосом эукариот и прокариот.

Внутрицитоплазматические включения. Запасные вещества: полисахариды (гликоген, крахмал, гранулеза), липиды (гранулы поли- оксимасляной кислоты), полипептиды (цианофициновые гранулы цианобактерий), полифосфаты (волутиновые зерна), элементарная сера. Структуры (включения), имеющие функциональное и приспособительное значение: карбоксисомы, аэросомы, магнетосомы, хлоросомы

зеленых бактерий, фикобилисомы цианобактерий. Параспоральные включения *Bacillus thuringiensis* – белковые токсины, обладающие избирательной специфичностью действия против насекомых отрядов *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Diptera*.

Цитоплазматическая мембрана, особенности ее состава, структуры и функций у прокариот. Особенности мембран архей. Понятие о полифункциональности мембран. Особенности транспорта веществ у прокариот и механизмы, обеспечивающие обмен веществ с окружающей средой. Локализация дыхательных и фотосинтетических цепей транспорта электронов.

Внутрицитоплазматические мембраны прокариот. Фотосинтетические мембраны (везикулы, ламеллы, тилакоиды). Внутрицитоплазматические мембраны хемотрофных бактерий.

Деление клетки и способы размножения бактерий. Бинарное деление. Фазы амитоза. Репликация бактериальной ДНК, сегрегация нуклеоида. Цитокинез и фаза расхождения дочерних клеток. Почкование бактерий, как вариант бинарного деления. Множественное деление. Клеточные циклы прокариот (бацилл, простекобактерий, миксобактерий).

Морфологически дифференцированные клетки прокариот. Покоящиеся формы. Цисты, акинеты цианобактерий, экзоспоры бактерий, экзо- и эндоспоры актиномицетов, эндоспоры грамположительных бактерий. Закономерности формирования эндоспор, строение, химический состав. Устойчивость спор к экстремальным воздействиям, продолжительность жизни спор. Образование специализированных клеток (гетероцисты цианобактерий, бактериоиды клубеньковых бактерий), служащих для фиксации молекулярного азота. Морфологически дифференцированные клетки, служащие для размножения (гормогонии и бациллы цианобактерий).

### **Раздел 3. Рост и культивирование микроорганизмов**

Тема 4. Рост бактерий в периодической и непрерывной культуре

Рост клеток и рост популяций. Сбалансированный и несбалансированный рост. Экспоненциальный рост и время генерации. Рост бактерий в периодической культуре. Кривая роста периодической культуры. Фазы роста. Параметры кривой роста: удельная скорость роста, выход биомассы. Методы определения числа бактерий и бактериальной массы. Прямые и косвенные методы количественного учета микроорганизмов. Определение биомассы взвешиванием. Определение количества клеток и биомассы нефелометрическим методом.

Рост бактерий в непрерывной культуре. Рост в хемостате. Зависимость скорости роста от концентрации субстрата. Кривая насыщения. Уравнение Моно. Значение метода непрерывного культивирования для изучения свойств микроорганизмов и использование его в промышленности

Тема 5. Культивирование микроорганизмов

Выделение и культивирование микроорганизмов. Элективные методы культивирования. Накопительные, чистые, смешанные культуры микроорганизмов. Методы получения чистых культур и их значение.

Основные типы сред, используемые для культивирования микроорганизмов. Условия культивирования микроорганизмов. Культивирование мезофильных, термофильных, психрофильных, аэробных, анаэробных, фотосинтезирующих микроорганизмов. Поверхностное и глубинное выращивание.

Подавление роста и гибель микроорганизмов под действием различных агентов. Методы стерилизации.

### **Раздел 4. Метаболизм прокариот**

Тема 6. Общая характеристика конструктивного и энергетического метаболизма прокариот. Способы существования и типы жизни у прокариот

Определение понятий энергетический метаболизм и конструктивный метаболизм. Потребности прокариот в питательных элементах и микроэлементах. Источники углерода для конструктивного метаболизма.

Автотрофы и гетеротрофы; сапрофиты и паразиты; копиотрофы и олиготрофы. Источники азота, серы, фосфора. Необходимость ионов металлов. Потребность в факторах роста. Прототрофы и ауксотрофы.

Энергетические ресурсы, используемые прокариотами. Фототрофы и хемотрофы; литотрофы и органотрофы.

Сочетания основных видов энергетического и конструктивного метаболизма, определяющие способ существования прокариот: хемолитоавтотрофия, хемолитогетеротрофия, хемоорганавтотрофия, хемоорганогетеротрофия, фотолитоавтотрофия, фотолитогетеротрофия, фотоорганавтотрофия, фотоорганогетеротрофия. Понятие о миксотрофии.

Тема 7. Пути получения энергии, основанные на субстратном фосфорилировании

Определения понятия «брожение». Общая характеристика процессов брожения. Сбраживаемые и несбраживаемые субстраты. Пути сбраживания углеводов: гликолитический путь (путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса), окислительный пентозофосфатный (путь Варбурга-Диккенса-Хореккера), 2-кето-3-дезоксигликолатный (путь Энтнера-Дудорова).

Молочнокислое гомо- и гетероферментативное брожение. Спиртовое, маслянокислое и другие виды брожений.

Двухфазность брожений, ее причины. Характеристика микроорганизмов, вызывающих брожения; их распространение в природе и практическое значение.

Тема 8. Пути получения энергии, основанные на фотофосфорилировании

Оксигенные и аноксигенные фототрофные бактерии. Бактериальный фотосинтез. Пигменты аноксигенных фототрофных бактерий. Фотосинтетический аппарат: состав, организация. Механизм аноксигенного фотосинтеза. Циклический и нециклический пути передачи электронов. Характеристика аноксигенных

фототрофных бактерий, их распространение и роль в природе. Использование световой энергии галобактериями.

Тема 9. Пути получения энергии, основанные на окислительном фосфорилировании

*Аэробное дыхание.* Формы участия молекулярного кислорода в окислении разных субстратов. Полное и неполное окисление субстрата. Роль цикла трикарбоновых кислот. Дыхательные цепи прокариот.

Компоненты дыхательной цепи. Механизм окислительного фосфорилирования. Характеристика важнейших зубактерий, осуществляющих аэробное окисление белков, углеводов, углеводородов и других многоуглеродных веществ (аммонифицирующие, углеводородокисляющие, целлюлозоразрушающие бактерии).

*Анаэробное дыхание.* Определение понятия «анаэробное дыхание». Доноры и акцепторы электронов, используемые разными микроорганизмами при анаэробном дыхании. Анаэробные дыхательные цепи. Типы анаэробного дыхания у прокариот: нитратное, сульфатное, серное, карбонатное, фумаратное.

Прокариоты, восстанавливающие нитраты и другие соединения азота (диссимиляционная нитратредукция и денитрификация). Сульфатвосстанавливающие и серовосстанавливающие бактерии (диссимиляционная сульфатредукция). Карбонатное дыхание метаногенов и ацетогенов.

*Хемосинтез.* Окисление неорганических субстратов: восстановленных соединений серы, азота, железа, молекулярного водорода и других. Дыхательные цепи аэробных хемолитотрофных зубактерий. Основные группы хемолитотрофных зубактерий: тионовые, нитрифицирующие, водородные бактерии, железобактерии, карбоксидобактерии.

Тема 10. Биосинтетические процессы у прокариот

Пути усвоения углекислоты фотосинтезирующими зубактериями. Восстановительный цикл трикарбоновых кислот (цикл Арнона), восстановительный пентозофосфатный цикл (цикл Кальвина). Функционирование у метилотрофных бактерий рибулозомонофосфатного и серинового циклов ассимиляции формальдегида.

Ассимиляция углекислоты гетеротрофными прокариотами. Использование C2-субстратов и других органических соединений.

Усвоение соединений азота. Ассимиляционная нитратредукция. Фиксация молекулярного азота.

Свободноживущие и симбиотические азотфиксаторы. Использование соединений серы. Ассимиляционная сульфатредукция.

Синтез основных биополимеров: нуклеиновых кислот, белков, липидов, углеводов, других важнейших соединений микробной клетки.

Вторичные метаболиты. Антибиотики, синтез, классификация по происхождению, химической структуре, механизмам действия. Методы выявления антибиотиков и определение чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам.

Регуляция метаболизма. Биохимические основы и уровни регуляции метаболизма. Механизмы регуляции синтеза ферментов (индукция, репрессия). Регуляция активности ферментов. Основные механизмы регуляции: аллостерический, изостерический, ковалентная модификация и др.

## **Раздел 5. Генетика прокариот**

Тема 11. Генетика прокариот

Генетический аппарат прокариот. Генотип и фенотип. Наследственная и ненаследственная изменчивость.

