

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Смирнов Сергей Николаевич

Должность: врио ректора

Дата подписания: 11.09.2023 14:32:52

Уникальный программный ключ:

69e375c64f7e975d4e8830e7b4fcc2ad1bf35f08

# МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФГБОУ ВО «ТВЕРСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель ООП

Спирина У.Н.

"25" апреля 2022 г.

## Рабочая программа дисциплины

# Микробиология

Закреплена за кафедрой **Ботаники**  
Учебный план 35.03.01 Лесное дело

Форма обучения **очная**

Общая трудоемкость **4 ЗЕТ**

Часов по учебному плану	144	Виды контроля в семестрах: экзамены 5
в том числе:		
аудиторные занятия	51	
самостоятельная работа	66	
часов на контроль	27	

### Распределение часов дисциплины по семестрам

Семестр (<Курс>.<Семестр на курсе>)	5 (3.1)		Итого	
	Неделя 17			
Вид занятий	уп	рпд	уп	рпд
Лекции	17	17	17	17
Практические	34	34	34	34
Итого ауд.	51	51	51	51
Контактная работа	51	51	51	51
Сам. работа	66	66	66	66
Часы на контроль	27	27	27	27
Итого	144	144	144	144

Программу составил(и):

*канд. биол. наук, доц., Спирина Уляна Николаевна* \_\_\_\_\_

Рабочая программа дисциплины

**Микробиология**

разработана в соответствии с ФГОС ВО:

Федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования по направлению подготовки 35.03.01 Лесное дело (уровень бакалавриата) (приказ Минобрнауки России от 26.07.2017г. №706)

**1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ**

- |     |   |
|-----|---|
| 1.1 | создать у студентов представления о биологическом многообразии микроскопического мира как ведущего фактора устойчивости живых систем и биосферы в целом |
|-----|---|

**Задачи :**

- 1) ознакомление студентов с морфологическим, физиологическим и экологическим многообразием микроорганизмов;
- 2) получение представлений о проблемах систематики и классификации прокариот;
- 3) уяснение теории биохимического единства жизни и исключительного разнообразия энергетических процессов, возникших у прокариот в процессе эволюции;
- 4) изучение роли разных групп микроорганизмов в природе и жизни человека.

**2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ООП**

Цикл (раздел) ОП: Б1.О

**2.1 Требования к предварительной подготовке обучающегося:**

2.1.1 Лесоведение

2.1.2 Почвоведение

2.1.3 Химия

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

2.2.1 Генетика и селекция

2.2.2 Современные методы защиты растений

2.2.3 Фитопатология

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

**ОПК-1.3:** Использует базовые знания ботаники, зоологии, микробиологии, экологии и почвоведения в профессиональной деятельности

**4. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)**

Код занятия	Наименование разделов и тем	Вид занятия	Семестр / Курс	Часов	Источники	Примечание
	<b>Раздел 1. 1. Микробиология, ее объекты и методы</b>					
1.1	Микробиология, ее объекты и методы	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
1.2	Приготовление прижизненных препаратов микроорганизмов	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
1.3	Микробиология, ее объекты и методы	Ср	5	8	Э1 Э2 Э3	
	<b>Раздел 2. 2. Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот</b>					
2.1	Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
2.2	Приготовление фиксированных и окрашенных препаратов микроорганизмов. Мазок	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
2.3	Окраска бактерий по Граму	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
2.4	Структурно-функциональная характеристика прокариотной клетки. Морфологическая дифференцировка у прокариот	Ср	5	10	Э1 Э2 Э3	
	<b>Раздел 3. 3. Рост и культивирование микроорганизмов</b>					
3.1	Рост и культивирование микроорганизмов	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
3.2	Типы питательных сред. Стерилизация питательных сред и посуды. Посев бактерий на плотные питательные среды	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	