Мутационная природа изменчивости. Частота и типы мутаций. Спонтанный и индуцированный мутагенезы. Применение мутантов микроорганизмов в научных исследованиях и в практических целях.

Перспективы генной инженерии. Рекомбинации генетического материала у прокариот. Трансформация, трансдукция, конъюгация. Генетические основы патогенности бактерий. Ненаследуемые изменения свойств бактерий. Морфологические и биохимические модификации. Диссоциация микроорганизмов. Раздел 6.

Разнообразие и систематика прокариот

Тема 12. Принципы систематики и идентификации прокариот

Положение прокариот среди других организмов. Трехдоменная система живых организмов К. Вёзе: домен *Bacteria*, домен *Archaea*, домен *Eucarya*. Две основные эволюционные линии прокариот: домен *Archaea* и домен *Bacteria*.

Систематика прокариот. Разделы систематики прокариот. Номенклатура. Международный кодекс номенклатуры бактерий. Таксономические категории. Концепция вида у бактерий. Филогенетическая и искусственная классификация прокариот.

Определители бактерий. Принципы систематизации прокариот в определителе бактерий Берджи (1991).

Сочетание генотипического и фенотипического подходов к классификации прокариот в Руководстве Берджи по систематической бактериологии (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology), 2001–2007 гг.

Идентификация прокариот. Основные признаки, используемые при идентификации прокариот.

Морфолого-культуральные, физиолого-биохимические, серологические, хемотаксономические, экологические признаки. Генотипические характеристики. Г+Ц состав ДНК, размер генома, ДНК-ДНК и ДНК-рРНК гомология. Определение и анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК.

Идентификация некультивируемых микроорганизмов.

## **Тема 13. Краткий систематический обзор прокариотных организмов**

Систематический обзор прокариот (культивируемые представители) в соответствии с Руководством Берджи по систематической бактериологии (Bergey's Manual of Systematic Bacteriology), 2001–2007 гг.

Домен *Archaea*. Филум AI. *Crenarchaeota*. Общая характеристика. Морфология, метаболизм, физиологические особенности. Температурный диапазон роста. Места обитания. Типичные представители кренархеот.

Филум AII. *Euryarchaeota*. Основные физиологические группы эвриархеот: метаногены, облигатные экстремальные галофилы, облигатные экстремальные термоацидофилы.

Классы *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Methanopyri*, *Methanomicrobia* – метаногенные археи. Особенности физиологии и метаболизма метаногенов. Карбонатное дыхание как основной способ получения энергии.

Биосинтез метана. Экологические ниши метаногенов. Роль в природе. Практическое значение метаногенов.

Класс *Halobacteria* – экстремально галофильные археи. Физиологические особенности. Метаболизм.

Способы получения энергии: аэробное дыхание, фотосинтез. Особенности бесхлорофильного (бактериородопсинового) фотосинтеза галобактерий. Распространение в природе.

Класс *Thermoplasmata* – археи, лишенные клеточной стенки. Особенности морфологии. Метаболизм. Типичные представители. Распространение в природе.

Класс *Thermococci* – строго анаэробные облигатные термофилы. Физиология и метаболизм. Места обитания.

Класс *Archaeoglobi* – сульфатредуцирующие экстремально термофильные археи. Метаболизм.

Температурный диапазон роста. Места обитания.

Филум AIII. *Nanoarchaeota* – наноархеоты. Филум AIV. *Korarchaeota* – корархеоты. Филу AV.

*Thaumarchaeota* – таумархеоты. Краткая характеристика. Типичные представители.

Домен *Bacteria*. Филум B1. *Aquificae*. – термофилы, представляющие древнюю ветвь бактерий.

Морфология. Температурный диапазон роста. Метаболизм.

Филум B2. *Thermotoga* – Особенности морфологии, физиологии и метаболизма.

Филум B3. *Thermodesulfobacteria*. Морфология. Физиология и метаболизм.

Филум B4. *Deinococcus* – *Thermus*. Характеристика дейнококков. Метаболизм, физиология, устойчивость к ионизирующему облучению.

Филум B5. Филум *Chrysiogenetes* - бактерии, способные использовать арсенат как конечный акцептор электронов («арсенатное дыхание»). Краткая характеристика, места обитания.

Филум B6. *Chloroflexi*. Порядок I. *Chloroflexales* – нитчатые аноксигенные фототрофные бактерии. Порядок

II. *Herpetosiphonales* – нитчатые бактерии со скользящим движением, не содержащие бактериохлорофиллов, с дыхательным метаболизмом. Краткая характеристика. Типичные представители, Распространение и роль в природе.

Филум B7. *Thermomicrobia* – облигатно аэробные гипертермофильные бактерии с хемоорганотрофным типом обмена. Краткая характеристика филума.

Филум B8. *Nitrospirae* – аэробные хемолитотрофы (нитрификаторы, железобактерии, формы с магнитотаксисом). Особенности метаболизма и физиологии. Распространение в природе, роль в круговоротах азота, железа.

Филум B9. *Deferribacteres* – анаэробные хемоорганогетеротрофные бактерии, получающие энергию в процессе анаэробного дыхания, и использующие в качестве конечного акцептора электронов Fe<sup>3+</sup>, Mn<sup>4+</sup>, S<sup>0</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Краткая характеристика.

Филум B10. *Cyanobacteria* – одноклеточные, нитчатые или колониальные оксигенные фототрофные бактерии. Метаболизм и физиология. Экология цианобактерий и их роль в природе.

Филум B11. *Chlorobi* – зеленые серные бактерии. Облигатно анаэробные аноксигенные фототрофы, окисляющие преимущественно простые органические вещества. Особенности метаболизма и физиологии, распространение и роль в природе.

Филум B12. *Proteobacteria* – полифилетическая группа, включающая пять классов: *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria*. Морфологическое и физиологическое разнообразие бактерий, входящих в этот филум. Краткая характеристика классов.

Типичные представители.

Филум B13. *Firmicutes* – грамположительные бактерии преимущественно с низким содержанием GC-пар в ДНК. Класс *Clostridia*. Класс *Mollicutes*. Класс *Bacilli*. Краткая характеристика классов. Типичные представители.

Филум B14. *Actinobacteria* – грамположительные бактерии с высоким содержанием GC-пар в ДНК и родственные им организмы, красящиеся отрицательно по Граму. Морфологическое и физиологическое разнообразие филума. Метаболизм, физиология, экология типичных представителей.

Филум B15. *Planctomycetes*. Особенности морфологии, цикл развития. Тип метаболизма. Типичные представители.

Филум B16. *Chlamydiae*. Морфология. Жизненный цикл хламидий. Особенности метаболизма. Значение хламидий в патологии человека.

Филум B17. *Spirochaetes*. Особенности морфологии. Тип движения спирохет. Метаболизм спирохет. Сапрофитные и патогенные виды.

Филум B18. *Fibrobacteres*. Морфология, метаболизм, экологические ниши. Филум

B19. *Acidobacteria*. Морфология, метаболизм, особенности физиологии.

Филум B20. *Bacteroidetes*. Класс *Bacteroides*. Класс *Flavobacteria*. Класс *Fusobacteria*. Характеристика классов: морфология, метаболизм, физиология, экология Типичные представители.

Филум B21. *Fusobacteria*. Морфология, метаболизм, физиология. Места обитания фузобактерий, значение для человека.

Филум B22. *Verrucomicrobia*. Морфология, способы размножения. Метаболизм.

Филум B23. *Dictyoglomi* – экстремально термофильные бактерии. Особенности морфологии. Метаболизм. Экологические ниши.

### **Раздел 7. Экология микроорганизмов**

Тема 14. Влияние факторов внешней среды на жизнедеятельность микроорганизмов Физические, химические и биологические факторы, их влияние на микроорганизмы.

*Влияние абиотических факторов среды.* Отношение микроорганизмов к молекулярному кислороду: аэробы и анаэробы (облигатные и факультативные), микроаэрофилы и аэротолерантные анаэробы.

Токсические эффекты молекулярного кислорода и его производных (супероксидный анион, гидроксидный радикал, перекись водорода и др.). Защитные механизмы клетки. Влияние видимого света, УФ-излучения, ионизирующего излучения на микроорганизмы. Действие ультразвука на микробные клетки. Влияние температуры. Рост микроорганизмов в зависимости от температуры. Кардинальные температурные точки. Температурный диапазон. Психрофилы, мезофилы, термофилы. Механизмы психро- и термофилии.

Отношение микроорганизмов к кислотности среды. Механизмы pH-гомеостаза. Влияние активности воды и солености на жизнедеятельность микроорганизмов. Осмофилы, галофилы, ксерофилы. Механизмы осмофилии и ксерофилии. Влияние гидростатического давления. Барофильные и баротолерантные микроорганизмы. Влияние тяжелых металлов на микроорганизмы.

*Биотические связи с участием микроорганизмов.* Взаимоотношения микроорганизмов между собой и с другими организмами. Симбиоз. Мутуализм. Комменсализм. Метабиоз. Антагонизм. Паразитизм, хищничество. Особенности взаимоотношений микроорганизмов с растениями. Ризосферная и эпифитная микрофлора. Симбиоз клубеньковых бактерий с растениями. Фитопатогенные микроорганизмы.

Микроорганизмы – симбионты и патогены насекомых. Использование энтомопатогенных микроорганизмов для борьбы с вредными насекомыми. Взаимосвязь микроорганизмов с позвоночными животными.

Микрофлора кишечника жвачных животных в связи с особенностями их питания.

Нормальная микрофлора человека. Значение микрофлоры в жизни человека. Дисбактериоз и его предупреждение. Условно-патогенные и патогенные микроорганизмы. Разнообразие патогенных микроорганизмов.

Тема 15. Биогеохимическая деятельность микроорганизмов

Участие микроорганизмов в круговороте углерода. Цикл азота и специфические группы микроорганизмов, участвующие в нем. Цикл серы: серобактерии и сульфидогены.

### **Раздел 8. Прикладная микробиология**

Тема 16. Некоторые аспекты прикладной микробиологии

Использование микроорганизмов в биотехнологии. Пищевые производства, основанные на микробном метаболизме (производство молочнокислых продуктов, хлебопечение, виноделие, пивоварение).

Микробиологические способы получения индивидуальных веществ (этанол, ацетон, бутанол, уксусная, молочная, лимонная кислоты, аминокислоты, ферменты, витамины, полимеры и т.д.). Получение микробного белка.

Применение микроорганизмов в здравоохранении. Антибиотики, алкалоиды, стероиды, ферменты (аспарагиназа, фибринолитические ферменты). Производство вакцин, сывороток. Лечебно-профилактические препараты бактериофагов. Бактериальные препараты, нормализующие микрофлору человека (лактобактерин, бифидумбактерин и др.).

Использование микроорганизмов в биогидрометаллургии. Применение микроорганизмов в процессах биоремедиации.

Микробная утилизация ТБО и других отходов. Получение биотоплива.

Землеудобрительные препараты (азотфиксирующие бактериальные препараты, фосфобактерин и др.).

Микробиологические препараты для борьбы с болезнями и вредителями сельскохозяйственных растений.

Основы санитарной микробиологии. Определение общего микробного числа (ОМЧ). Определение санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ). Титр и индекс СПМ. Группы СПМ.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Освоение курса «Микробиология» предусматривает выполнение лабораторных работ.

На лабораторных занятиях студенты знакомятся с некоторыми морфологическими, физиологическими и культуральными особенностями микроорганизмов. Основные задачи лабораторного практикума:

- пополнить знания студентов по теоретической части курса «Микробиология»;
- приобрести опыт наблюдения, идентификации, классификации биологических объектов;
- освоить методики прижизненного наблюдения, фиксации, описания и культивирования микроорганизмов;
- овладеть методами световой иммерсионной микроскопии.

Выполнение лабораторных работ является обязательным.

Результаты исследования обязательно записываются в тетрадь для лабораторных работ, которая является документом, позволяющим контролировать правильность полученных данных. Запись необходимо вести аккуратно, чётко в следующем порядке:

1. Название опыта, дата его постановки и окончания.
2. Объект исследования.
3. Условия проведения опыта.
4. Основной принцип используемого метода анализа.
5. Полученные результаты.

Каждая лабораторная работа должна заканчиваться собственными наблюдениями и выводами, записанными в тетради.

### ЗАНЯТИЕ 1. Приготовление прижизненных препаратов микроорганизмов

#### СОДЕРЖАНИЕ

1. Правила работы при выполнении микробиологического практикума.
2. Приготовление препаратов живых микроорганизмов.
3. Микроскопия в светлом поле.

#### ЗАДАНИЯ

1. Приготовить препараты "раздавленная капля" и "висячая капля" из капустного и огуречного рассолов, настоя чайного гриба, мясного настоя, зубного налёта.
2. Просмотреть и зарисовать приготовленные препараты. Отметить форму и сочетание клеток, характер движения у подвижных микроорганизмов.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** капустный и огуречный рассол, настой чайного гриба, мясной настой у микроскоп и осветитель, предметные и покровные стёкла, стекла с углублением, бактериологическая петля, капельница с водой, фильтровальная бумага, марлевые салфетки, пипетка глазная, вазелин, спиртовка, спички, дезинфицирующий раствор.

#### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

##### 1. Правила работы при выполнении микробиологического практикума

Микробиологическая лаборатория оборудована лабораторными столами, которые имеют подводку электроэнергии к каждому рабочему месту. За каждым студентом в лаборатории закрепляется постоянное рабочее место. На рабочем месте не должно быть ничего лишнего. На нём устанавливается оборудование, которое требуется почти на каждом занятии. Это микроскоп, осветитель, набор красителей, бактериологические петли и иглы, шпатели, пипетки градуированные и глазные, предметные и покровные стёкла, ванночки для окраски препаратов, капельница с водой, карандаши по стеклу, фильтровальная бумага, вата, марлевые салфетки, спиртовка, спички.

Работать в микробиологической лаборатории разрешается только в халатах, не разрешается есть, курить и пить. В ходе работы с культурами микроорганизмов бактериологические петля и иглы обеззараживают прокаливанием в пламени спиртовки. В случае попадания исследуемого материала или культуры микроорганизма на руки, стол, халат необходимо немедленно произвести дезинфекцию. На всех пробирках и чашках обязательно пишется название микроорганизма, дата его посева, фамилия студента, и номер группы. Посуду с культурами микроорганизмов, подлежащими выбрасыванию, следует прокипятить или залить на сутки дезинфицирующим раствором, после чего микроорганизмы выбрасывают и посуду моют. Неаккуратное обращение с культурами микроорганизмов приводит к возникновению бактериального аэрозоля.

После окончания занятия рабочее место дезинфицируется растворами лизола, хлорамина или 70% раствором этилового спирта. Использованные в работе предметы помещаются в сосуд с дезинфицирующей жидкостью (1% раствор хлорамина, 3% раствор фенола). Металлические предметы прожигают в пламени спиртовки, моют с мылом руки.

## II. Приготовление препаратов живых бактерий

Препарат «раздавленная капля». На предметное стекло наносят каплю воды и помещают в неё небольшое количество культуры микроорганизмов, размешивают и покрывают покровным стеклом. Культуру, выращенную на плотной питательной среде, переносят в каплю воды бактериологической петлей, а культуру, выращенную в жидкой среде - стерильной пипеткой. В этом случае каплю воды на предметное стекло можно не наносить.

Капля должна быть небольшой, чтобы жидкость не выступала за края покровного стекла. В противном случае избыток жидкости необходимо удалить фильтровальной бумагой.

Препарат «висячая капля». Каплю суспензии микроорганизмов петлей или обычным пером наносят на покровное стекло, которое поворачивают каплей вниз и помещают его на предметное стекло с углублением в центре. Капля должна свободно висеть, не касаясь краев и дна углубления. Края лунки предварительно смазываются вазелином.

Препараты живых клеток рассматривают с «сухими системами» микроскопа. III.

### Установка света по Кёлеру

Хорошие результаты при работе с микроскопом могут быть получены при условии правильного освещения объекта, лучший способ освещения основан на системе Кёлера.

Установку света выполняют в следующей последовательности:

1. Устанавливают микроскоп и осветитель на крестовину. На предметный столик помещают препарат. Устанавливают объектив 8х. Поднимают конденсор вверх до упора. Открывают полностью диафрагму конденсора. Отодвигают матовое стекло. Ставят плоское, зеркало. Закрывают диафрагму осветителя, оставив только небольшое отверстие.

2. Включают осветитель. Пользуясь реостатом, регулируют яркость света таким образом, чтобы нить лампы давала слабый накал. Корпус осветителя устанавливают таким образом, чтобы свет падал в центр зеркала.

3. Закрывают зеркало микроскопа кружком белой бумаги и фокусируют на него изображение витка нитки лампы осветителя. Это достигается передвижением патрона лампы осветителя.

4. Глядя в окуляр и слегка вращая зеркало, ловят в поле зрения изображение краёв диафрагмы осветителя, которое имеет вид светлого пятна с нечеткими краями. Если оно занимает значительную часть поля зрения, его уменьшают, опустив объектив или сузив отверстие диафрагмы осветителя, глядя при этом в окуляр. Пятно переводят в центр поля зрения осторожным поворотом зеркала.