3.3	Получение накопительной культуры картофельной палочки и азотфиксирующих бактерий	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
3.4	Выделение чистой культуры картофельной палочки	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
3.5	Рост и культивирование микроорганизмов	Ср	5	2	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 4. 4. Метаболизм прокариот</b>						
4.1	Метаболизм прокариот	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
4.2	Брожение пектиновых веществ	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
4.3	Нитрификация	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
4.4	Целлюлозоразрушающие бактерии	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
4.5	Метаболизм прокариот	Ср	5	10	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 5. 5. Генетика прокариот</b>						
5.1	Генетика прокариот	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
5.2	Генетика прокариот	Ср	5	8	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 6. 6. Разнообразие и систематика микроорганизмов</b>						
6.1	Разнообразие и систематика микроорганизмов	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
6.2	Разнообразие и систематика микроорганизмов	Ср	5	8	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 7. 7. Экология микроорганизмов</b>						
7.1	Экология микроорганизмов	Лек	5	2	Э1 Э2 Э3	
7.2	Микрофлора почвы	Лаб	5	4	Э1 Э2 Э3	
7.3	Микрофлора воды	Лаб	5	4	Э1 Э2 Э3	
7.4	Микрофлора воздуха	Лаб	5	4	Э1 Э2 Э3	
7.5	Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
7.6	Экология микроорганизмов	Ср	5	10	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 8. 8. Прикладная микробиология</b>						
8.1	Прикладная микробиология	Лек	5	3	Э1 Э2 Э3	
8.2	Анализ бактериальных препаратов	Лаб	5	2	Э1 Э2 Э3	
8.3	Прикладная микробиология	Ср	5	10	Э1 Э2 Э3	
<b>Раздел 9. Экзамен</b>						
9.1		Экзамен	5	27	Э1 Э2 Э3	

## 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

Основная:

1. Микробиология : учебник / О.Д. Сидоренко, Е.Г. Борисенко, А.А. Ванькова, Л.И. Войно. — Москва : ИНФРА-М, 2020. — 286 с. — (Высшее образование: Бакалавриат). - ISBN 978-5-16-009743-5. - Текст : электронный. - URL:

<https://znanium.com/catalog/product/1227524> (дата обращения: 20.06.2022).

2. Нетрусов, А. И. Микробиология: теория и практика в 2 ч. Часть 1 : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 315 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-03805-7. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/489076> (дата обращения: 20.06.2022).

3. Нетрусов, А. И. Микробиология: теория и практика в 2 ч. Часть 2 : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. — Москва : Издательство Юрайт, 2022. — 332 с. — (Высшее образование). — ISBN 978-5-534-03806-4. — Текст : электронный // Образовательная платформа Юрайт [сайт]. — URL: <https://urait.ru/bcode/490704> (дата обращения: 20.06.2022).

Дополнительная:

1. Кисленко, В. Н. Микробиология : учебник / В. Н. Кисленко, М. Ш. Азаев. — Москва : ИНФРА-М, 2019. — 272 с. — (Высшее образование: Бакалавриат). - ISBN 978-5-16-010250-4. - Текст : электронный. - URL: <https://znanium.com/catalog/product/1009634> (дата обращения: 20.06.2022).

2. Сахарова, О. В. Общая микробиология и общая санитарная микробиология : учебное пособие / О. В. Сахарова, Т. Г. Сахарова. — 2-е изд., испр. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 224 с. — ISBN 978-5-8114-3798-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/206942> (дата обращения: 20.06.2022).

<b>6.2. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети "Интернет"</b>	
Э1	Сайт ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора <a href="http://crie.ru">http://crie.ru</a>
Э2	Сайт Постнаука <a href="http://postnauka.ru/themes/microbiology">http://postnauka.ru/themes/microbiology</a>
Э3	Сайт НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи <a href="http://gamaleya.org">http://gamaleya.org</a>
<b>6.3.1 Перечень программного обеспечения</b>	
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	Adobe Reader XI (11.0.13) - Russian
6.3.1.5	Google Chrome
6.3.1.6	WinDjView
6.3.1.7	Mozilla Firefox
<b>6.3.2 Современные профессиональные базы данных и информационные справочные системы</b>	
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)
<b>6.4 Образовательные технологии</b>	
6.4.1	Активное слушание
6.4.2	Технологии развития критического мышления
6.4.3	Дискуссионные технологии (форум, симпозиум, дебаты, аквариумная дискуссия, панельная дискуссия, круглый
<b>7. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ (МОДУЛЯ)</b>	
<b>Аудитория</b>	<b>Оборудование</b>
5-324	микроскопы , термостат, центрифуга, холодильник «Чинар», электроплитки, стерилизатор, весы торсионные, светильники настольные, шкаф сушильный, баня комбинированная, переносной мультимедийный комплекс, переносной ноутбук, учебная мебель
5-318	мультимедийный комплекс, переносной ноутбук, учебная мебель
<b>8. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ</b>	
См. ПРИЛОЖЕНИЕ 2.	