5. Используя объектив 8х, фокусируют объект в области светлого пятна.

6. Слегка опуская конденсор, фокусируют в плоскости препарата изображение краёв диафрагмы осветителя, т.е. получают изображение светлого пятна с четко очерченными краями.

7. Слегка поворачивая корпус осветителя нужно добиться равномерного освещения светлого пятна.

8. Открывают диафрагму осветителя так, чтобы светлое пятно заняло все поле зрения.

9. Устанавливают объектив 40х для препарата «раздавленная капля» и «висячая капля».

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Микробиологическая лаборатория и особенности работы в ней.

2. Типы современных микроскопов. Правила микроскопии.

3. Положение микроорганизмов в системе органического мира. Их общие свойства.

## **ЗАНЯТИЕ 2. Приготовление фиксированных и окрашенных препаратов микроорганизмов.**

**Мазок**

### **СОДЕРЖАНИЕ**

1. Приготовление фиксированных окрашенных препаратов.

2. Морфологические особенности различных групп микроорганизмов.

3. Правила работы с иммерсионной системой.

### **ЗАДАНИЯ**

1. Приготовить препараты фиксированных окрашенных клеток из мясного и мучного настоев, дрожжевых грибов.

2. Приготовить препарат "раздавленная капля" представителей нитчатых форм.

3. Просмотреть приготовленные препараты, пользуясь объективом МИ-90 и зарисовать, обратив внимание на форму и взаимное расположение клеток. 4. Просмотреть различные типы колоний актиномицетов. Результаты наблюдений оформить в виде таблицы.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** мясной и мучной настоев, суспензия дрожжей, культуры цианобактерий, готовые препараты различных морфологических групп микроорганизмов, культура актиномицетов, выращенных на чашках Петри, микроскоп, иммерсионное масло, бензин, предметные и покровные стёкла, марлевые салфетки, спиртовка, спички, фильтровальная бумага, пипетки, растворы красителей.

### **МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

#### I. Приготовление фиксированного окрашенного препарата

Приготовление фиксированных окрашенных препаратов включает следующие этапы: приготовление мазка, высушивание, фиксацию и окраску.

Для приготовления мазка на обезжиренное предметное стекло помещают маленькую каплю воды и переносят в неё петлей небольшое количество исследуемого материала. Получившуюся суспензию равномерно размазывают петлёй на площади 1-2 см<sup>2</sup> возможно более тонким слоем.

Приготовленный мазок высушивают на воздухе, а затем фиксируют над пламенем спиртовки. Для этого препарат трижды проводят через пламя спиртовки, держа предметное стекло мазком вверх. Для исследования структуры строения клетки прибегают к фиксации различными химическими веществами (96% этиловый спирт, смесь Никифорова и др.). При этом фиксирующую жидкость наливают на мазок либо препарат на определённое время погружают в стакан с фиксатором. Фиксация препарата преследует несколько целей: убить микроорганизмы, т.е. сделать безопасным дальнейшее обращение с ними; обеспечить лучшее прилипание клеток к стеклу; сделать мазок более восприимчивым к окраске.

Фиксированный препарат помещают на параллельные стеклянные рейки, лежащие над кюветой, и заливают красителем на 1-3 мл. Для простого окрашивания клеток чаще всего пользуются фуксином, генциановым фиолетовым или метиленовым синим. По окончании окраски препарат промывают водой до тех пор, пока стекающая вода не станет бесцветной, затем препарат высушивают на воздухе или осторожно промокают фильтровальной бумагой. Для получения более чистых препаратов краситель наливают на мазок, накрытый фильтровальной бумагой. Фиксированные окрашенные препараты могут храниться длительное время.

### II. Правила работы с иммерсионным объективом

Фиксированный окрашенный препарат помещают на столик микроскопа и, пользуясь объективом 8х, устанавливают свет по Кёлеру. Затем в центр препарата на мазок наносят каплю иммерсионного масла и устанавливают объектив МИ-90. С помощью макрометрического винта опускают тубус микроскопа до погружения объектива в масло, следя за тем, чтобы фронтальная линза не коснулась предметного стекла. После этого осторожно поднимая тубус и, наблюдая в окуляр, находят изображение препарата. Точная фокусировка достигается с помощью микровинта.

По окончании микроскопирования поднимают тубус, снимают препарат и осторожно протирают фронтальную линзу объектива сначала сухой салфеткой, а затем той же салфеткой, но слегка смоченной бензином.

### III. Изучение морфологии актиномицетов

Для изучения актиномицетов студенты получают посеы почвенных образцов на пластинах крахмало-аммиачного агара (КАА). Пробиркой вырезают блок КАА с колонией актиномицета, переносят его на предметное стекло и микроскопируют при малом увеличении микроскопа. Составляют описание колоний. Результаты наблюдений регистрируются в следующей таблице.

МОРФОЛОГИЯ КОЛОНИЙ АКТИНОМИЦЕТОВ НА КАА

Колония	Размер	Поверхность	Цвет мицелия		Выделение пигмента в среду	Рисунок колоний
			воздушного	субстратного		

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Характеристика основных морфологических групп микроорганизмов.
2. Основные различия прокариот и эукариот.
3. Форма и размеры клеток прокариот.

### ЗАНЯТИЕ 3. Окраска бактерий по Граму

#### СОДЕРЖАНИЕ

1. Выделение некоторых структур и включений в клетках микроорганизмов
2. Окраска бактерий по Граму.

#### ЗАДАНИЯ

1. Обнаружить методом негативной окраски капсулы у *Azotobacter chroococcum*.
2. Окрасить споры у картофельной палочки (*Bacillus mesentericus*).
3. Выявить гликоген в клетках дрожжей.
4. Окрасить мазки данных культур по Граму.
5. Все препараты промикроскопировать и зарисовать.

МАТЕРИАЛ И ОБОРУДОВАНИЕ: культуры азотобактера и картофельной палочки, суспензия дрожжей, набор красителей: черная тушь, раствор Люголя, карболовый фуксин, метиленовый синий, фуксин, генциавиолет; смесь Никифорова, спирт, 1% раствор серной кислоты, 5% раствор хромовой кислоты, предметные и покровные стекла, салфетки, спиртовки, спички, пипетки.

#### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

##### I. Выявление капсул



На хорошо обезжиренное предметное стекло петлей нанести каплю неразбавленной чёрной туши и в неё внести каплю исследуемой культуры микроорганизма. Смесь переметать, покрыть покровным стеклом и промикроскопировать, пользуясь объективом ВН-40.

На тёмном фоне туши выявляются прозрачные зоны капсул вокруг резко очерченных клеток. **II. Окраска спор у бактерий по методу Циля**

На предметное стекло петлёй нанести мазок из культуры микроорганизма. Мазок высушивают на воздухе и заливают его 5% раствором хромовой кислоты из 5 мин. Затем мазок промыть водой, покрыть его полоской фильтровальной бумаги, на которую нанести раствор карболового фуксина. Окрашивать мазок 6-8 мин при нагревании до образования паров, держа стекло высоко над пламенем спиртовки. По мере испарения красителя, его надо периодически добавлять, не давая препарату подсохнуть.

Далее мазок надо тщательно промыть водой и поместить препарат в склянку с раствором 1% серной кислоты на 30-60 с до приобретения им слабо-розовой окраски. После дифференциации мазок промыть водой и окрасить раствором метиленового синего на 10-15 мин. Затем мазок снова промыть водой, высушить на воздухе и промикроскопировать, пользуясь объективом МИ-90. На препарате споры окрашиваются в красный цвет, а вегетативные клетки в голубой.

### **III. Выявление гликогена**

Из культуры микроорганизма приготовить мазок и зафиксировать его смесью Никифорова в течение 5 мин. Затем мазок окрасить концентрированным раствором Люголя на 30-40 с, промыть водой, накрыть покровным стеклом и промикроскопировать, пользуясь объективом Ви-40. Гранулы гликогена окрашиваются в красновато-коричневый цвет.

### **IV. Окраска бактерий по Граму**

Метод окраски по Граму имеет важное диагностическое значение при определении видов бактерий. Все бактерии по своему отношению к этому методу делятся на грамположительные и грамотрицательные. Сущность метода заключается в том, что протоплазма бактериальных клеток у одних видов образует прочное нерастворимое в спирте соединение йода с красителем (грамположительных бактерий), у других видов прочное соединение не образуется, и они легко обесцвечиваются спиртом (грамотрицательные бактерии).