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

**5.1. Оценочные материалы для проведения текущей аттестации**

Тестовые задания для подготовки к коллоквиуму

Тема: Метаболизм прокариот. Брожение.

1. Литотрофными называют

- а) организмы, которые в качестве доноров электронов используют неограниченные вещества;
- б) организмы, которые в качестве доноров электронов используют ограниченные вещества;
- в) организмы, которые нуждаются в микро- и макроэлементах;
- г) организмы, для которых источником энергии являются окислительно-восстановительные реакции.

2. Фототрофами называют

- а) организмы, использующие свет в качестве источника энергии;
- б) организмы, способные к автотрофии;
- в) организмы, содержащие хлорофиллы;
- г) организмы, использующие углекислый газ для синтеза органики.

3. В зависимости от особенностей конструктивного метаболизма организмы делят на

- а) автотрофов и гетеротрофов;
- б) хемотрофов и фототрофов;
- в) хемолитотрофов, хемоорганотрофов, фотолитотрофов и фотоорганотрофов;
- г) эубактерий и архебактерий.

4. К какой группе по способу существования относится большинство прокариот?

5. Заполните пропуски в таблице

Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Способ существования	Представители прокариот
			хемотрофавтотрофия	
свет	неорг. соединения	органич. соединения		
			фотоорганогетеротрофия	
свет	неорг. соединения	углекислый газ		
			хемотрофавтотрофия	
ок.-восст. реакции	органич. соединения	органич. соединения		

			фотоорганотрофия	
ок.-восст. реакции	неорг. соединения	органич. соединения		

6. Дайте определение термину «брожение»

7. Вещество может быть подвергнуто сбраживанию при условии, что оно

- а) имеет нейтральное или основное значение pH;
- б) содержит неполностью окисленные или восстановленные углеродные атомы;
- в) содержит сахара;
- г) имеет богатые энергией химические связи.

8. Брожение считают примитивным энергетическим процессом, поскольку

- а) конечные продукты содержат значительную часть энергии, заключенной в исходном субстрате;
- б) дает малый выход энергии;
- в) давно возникло;
- г) широко распространено в природе.

9. Каким образом решается проблема акцептора электронов при брожении?

10. Охарактеризуйте по следующей схеме пропионовокислое брожение

- исходный субстрат(ы)
- последовательность биохимических реакций
- условия протекания процесса, варианты развития процесса при изменении условий
- суммарный энергетический выход
- микроорганизмы, вызывающие данный процесс
- практическое значение этого брожения

11. Охарактеризуйте по следующей схеме гетероферментативное молочнокислое брожение

- исходный субстрат(ы)
- последовательность биохимических реакций
- условия протекания процесса, варианты развития процесса при изменении условий
- суммарный энергетический выход
- микроорганизмы, вызывающие данный процесс
- практическое значение этого брожения

12. Охарактеризуйте по следующей схеме спиртовое брожение

- исходный субстрат(ы)
- последовательность биохимических реакций
- условия протекания процесса, варианты развития процесса при изменении условий
- суммарный энергетический выход



- микроорганизмы, вызывающие данный процесс
  - практическое значение этого брожения
13. Охарактеризуйте по следующей схеме маслянокислое брожение
- исходный субстрат(ы)
  - последовательность биохимических реакций
  - условия протекания процесса, варианты развития процесса при изменении условий
  - суммарный энергетический выход
  - микроорганизмы, вызывающие данный процесс
  - практическое значение этого брожения

Вопросы для подготовки к коллоквиуму

Отчетная тема: Систематика прокариот. Группы прокариотных организмов.