Для освоения окраски по Граму на предметном стекле одновременно готовятся три мазка на расстоянии 1 см один от другого: в центре из культуры дрожжей, а по бокам из культуры азотобактера и картофельной палочки. Мазки фиксируются над спиртовкой и окрашиваются следующим образом:

1. На фиксированный мазок кладётся полоска фильтровальной бумаги, пропитывается раствором генцианвиолета и наносится несколько капель воды так, чтобы вся бумажка стала влажной и хорошо прикасалась к стеклу. Окрашивание производится в течении 1-2 мин.
2. Снимается бумажка, сливается краска и на препарат наносится раствор Люголя на 1 мин (до почернения препарата).
3. Сливают раствор Люголя с мазка и наливают на него на 30-60с 96% спирт.
4. Препарат промывается водой.
5. Дополнительно окрашивается фуксином в течении 1-2 мин.
6. Слив краску, препарат промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют.

При правильной окраске грамположительные бактерии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, грамотрицательные - в красный цвет фуксина.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Строение и химический состав внутренних структур бактериальной клетки,
2. Особенности строения клеточной стенки у прокариот.
3. Споры, их физико-химические свойства и условия образования.
4. Капсулы и слизистые чехлы бактерий, их значение.

## **ЗАНЯТИЕ 4. Типы питательных сред. Стерилизация питательных сред и посуды. Посев бактерий на плотные питательные среды**

### **СОДЕРЖАНИЕ**

1. Способы стерилизации питательных сред и посуды.
2. Посев бактерий на плотные питательные среды.

### **ЗАДАНИЯ**

1. Подготовить к сухой стерилизации чашки Петри, пробирки и пипетки.
2. Изготовить ватные пробки для трех пробирок. Разлить в них МПА (на 1/2 объема пробирки) и поместить на стерилизацию в аппарат Коха на 40 мин.
3. Вылить из одной пробирки МПА в стерильную чашку Петри, а из оставшихся двух получить прямой и косой МПА.
4. Освоить технику посева чистых культур на прямую и скошенную поверхность МПА и провести рассев бактерий в чашке Петри методом истощающего штриха.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** чашки Петри, градуированные пипетки на 1, 2 и 10 мл, пробирки, вата, газетная бумага, МПА, стерильные чашки Петри, аппарат Коха, петли, спиртовка, спички, карандаш по стеклу, ножницы, нитки, чистые культуры бактерий.

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

### I. Стерилизация питательных сред и посуды

Под стерилизацией понимают полное уничтожение микроорганизмов и их спор в питательных средах, посуде и на инструментах.

Различают термическую и холодную стерилизацию. В микробиологии применяются следующие способы термической стерилизации:

1. Прокаливание в пламени спиртовки или горелки. Металлические и стеклянные предметы (иглы, петли, скальпели, шпатели), а также ватные пробки проводят несколько раз через пламя спиртовки.

2. Стерилизация кипячением металлических инструментов и резиновых трубок в 2% растворе карбоната натрия в течение 20 мин.

3. Стерилизация сухим жаром стеклянной посуды. При этом пробирки, колбы, концы пипеток предварительно закрывают ватными пробками и обертывают бумагой. Пипетки обертывают длинными полосками бумаги шириной 4-5 см, наматывая её по спирали, начиная с оттянутого конца.

Чашки Петри заворачивают в бумагу в форме квадрата. Для этого чашку помещают на середину листа, загибают его с двух противоположных сторон так, чтобы края налегали друг на друга, а два свободных конца загибают вниз. Пробирки обычно заворачивают в пакеты по несколько штук. Подготовленную таким образом посуду помещают в сушильный шкаф, в котором нагревают её при температуре 160-170°С в течение 2ч.

4. Стерилизация текущим паром. Производят её в кипятильнике Коха, который представляет собой металлический цилиндр. Внутри его находится подставка и сетчатое ведро, куда помещают стерилизуемый материал. На дно цилиндра наливают воду и нагревают его с помощью электричества. Нагревание в течение 30-45 мин приводит к гибели вегетативных клеток. Для осуществления полной стерилизации необходимо применять повторное прогревание питательной среды через сутки.

5. Стерилизация паром под давлением осуществляется в автоклаве, в котором стерилизуемые предметы нагревают насыщенным паром при давлении выше атмосферного. При 120°С и давлении 1 атм. в течение 90 мин обеспечивается полная стерилизация питательных сред.

В жидкостях, которые теряют питательные свойства при кипячении (молоко, пиво и др.), уничтожают бактерии путём пастеризации, которое осуществляется при более низких температурах (60- 80°С).

Из методов холодной стерилизации микробиологи используют стерилизацию фильтрованием, ультрафиолетовыми лучами и газообразными средствами.

### II. Посев бактерий на плотные питательные среды

Внесение клеток микроорганизмов в стерильную среду называется посевом или инокуляцией. Посев микроорганизмов требует соблюдения определенных правил, чтобы предохранить исследуемую культуру от загрязнения посторонними микроорганизмами.

Для посева микроорганизмов на поверхность питательной среды используют обычно пробирки со скошенной поверхностью МПА или чашки Петри. Для получения скошенной поверхности МПА пробирку после стерилизации кладут в наклонное положение на стол, а для получения «прямого» МПА ставят в штатив.

Для посева клетки микроорганизмов, выращенных на твердой питательной среде, берут петлей, а из жидкой питательной среды - стерильной пипеткой.

Посев микроорганизмов на поверхность скошенной поверхности МПА осуществляют следующим образом. Берут в левую руку две пробирки: одну со стерильной средой (дальше от себя), другую - с культурой микроорганизмов (ближе к себе), а в правую руку бактериологическую петлю. Стерилизуют петлю в пламени спиртовки, для чего держат ее сначала вертикально до покраснения проволоки, а затем в горизонтальном положении проводят держатель несколько раз через пламя. Затем, не выпуская петли, мизинцем и безымянным пальцем правой руки прижимают пробки к ладони, вынимают их из пробирок и держат так до окончания посева. Края открытых пробирок обжигают в пламени спиртовки, после этого петлей отбирают клетки микроорганизмов и вводят петлю в пробирку со скошенной средой. Слегка касаясь петлей поверхности агара, проводят снизу вверх зигзагообразную или прямую черту. Горлышки пробирок обжигают в пламени спиртовки, затем обжигают пробки и закрывают ими пробирки. Если конец ватной пробки загорелся, то не следует её бросать, а нужно быстро вставить в пробирку, где вата потухнет.

Посев на прямую поверхность МПА производят в той же последовательности, с той лишь разницей, что здесь делают укол в толщу питательной среды.

Если посев производят в жидкую питательную среду, то пробирки держат почти вертикально и петлю с клетками микроорганизмов погружают непосредственно в среду.

Все описанные выше манипуляции проводят около пламени спиртовки по возможности быстро, чтобы не загрязнить культуру посторонними микроорганизмами. После этого пробирки подписываются и ставятся на проращивание в термостат. Результаты пересевов просматриваются на следующем занятии.

Для того, чтобы провести рассев микроорганизмов из жидкой питательной среды на поверхность плотной среда в чашке Петри, поступают следующим образом. Стерильную питательную среду из пробирки выливают в стерильную чашку Петри. Для этого пробку со средой берут в правую руку, вынимают из нее пробку, обжигают горлышко пробирки и, приоткрыв слегка чашку Петри, быстро выливают в нее питательную среду. Затем крышку закрывают и оставляют чашку на горизонтальной поверхности до тех пор, пока не застынет среда. Для посева приоткрывают крышку чашки Петри и петлей проводят посев по всей поверхности среды параллельными штрихами на расстоянии 0,5 см между ними. Чашки подписываются и помещаются в термостат.

#### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Рост и размножение микроорганизмов. Кривая роста, время генерации.
2. Методы культивирования микроорганизмов.
3. Влияние физических и химических факторов на рост и развитие микроорганизмов.

#### **ЗАНЯТИЕ 5. Получение накопительной культуры картофельной палочки и азотфиксирующих бактерий** СОДЕРЖАНИЕ

1. Приготовление сред для культивирования микроорганизмов.
2. Условия культивирования.
3. Получение накопительных культур свободноживущих азотфиксирующих и аэробных спорообразующих бактерий.

#### ЗАДАНИЯ

1. Приготовить среды для получения накопительных культур аэробных и анаэробных свободноживущих азотфиксирующих бактерий.
2. Получить накопительную культуру картофельной палочки.
3. Просмотреть посева, сделанные на прошлом занятии. Обратит внимание на характер роста культуры на скошенном и прямом МПА ив чашке Петри. Результаты наблюдения записать в дневник.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** набор минеральных солей:  $K_2HPO_4$ ;  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ ;

$NaCl$ ;  $K_2SO_4$ ;  $CaCO_3$ ;  $MnSO_4$ ;  $FeSO_4$ ; глюкоза; манит,

агар, стерильные чайки Петри, пробирки, колбы на 100 мл, вата, весы, разновесы, шпатели, водяная баня, термометр, почва, клубни картофеля, карандаш по стеклу, скальпель.

#### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

##### I. Питательные среды

В лабораторных условиях микроорганизмы культивируют на питательных средах, которые должны содержать все вещества, необходимые для их роста. По составу различают натуральные среды неопределенного состава и синтетические среды. Натуральными называют среды, которые состоят из продуктов животного или растительного происхождения. К ним относятся овощные или фруктовые соки, животные ткани, кровь, молоко, отвары или настои мяса, почвы, навоз, клетки микроорганизмов. К числу натуральных сред относятся также мясо-пептонный бульон, МПА, пивное сусло, дрожжевая и картофельная среды, почвенный экстракт. Натуральные среды используют для поддержания культур м/о, накопления биомассы и для диагностических целей. Синтетические среды - это среды, в которые входят соединения определенного состава, взятые в точных весовых количествах. Они широко используются при изучении обмена веществ, физиологии и биохимии микроорганизмов. Синтетические среды по составу могут быть сложными и простыми.

Выделяют также полусинтетические среды, в состав которых кроме соединений известного химического состава включаются вещества неопределенного состава, например, такие, как дрожжевой автолизат, почвенный экстракт или гидролизат казеина. Эти среды широко используются в микробиологической промышленности.

Элективные среды предназначены для выделения микроорганизмов из естественных сред их обитания. Они обеспечивают преимущественное развитие определенной группы микроорганизмов.

При определении видовой принадлежности бактерий используют индикаторные среды. Они особенно широко используются в санаторной и медицинской микробиологии.

По физическому состоянию различают жидкие, сыпучие и плотные среды.

Жидкие среды применяют для накопления биомассы или продуктов обмена, а также для исследования физиологии и биохимии микроорганизмов.

Сыпучие среды применяют в промышленной микробиологии для культивирования некоторых продуцентов физиологически активных веществ, а также для сохранения культур микроорганизмов. К таким средам относятся, например, отварное пшено, отруби, опилки.

Плотные среды используют для выделения чистых культур в диагностических целях, для определения количества микроорганизмов, для хранения культур в коллекциях и в ряде других случаев. С целью уплотнения сред применяется агар или желатин.

##### II. Получение накопительной культуры свободноживущих азотфиксирующих бактерий

I. В аэробных условиях наиболее активными свободноживущими в почве азотфиксаторами являются бактерии рода *Azotobacter*.

Для выделения азотобактера используют агаризованную среду Эшба следующего состава, в г/100 мл ; манит - 20,0;  $K_2HPO_4$  - 0,2;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 0,2;  $K_2SO_4$  - 0,1;  $CaCO_3$  - 5,0; агар - 2,0.

Приготовленную среду нагревают до расплавления агара и стерилизуют в автоклаве или аппарате Коха. После стерилизации среду выливают в стерильные чашки Петри и после того, как она застынет, на поверхности раскладывают комочки почвы приблизительно на расстоянии 1 см. Комочки почвы раскладывают капилляром, смоченным в воде. Засеянные чашки Петри помещают в термостат при температуре 28-30°C.

2. Для выделения анаэробных азотфиксаторов используют среду Виноградского следующего состава, в г/100 мл: глюкоза - 2,0;  $K_2HPO_4$  - 0,1;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 0,05; NaCl - 0,05;  $MgSO_4$ ,  $FeSO_4$  – следы;  $CaCO_3$  - 2,0.

Приготовленную среду разлить в пробирки, внести небольшое количество почвы, закрыть ватными пробками и простерилизовать в течение 10 мин при 80°C. Пробирки поместить в термостат при температуре 30°C.

### III. Получение накопительной культуры картофельной палочки

Промыть клубень картофеля и, не снимая кожуры, нарезать ломтики. Их поверхность слегка натереть мелом и положить в стерильную чашку Петри, на дно которой надо положить смоченную водой фильтровальную бумагу. Затем чашки Петри с ломтиками картофеля поместить в сушильный шкаф и, выдержать в нем 10 - 15 мин при 100°C. После этого чашки поместить в термостат при 27-30°C на 2-3 суток.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- I. Типы питания микроорганизмов, пищевые потребности в связи с особенностями их обмена.
  2. Механизм поступления питательных веществ в клетку.
  3. Источники углерода. Автотрофная и гетеротрофная ассимиляция углекислоты.
  4. Источники азота. Усвоение минеральных соединений азота. Характеристика азотфиксирующих бактерий.

## ЗАНЯТИЕ 6. Выделение чистой культуры картофельной палочки

### СОДЕРЖАНИЕ

#### I. Выделение чистых культур микроорганизмов. ЗАДАНИЯ

1. Поставить на стерилизацию 4 пробирки с МПА.
2. Убедиться в получении накопительных культур, о чем свидетельствуют:
  - а) для аэробных азотфиксаторов - образование слизистых колоний вокруг комочков почвы;
  - б) для анаэробных азотфиксаторов - помутнение среды, газовыделение, запах масляной кислоты;
  - в) для споровых аэробных бактерии - "картофельной палочки" - появление на поверхности среды морщинистой пленки.
3. Просмотреть под микроскопом накопительные культуры:
  - а) в культуре аэробных азотфиксаторов выявить методом негативной окраски капсулы;
  - б) в культуре анаэробных азотфиксаторов обнаружить кластридальный тип спорообразования и выявить гранулезу в клетках;
  - в) в культуре, картофельной палочки обнаружить споры. Полученные результаты оформить в виде таблицы.

#### УСЛОВИЯ И ПРИЗНАКИ РОСТА НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУР

Накопительная культура	Условия культивирования	Визуальные признаки роста	Микроскопия, морфологические особенности
Азотфиксирующие бактерии	аэробные		
	анаэробные		
"Картофельная палочка"	аэробные		

4. Провести рассев споровых аэробных бактерий ("картофельная палочка") на чашках Петри методом Р. Коха и истощающего штриха.

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ: МПА, аппарат Коха, пробирки, стерильные чашки Петри, вата, пробирки со стерильной водой, набор красок, раствор Люголя, черная тушь, иммерсионное масло,

предметные и покровные стекла, салфетки, спиртовки, спички, фильтровальная бумага, карандаш по стеклу, изогнутая стеклянная палочка, стерильные пипетка.

## МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

### 1. Выделение чистой культуры

Основным методом выделения чистых культур микроорганизмов является метод, предложенный Р. Кохом. Принцип его заключается в получении чистой культуры из отдельной колонии. Этот метод применим для микроорганизмов, которые хорошо растут на плотных средах.

При выделении чистой культуры аэробных бактерий накопительную культуру высевают на поверхность плотной питательной среды. Для этого стерильную питательную среду МПА разливают в стерильные чашки Петри и после того как среда застынет, на ее поверхность в 1 чашку из пипетки наносят каплю накопительной культуры или ее разведение в стерильной воде. Затем изогнутой стеклянной палочкой распределяют каплю по всей поверхности среды в чашке Петри, после чего этой же палочкой проводят по поверхности среды во 2, 3 и 4-й чашках.

Рассеять накопительную культуру можно петлей методом истощающего штриха. Для этого 1 петлю накопительной культуры разбавляют сначала в стерильной воде, налитой в пробирку, а затем отбирают петлей разведения и по поверхности плотной среды проводят штрихи. После посева чашки помещают в термостат крышками вниз. Выросшие изолированные колонии отсевают петлей на поверхность скошенной плотной среды в пробирки или в жидкую среду.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Методы выделения чистых культур аэробов и анаэробов из отдельной колонии.
2. Методы получения чистых культур из одной клетки.
3. Способы определения чистоты выделенных культур.

## ЗАНЯТИЕ 7. Брожение пектиновых веществ

### СОДЕРЖАНИЕ

1. Энергетические процессы в клетках прокариот.
2. Брожение как энергетический процесс.
3. Брожение пектиновых веществ.

### ЗАДАНИЯ

1. Просмотреть чашки Петри, засеянные на прошлом занятии, сделать выводы о получении чистой культуры.
2. Приготовить снопики льняной соломы, прокипятить их в пробирках 10-15 мин., заразить свежей льняной соломой и поставить термостат.

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ: пробирки, нитки, ножницы, льняная солома, стерильная вода, вата, спиртовка, спички.

### МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Различают три типа пектиновых веществ: протопектин, пектин и пектиновая кислота.

Процесс разрушения пектиновых веществ начинается с ферментативного гидролиза, который вызывается бактериями, грибами и актиномицетами.