1. К какой группе по Берджи (1993) относятся следующие роды? Дайте характеристику этой группе:

Вариант 1(1) *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanococcus*, *Methanospirillum*

Вариант 2(1) *Halobacterium*, *Halococcus*, *Haloferax*, *Natronococcus*

Вариант 3(1) *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Zygomonas*, *Azorobacter*, *Paracoccus*

Вариант 4(1) *Archangium*, *Cystobacter*, *Mellitangium*, *Stigmatella*, *Polyangium*, *Nannocystis*

Вариант 5(1) *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Vibrio*

Вариант 6(1) *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*

Вариант 7(1) *Spiroplasma*, *Acholeplasma*, *Mycoplasma*

Вариант 8(1) *Streptomyces*, *Kineospora*, *Streptoventricillum*, *Sporichthya*

2. Перечислите основных представителей, относящихся к группе:

Вариант 1(2) Эндоспорообразующие грамположительные организмы

Вариант 2(2) Почкующиеся бактерии и простекобактерии

Вариант 3(2) Экстремальные термофильные архебактерии

Вариант 4(2) Термофильные сульфатвосстанавливающие архебактерии

Вариант 5(2) Аэробные хемолитотрофы

Вариант 6(2) Сульфидогены

Вариант 7(2) Аноксигенные фототрофные бактерии

Вариант 8(2) Оксигенные фототрофы

Отчетная тема: Прокариоты и окружающая среда.

Возникновение и развитие экологии микроорганизмов

Аутэкология бактерий.

Земное тяготение, магнитные поля, излучения.

Температура.

Концентрация ионов водорода.

Водная активность.

Молекулярный кислород.

Питательные вещества.

Токсичные вещества.

Биотические факторы.

Формы взаимоотношений бактерий.

Взаимоотношения микроорганизмов с беспозвоночными животными.

Взаимоотношения с позвоночными.

Взаимоотношения с растениями.

6. Ареалы бактерий и бактериальные ценозы.

Тестовые задания для подготовки коллоквиуму

Отчетная тема: Метаболизм прокариот. Фототрофия.

1. Большинство цианобактерий относят к

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

2. Фотосинтезирующие прокариоты используют

- 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

5. В клетке фототрофов-прокариот обнаружены

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

6. Максимум поглощения в самой длинноволновой части спектра имеет

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

7. Фикобилипротеины найдены у

- 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:

- Тема: Генетика микроорганизмов.  
 14. Генетическая система бактерий  
 15. Репликация бактериальной ДНК  
 16. Перенос генетического материала у бактерий.  
 16.1. Конъюгация  
 16.2. Трансформация  
 16.3. Трансдукция: общая (неспецифическая), специфическая, abortивная.  
 17. Генетическая изменчивость бактерий.  
 17.1. Мутации.  
 17.2. Основные механизмы коррекции дефектов ДНК.  
 18. Фенотипическая изменчивость бактерий. Диссоциация.

Типовые контрольные задания и способ проведения текущей аттестации	Критерии оценивания и шкала оценивания
Темы рефератов: Формы взаимоотношений бактерий. Взаимоотношения микроорганизмов с беспозвоночными животными. Взаимоотношения бактерий с позвоночными. Взаимоотношения бактерий с растениями.	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, внутриспредметных, интеграционных); в) умение 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>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.).</p> <p>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.</p> <p>«Отлично» ставится, если выполнены все требования к написанию и защите реферата:</p> <p>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.</p> <p>«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.</p> <p>«Неудовлетворительно» – тема реферата не раскрыта, обнаруживается существенное непонимание проблемы или реферат не представлен.</p>
<p>Тесты коллоквиума:</p> <p>1. Уничтожение определенных групп патогенных микроорганизмов в окружающей среде:</p> <p>а) асептика</p> <p>б) стерилизация</p> <p>в) дезинфекция</p> <p>г) антисептика</p> <p>д) пастеризация</p>	<p>Правильно выбран вариант ответа – 1 балл</p> <p>Тест из 30 заданий,</p> <p>20 баллов – «удовлетворительно»</p> <p>25 баллов – «хорошо»</p> <p>30 баллов – «отлично»</p>

2. Система мероприятий, предупреждающих внесение микроорганизмов из окружающей среды в ткани:

- а) дезинфекция
- б) асептика
- в) стерилизация
- г) антисептика
- д) тиндализация

3. Полное уничтожение в объекте всех микроорганизмов:

- а) асептика
- б) антисептика
- в) стерилизация
- г) дезинфекция
- д) пастеризация

4. Методы стерилизации (верно все, к р о м е):

- а) кипячение
- б) автоклавирование
- в) прокаливание
- г) фильтрование через бактериальный фильтр
- д) ионизирующее облучение

5. Вещества, используемые для антисептики (верно все, кроме):

- а) перекись водорода
- б) спирт 96<sup>0</sup>
- в) раствор перманганата калия
- г) спиртовой раствор йода
- д) анилиновые красители

6. Вещества, используемые для дезинфекции (верно все, кроме):

- а) хлорамин 3%
- б) спирт 96<sup>0</sup>
- в) септабик
- г) жавелион
- д) аламинол

7. В печи Пастера стерилизуют:

- а) инструментарий
- б) жидкие среды
- в) одноразовые шприцы
- г) перевязочный материал
- д) резиновые перчатки

8. Назначение питательных сред в микробиологической практике (верно все, кроме):

- а) культивирование микроорганизмов
- б) определение иммунограммы

<p>в) изучение биохимических свойств микроорганизмов  г) сохранение музейных культур микроорганизмов  д) определение чувствительности культур к антибиотикам  9. Питательные среды для культивирования микроорганизмов выбирают исходя из:  а) антигенного строения  б) фаголизабельности  в) физиологии  г) морфологии  д) вирулентности  10. Требования, предъявляемые к питательным средам (верно все, к р о м е):  а) оптимальная концентрация водородных ионов  б) цвет  в) стерильность  г) наличие легкоусвояемых веществ  д) изотоничность  11. Среда, применяемые для выделения определенных видов микроорганизмов:  а) дифференциально-диагностические  б) плотные  в) элективные  г) жидкие  д) общедоступные</p>	
<p>Задания для самостоятельной работы:  Задание 1. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  Каковы пределы дифференциации у прокариот?  Что такое переживающие стадии и почему они переживают?  Что такое естественная систематика?  Задание 2. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  Имеется ли прямая связь между числом мутаций и временем?  Равнозначны ли понятия филогении и эволюции?  Можно ли построить всеобъемлющую классификацию по одному признаку?  Задание 3. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  С какими признаками коррелирует рибосомальный аппарат?  Какие организмы относятся к протеобактериям?  Могут ли протеобактерии полностью обеспечить деструкционную ветвь углеродного цикла?  Задание 4. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  Как распределяются характерные функции по филогенетическому дереву? Например, азотфиксация, термофилия, автотрофия, анаэробизм, гидрогенотрофия?  Почему цианобактерии составили отдельную ветвь, а не распределились по ветвям как другие фототрофы?</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>



Как коррелирует морфология с химической функцией у бактерий?  
 Задание 5. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  
 Можно ли рассматривать геном бактерий как мозаику свойств или же как ряд последовательных приобретений, и каким образом могли такие распределения возникнуть?  
 Представляет ли биоразнообразие бактерий упорядоченное множество или же систему?  
 Задание 6. Дайте развернутые ответы на следующие вопросы:  
 В каких случаях, описывая бактериальную культуру, можно ограничиться анализом клетки, а в каких – популяции?  
 Что должно присутствовать в среде, чтобы культура росла?  
 Что является первостепенным для понимания деятельности микроорганизмов в их среде обитания, а что второстепенным?

Лабораторная работа:  
 1. Приготовить препараты фиксированных окрашенных клеток из мясного и мучного настоев, дрожжевых грибов. Просмотреть приготовленные препараты, пользуясь объективом МИ-90 и зарисовать, обратив внимание на форму и взаимное расположение клеток.  
 2. Просмотреть различные типы колоний актиномицетов. Результаты наблюдений оформить в виде таблицы:  
**МОРФОЛОГИЯ КОЛОНИЙ АКТИНОМИЦЕТОВ НА КАА**

Колония	Размер	Поверхность	Цвет мицелия		Выделение пигмента в среду	Рисунок колоний
			воздушного	субстратного		
1.						
2.						
3.						

Препараты сделаны верно, рисунки оформлены правильно, таблица заполнена полностью – отлично  
 Препараты сделаны не совсем верно, рисунки неточные, таблица заполнена не совсем верно – хорошо  
 При приготовлении препаратов допущены ошибки, рисунки сделаны с ошибками, при заполнении таблицы допущены ошибки – удовлетворительно  
 Препараты не сделаны, рисунки не сделаны, таблица не заполнена – неудовлетворительно

**5.2. Оценочные материалы для проведения промежуточной аттестации**

**Вопросы для подготовки к экзамену:**

1. История возникновения микробиологии и вирусологии. Значение работ Пастера, Коха, Бейеринка, Клейвера.
2. История развития отечественной микробиологии и вирусологии.
3. Основные направления развития современной микробиологии.
4. Положение микроорганизмов в системе живых существ. Прокариотные и эукариотные микроорганизмы, их основные различия.
5. Принципы систематики и классификации бактерий.
6. Обзор существующих систем микроорганизмов, сходство и различия в подходах.