Под действием фермента протопектиназы протопектин гидролизует до пектина. Далее пектин под действием пектинметилэстеразы разрушается до пектиновой кислоты и метилового спирта. Фермент полигалактуронидаза разрушает пектиновую кислоту до свободных молекул галактуроновой кислоты и других продуктов: ксилозы, арабинозы, галактозы, метилового спирта и уксусной кислоты. Далее образующиеся углеводы в анаэробных условиях сбраживаются по типу маслянокислого брожения. Наиболее активно брожение пектиновых веществ осуществляют бактерии рода *Clostridium*. *C. pectinovorum* первым начинает процесс разрушения пектиновых веществ. Он представлен довольно крупными палочковидными клетками, одиночными или соединенными в цепочки. Споры располагаются терминально.

По мере накопления в среде кислот этот вид прекращает активную деятельность, дальнейшее разрушение пектиновых веществ осуществляет *C. felsineum*. Он имеет вид более мелких палочковидных клеток, одиночных или соединенных парами. Споры овальные, формируются в центре клетки. Клетки-спороносцы кластридиального типа. Эти микроорганизмы используются в качестве закваски для активации процесса анаэробной мочки прядильных растений.

Для выделения пектиноразрушающих бактерий из стеблей льна готовят снопики длиной 5-7 см и связывают их по концам ниткой. Снопики помещают в пробирки, заливают на 2/3 объема водопроводной водой и кипятят 10-15 минут. Затем воду сливают, вовнутрь снопика вставляют кусочек свежей соломы льна и наливают в пробирку стерильную воду. Пробирки закрывают плотно стерильными ватными пробками и помещают в термостат при температуре +35°C. Результаты просматривают на следующем занятии.

### КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Способы получения энергии микроорганизмами.
2. Общая характеристика процессов брожения.
3. Пути сбраживания углеводов.
4. Маслянокислое брожение.

## **ЗАНЯТИЕ 9. Нитрификация**

### **СОДЕРЖАНИЕ**

1. Хемолитотрофные микроорганизмы.
2. Нитрификация.
3. Выделение нитрифицирующих бактерий.

### **ЗАДАНИЯ**

1. Приготовить питательные среды для получения нитрифицирующих бактерий 1 и 2 фаз нитрификации.
2. Разлить среды в колбы слоем 1,0 – 1,5 см, закрыть ватными пробками и поместить в термостат при температуре 106°C на 30 мин.
3. Колбы заразить комочком почвы, закрыть ватными пробками и поместить в термостат при температуре 25-28°C на 14 – 21 сутки.
4. Просмотреть пробирки, поставленные на предыдущем занятии. Приготовить препарат «раздавленная капля» из жидкости, отжатой из снопика, промикроскопировать и зарисовать пектиноразрушающие бактерии.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** набор солей, весы, разновесы, скальпели, колбы на 100 мл, вата, почва, предметные и покровные стекла.

### **МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

Для получения культуры нитрифицирующих бактерий используют питательную среду Виноградского следующего состава в г/л дистиллированной воды:

Для первой фазы нитрификации:

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 2,0;

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1,0;

MgSO<sub>4</sub> – 0,5;

NaCl – 2,0;

FeSO<sub>4</sub> – 0,4;

CaCO<sub>3</sub> – 5,0;

Для второй фазы нитрификации:

NaNO<sub>2</sub> – 1,0;

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 1,0;

NaCl – 0,5;

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,5;

MgSO<sub>4</sub> – 0,5;

FeSO<sub>4</sub> – 0,4.

Срезы разливают в колбы на 100 мл слоем 1,0 – 1,5 см и стерилизуют в автоклаве 20 мин при 1 атм, или в термостате при 106°C в течение 30 мин. Затем колбы заражают комочком почвы, закрывают ватными пробками и ставят в термостат при температуре 25-28°C на 14 – 21 сутки. О ходе нитрификации судят по изменению состава среды в колбах. По истечении указанного срока проверяют в колбе со средой для первой фазы нитрификации наличие аммиака реактивом Несслера и образование азотистой кислоты по реакции с реактивом цинк-йод-крахмал. В колбе со средой для второй фазы нитрификации проверяют наличие азотистой кислоты и образование азотной кислоты по реакции с дифениламином.

### **КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Общая характеристика группы хемолитотрофных микроорганизмов.
2. Особенности их энергетического и конструктивного метаболизма.
3. Роль хемолитотрофов в природе и использовании их в народном хозяйстве.
4. Нитрифицирующие бактерии и процесс нитрификации. Значение в природе.

## **ЗАНЯТИЕ 16. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.**

### **СОДЕРЖАНИЕ**

1. Определение чувствительности изучаемых бактерий к антибиотическим веществам актиномицетов.

### **ЗАДАНИЯ**

1. Поставить на стерилизацию в аппарат Коха 3 пробирки с МПА.
2. Приготовить в стерильной воде суспензии трех культур бактерий: "картофельной палочки" и двух культур, выделенных из воды.
3. По 1 мл каждой суспензии внести в соответствующую пробирку со стерильным и остуженным МПА, тщательно перемешать и перелить в стерильные чашки Петри, используя для каждой суспензии одну чашку.
4. Вырезать агаровые блочки из чашек с газоном актиномицетов и разложить их на поверхность МПА мицелием вверх. Чашки Петри поместить в термостат при температуре 30°C.

**МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ:** пробирки, вата, ножницы, аппарат Коха, МПА, стерильные чашки Петри, пробирки со стерильной водой, чашки с газонем актиномицетов, стерильные пипетки, спиртовки, спички, бактериологические петли, бумажные диски, пропитанные антибиотиками.

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ**

1. Определение антибиотической активности микроорганизмов.

Существуют различные способы выявления антибиотических свойств микроорганизмов. Чаще всего антибиотическую активность выявляют методами перпендикулярных штрихов и агаровых блочков.

**МЕТОД ПЕРПЕНДИКУЛЯРНЫХ ШТРИХОВ**

На питательный агар в чашке Пестри высевают штрихом продуцент антибиотика. После того как он вырастет и образует антибиотик, перпендикулярно к его штриху подсевают штрихами культуры бактерий. Для посева используют густые суспензии тест-организмов в стерильной воде. Чашки выдерживают в термостате при 28-30°C в течение 2-8 суток в зависимости от скорости роста бактерий. Если антибиотик оказывает действие на микроорганизм, то его рост будет наблюдаться вдали от штриха продуцента.

**МЕТОД АГАРОВЫХ БЛОКОВ**

Предусматривает использование разных питательных сред для развития продуцента антибиотика и тест-организмов. Для выращивания актиномицетов используют среду следующего состава. 1л: глюкоза - 30,0; KNO<sub>3</sub> - 5,5; MgSO<sub>4</sub> - 0,5; NaCl - 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,4; ZnSO<sub>4</sub> - 0,002; FeSO<sub>4</sub> - 0,002; агар - 25,0. Среду стерилизуют и наливают в стерильные чашки Петри. После застывания агара высевают на его поверхность споры продуцента или почвенную вытяжку. Культивируют при 28-30°C в течение 8-10 суток. Затем стерильным пробочным сверлом вырезают агаровые блочки с газонем актиномицетов и переносят их на поверхность МПА, засеянного тест-организмами. Агаровые блочки раскладывают на равном расстоянии один от другого мицелием вверх и плотно прижимают к агаровой пластинке. Чашки выдерживают 1 ч при комнатной температуре, а затем помещают в термостат на сутки и более в зависимости от скорости роста бактерий. Если тест-организм чувствителен к антибиотику, то после инкубации вокруг агаровых блочков образуются зоны отсутствия роста.

Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам можно определить с помощью бумажных дисков, пропитанных определенными антибиотиками. Для этого на поверхности питательной среды (МПА), засеянной тест-организмами, раскладываются на равном расстоянии друг от друга бумажные диски. Чашки выдерживают при комнатной температуре 1 ч, а затем 24 ч в термостате при 28-30°C. Если исследуемые бактерии чувствительны к данным антибиотикам, то вокруг дисков образуются зоны отсутствия роста. Их измеряют миллиметровой линейкой. Зона более 30 мм свидетельствует о высокой чувствительности микроорганизма к антибиотику, а менее 12 мм - о слабой.

**КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Взаимоотношения микроорганизмов между собой.
2. Формы антагонизма между микроорганизмами и их использование человеком.
3. Общие свойства антибиотиков и области их применения.
4. Взаимоотношения микроорганизмов с животными. Нормальная микрофлора человека и животных.
5. Взаимоотношения микроорганизмов с растениями.

**ЗАНЯТИЕ 17. Участие микроорганизмов в круговороте основных элементов в природе.**

**СОДЕРЖАНИЕ**

1. Экология микроорганизмов.
2. Использование микроорганизмов человеком.