7. Система микроорганизмов Берги.
8. Спирохеты. Бактерии, образующие футляры. Почкующиеся и/или образующие придатки бактерии. Скользящие бактерии, необразующие плодовых тел. Миксобактерии.
9. Грамотрицательные аэробные (микроаэрофильные) палочки и коки. Факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки.
10. Риккетсии и хламидии.
11. Грамположительные кокки. Эндоспорообразующие палочки и кокки. Правильные, неспорообразующие грамположительные палочки.
12. Актиномицеты и микобактерии.
13. Микоплазмы.
14. Архебактерии.
15. Происхождение и пути эволюции микроорганизмов.
16. Форма и размеры микроорганизмов.
17. Строение и химический состав клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий, ее функции. Сферопласты, протопласты, L-формы бактерий.
18. Строение и химический состав поверхностных структур бактериальной клетки: капсулы, слизистые чехлы, жгутики, ворсинки, реснички.
19. Строение и химический состав цитоплазматической мембраны бактериальной клетки, ее функции.
20. Цитоплазма и органеллы, химический состав и функции.
21. Включения прокариотной клетки, их химический состав и значение.
22. Морфологическая дифференцировка в мире прокариот. Некультивируемые формы бактерий.
23. Спорообразование и эндоспоры.
24. Механизмы питания микроорганизмов.
25. Способы питания. Потребность микроорганизмов в макро- и микроэлементах.
26. Общая характеристика метаболизма прокариот. Ферменты бактерий.
27. Физиология прокариот: конструктивный обмен.
28. Физиология прокариот: особенности энергетического обмена бактерий.
29. Физиология прокариот: механизмы саморегуляции.
30. Рост и размножение бактерий.
31. Основные типы питательных сред, используемых для культивирования микроорганизмов.
32. Способы культивирования микроорганизмов. Особенности роста популяции бактерий.
33. Особенности генома бактерий. Типы репликации ДНК прокариот. Регуляция выражения генетической информации.
34. Формы обмена генетическим материалом у бактерий. Изменчивость бактерий.
35. Плазмиды. Классификация и значение.
36. Распространение микроорганизмов в биосфере, их роль в обеспечении динамического равновесия биосферы. Участие микроорганизмов в круговоротах веществ в природе.
37. Микрофлора почвы.
38. Микрофлора воды.
39. Микрофлора воздуха.
40. Формы взаимоотношений бактерий: конкуренция, синтрофия, антагонизм, паразитизм и хищничество.
41. Взаимоотношения бактерий с беспозвоночными животными.
42. Микрофлора позвоночных животных и человека.
43. Взаимодействие бактерий и растений.

44. Антибиотики: история изучения, механизмы действия, значение, микроорганизмы-продуценты.
45. Физиологически активные вещества, продуцируемые бактериями.
46. Патогенность бактерий. Факторы патогенности.
47. Субстратное фосфорилирование. Общая характеристика процессов брожения. Пути сбраживания углеводов.
48. Гомоферментативное молочнокислое брожение. Характеристика бактерий, вызывающих данный процесс.
49. Спиртовое брожение. Микроорганизмы, вызывающие данный процесс, их значение.
50. Пропионовокислое брожение, характеристика микроорганизмов, вызывающих данный процесс.
51. Маслянокислое брожение. Характеристика микроорганизмов, его вызывающих.
52. Альтернативные пути сбраживания углеводов.
53. Типы жизни, основанные на фотофосфорилировании. Пигменты фотосинтезирующих прокариот. Структурная организация фотосинтетического аппарата прокариот.
54. Пути использования CO<sub>2</sub> фотосинтезирующими прокариотами.
55. Группы фотосинтезирующих прокариот, их распространение в природе.
56. Зеленые бактерии.
57. Цианобактерии.
58. Галобактерии.
59. Молекулярный кислород как фактор эволюции прокариот. Токсические эффекты его производных и механизмы защиты прокариотных клеток.
60. Типы жизни, основанные на окислительном фосфорилировании. Механизм окисления органических соединений в процессе аэробного дыхания. ЦТК и глиоксилатный цикл. Особенности дыхательных цепей прокариот.
61. Сульфатное дыхание. Характеристика бактерий, вызывающих данный процесс, их роль в природе.
62. Нитратное дыхание и денитрификация. Микроорганизмы, восстанавливающие нитраты.
63. Карбонатное дыхание. Метанообразующие бактерии.
64. Использование микроорганизмами соединений серы и железа в качестве донора электрона. Серные и железобактерии.
65. Нитрификация и микроорганизмы, вызывающие данный процесс. Значение их в природе.
66. Окисление молекулярного водорода. Общая характеристика водородных бактерий. Карбоксидобактерии и использование в качестве донора электронов окиси углерода.
67. Разложение микроорганизмами азотосодержащих органических соединений.
68. Характер зависимости роста микроорганизмов от абиотических факторов.