**ЗАДАНИЯ**

I. Просмотреть чашки Петри, засеянные на предыдущем занятии. Измерить миллиметровой линейкой зоны подавления роста бактерий вокруг агаровых блочков. Результаты оформить в виде таблицы.

**ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ НА РОСТ ВЫДЕЛЕННЫХ БАКТЕРИЙ**

№ культуры	Диаметр зоны подавления роста, мм			
	пенициллин	стрептомицин	тетрациклин	левомецетин
1				
2				
3				
4				

**КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ**

1. Распространение микроорганизмов в биосфере.
2. Биогеохимическая деятельность их.

3. Использование микроорганизмов для получения пищевых и кормовых продуктов, лекарственных препаратов, в сельском хозяйстве и гидрометаллургии.

## **МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ**

Самостоятельные работы представляют собой один из основных видов учебной деятельности студентов. На современном этапе образования этому виду деятельности придается существенное значение. Выполнение самостоятельных работ способствует сознательному усвоению теоретического материала, выработке навыков работы с литературой, помогает в подготовке к экзаменам. Кроме того, это один из видов текущего контроля в рейтинговой системе обучения.

Основная часть предлагаемых заданий для самостоятельной работы нацелена на изучение теоретического материала. Для самостоятельного изучения студентам предложен материал, который не рассматривается на лекциях или рассматривается лишь обзорно.

Требования к отчетности:

- Задания необходимо выполнить в тетради для самостоятельных работ по плану: 1 . Формулировка вопроса; 2. Ответ на вопрос; 3. Список использованной литературы с указанием страниц.
- Студенты представляют выполненные задания не позднее последней недели каждого модуля.

### **Задания для самостоятельной**

**Темы: Морфология и систематика прокариот. Культивирование и рост микроорганизмов.**

#### **Прокариоты и окружающая среда.**

Задание 1. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

1. Каковы пределы дифференциации у прокариот?
2. Что такое переживающие стадии и почему они переживают?
3. Что такое естественная систематика?

Задание 2. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

4. Имеется ли прямая связь между числом мутаций и временем?
5. Равнозначны ли понятия филогении и эволюции?
6. Можно ли построить всеобъемлющую классификацию по одному признаку?

Задание 3. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

7. С какими признаками коррелирует рибосомальный аппарат?
8. Какие организмы относятся к протеобактериям?
9. Могут ли протеобактерии полностью обеспечить деструкционную ветвь углеродного цикла?

Задание 4. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

10. Как распределяются характерные функции по филогенетическому дереву? Например, азотфиксация, термофилия, автотрофия, анаэробизм, гидрогенотрофия?
11. Почему цианобактерии составили отдельную ветвь, а не распределились по ветвям как другие фототрофы?
12. Как коррелирует морфология с химической функцией у бактерий?

Задание 5. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

13. Можно ли рассматривать геном бактерий как мозаику свойств или же как ряд последовательных приобретений, и каким образом могли такие распределения возникнуть?
14. Представляет ли биоразнообразие бактерий упорядоченное множество или же систему?

Задание 6. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

1. В каких случаях, описывая бактериальную культуру, можно ограничиться анализом клетки, а в каких – популяции?
2. Что должно присутствовать в среде, чтобы культура росла?
3. Что является первостепенным для понимания деятельности микроорганизмов в их среде обитания, а что второстепенным?

### **Задания для самостоятельной работы**

**Темы: Метаболизм прокариот. Генетика микроорганизмов. Роль микроорганизмов в глобальных геохимических циклах.**

Задание 7. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

1. В чем отличие энергетики фототрофных и хемотрофных организмов?
2. Может ли хемотрофный организм развиваться в поле термодинамической устойчивости субстрата реакции?
3. Какие фототрофные организмы развиваются в поле термодинамической устойчивости субстрата реакции?
4. Возможно ли использование клеткой энергии не связанной с переносом электрона (протона)?

Задание 8. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

5. Какова зависимость энергетики клетки от концентрации вещества в среде?
6. Какие факторы ограничивают возможность использования организмом реакции в качестве энергодающей?
7. Как поддерживаются в клетке условия, обеспечивающие ее жизнедеятельность?



8. Почему для бактерий способ транспорта веществ в клетку оказывается критическим?

Задание 9. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

9. Как связано сродство клетки к субстрату с транспортом?
10. Возможно ли нарушение целостности мембраны у прокариотного организма?
11. Какие реакции связывают цитозоль цитоплазмы с мембранным аппаратом? С рибосомами?
12. Что нужно для того, чтобы часть реакций анаболизма и катаболизма была общей?

Задание 10. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

13. Возможно ли появление аэробного обмена до появления фотосистемы II?
14. Возможно ли появление дыхательной цепи переноса электронов до появления фотосинтеза?
15. Почему метаболические пути определяют специфику обмена физиологических групп микроорганизмов?

Задание 11. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

16. Могут ли отдельные ферменты характеризовать пути обмена организма?
17. Как зависит синтез фермента от внешних условий?
18. Каково значение запасных веществ для фототрофов? Для хемотрофов?

Задание 12. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:

1. Возможно ли представить возникновение генома новых бактерий в виде последовательных мутаций?
2. Какое значение имеют комбинаторные процессы в генетике микроорганизмов?
3. Каково значение отторжения чужеродной генетической информации для существования видов?
4. Что такое гетерофобия в приложении к микробным системам?
5. Как разрешить противоречие между сохранением свойств вида и их изменением на уровне бактерий?

### Требования к рейтинг-контролю

Модули	Темы	Виды работ	Баллы
5 семестр			
I модуль	1. Морфология, ее объекты и методы 2. Структурно-функциональная организация прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот 3. Рост и культивирование микроорганизмов 4. Метаболизм прокариот	Лабораторные работы	10
		Задания для самостоятельной работы	5
		Реферат	5
		Коллоквиумы	10
Итого:			
II модуль	5. Генетика прокариот 6. Разнообразие и систематика прокариот 7. Экология микроорганизмов 8. Прикладная микробиология	Лабораторные работы	10
		Задания для самостоятельной работы	5
		Реферат	5
		Коллоквиумы	10
Итого:			
Экзамен			40
Всего:			100

6. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)	
6.1. Рекомендуемая литература	
а) Основная литература:	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Белясова Н. А. Микробиология: учебник / Н. А. Белясова. – Минск: Выш. шк., 2012. – 443 с: ил. - ISBN 978-985-06-2131-3; [Электронный ресурс].- Режим доступа: <a href="http://znanium.com/go.php?id=508546">http://znanium.com/go.php?id=508546</a></li> <li>2. Павлович С. А. Микробиология с вирусологией и иммунологией: учебное пособие / С. А. Павлович. – 3-е изд., испр. - Минск: Выш. шк., 2013. – 799 с.: ил. - ISBN 978-985-06-2237-2; [Электронный ресурс].- Режим доступа: <a href="http://znanium.com/go.php?id=508936">http://znanium.com/go.php?id=508936</a></li> <li>3. Рябцева С. А. Общая биология и микробиология: учебное пособие / С. А. Рябцева. - Ставрополь: СКФУ, 2016. - Ч. 1. Общая биология. - 149 с.: ил.; [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <a href="http://biblioclub.ru/index.php?page=book&amp;id=459250">http://biblioclub.ru/index.php?page=book&amp;id=459250</a></li> </ol>	
б) Дополнительная литература:	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Микробиология: учебник / В. Н. Кисленко, М. Ш. Азаев – Москва: НИЦ ИНФРА-М, 2015. - 272 с.: 60x90 1/16. - (Высшее образование: Бакалавриат) (Переплёт) ISBN 978-5-16-010250-4; [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <a href="http://znanium.com/go.php?id=478874">http://znanium.com/go.php?id=478874</a></li> <li>2. Общая вирусология с основами таксономии вирусов позвоночных: учебное пособие / А. Сизенцов, А. Плотников, Е. Дроздова и др. - Оренбург: ОГУ, 2012. - 624 с.: ил.; [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <a href="http://biblioclub.ru/index.php?page=book&amp;id=259296">http://biblioclub.ru/index.php?page=book&amp;id=259296</a></li> </ol>	

9. Сведения об обновлении рабочей программы дисциплины (или модуля)			
№ п.п.	Обновленный раздел рабочей программы дисциплины	Описание внесенных изменений	Реквизиты документа, утвердившего изменения
1.	Перечень программного обеспечения	В перечень программного обеспечения добавлен Многофункциональный редактор ONLYOFFICE	Протокол заседания кафедры зоологии и физиологии № 6 от 26.04.2024 г
2.			
3.			
4.			