<b>Планируемый образовательный результат (компетенция, индикатор)</b>	<b>Типовые контрольные задания и способ проведения промежуточной аттестации</b> <i>(2–3 примера заданий)</i>	<b>Критерии оценивания и шкала оценивания</b>
ОПК 1.3: Использует базовые знания ботаники, зоологии, микробиологии, экологии и почвоведения в профессиональной деятельности	Тесты: 1. Стафилококки – морфологическая форма бактерий, при которой а) деление клеток происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием пакетов (тюков) из 8 и большего числа особей б) деление клеток происходит в двух взаимно перпендикулярных	Правильно выбран вариант ответа – 1 балл Тест из 40 заданий

	<p>плоскостях с образованием тетрад</p> <p>в) деление клеток происходит в нескольких плоскостях с образованием объемных неправильной формы скоплений</p> <p>г) деление клеток происходит в одной плоскости с образованием цепочек различной длины</p> <p>2. Только у бактерий, являющихся носителями F-плазмид, обнаружены</p> <p>а) жгутики</p> <p>б) фимбрии</p> <p>в) донорные пили</p> <p>г) реснички</p> <p>5. Мезосомы образуются в результате деятельности</p> <p>а) цитоплазматической мембраны</p> <p>б) периплазматического пространства</p> <p>в) цитоплазмы</p> <p>г) клеточной стенки</p> <p>3. В цитоплазме бактериальной клетки отсутствуют</p> <p>а) рибосомы, эндоплазматический ретикулум</p> <p>б) лизосомы, карбоксисомы</p> <p>в) микротрубочки, движение</p> <p>г) движение, эндоплазматический ретикулум</p> <p>4. 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>5. К покоящимся формам морфологически дифференцированных клеток прокариот относят</p> <p>а) эндоспоры, экзоспоры, цисты, гормогонии,</p> <p>б) эндоспоры, экзоспоры, гетероцисты, бактериоиды</p> <p>в) эндоспоры, экзоспоры, цисты, акинеты</p> <p>г) эндоспоры, акинеты, цисты, гетероцисты</p> <p>6. Кortex споры состоит из</p> <p>а) пептидогликана с малым количеством поперечных сшивок</p> <p>б) кератиноподобного белка</p> <p>в) липопротеина</p> <p>г) пептидогликана с большим количеством поперечных сшивок</p> <p>7. В состав боковых тетрапептидов молекул пептидогликана у грамотрицательных бактерий входят</p> <p>а) D-аминокислоты, N-ацетилглюкозамин</p>	
--	--	--

	<p>б) диаминопимелиновая к-та, D-аминокислоты  в) диаминопимелиновая к-та, L- и D-аминокислоты  г) N-ацетилглюкозамин, диаминопимелиновая к-та</p> <p>8. Пучок жгутиков на одном конце клетки имеют  а) перитрихи  б) лофотрихи  в) амфитрихи  г) монотрихи</p> <p>9. Нить жгутика у бактерий построена из белка  а) пилина  б) флагеллина  в) миозина  г) актина</p> <p>10. В липидах мембран у архей  а) отсутствуют эфиры глицерина и жирных кислот  б) присутствуют эфиры глицерина и жирных кислот  в) отсутствуют нейтральные изопреноидные углеводороды  г) присутствуют эфиры сорбитола и высокомолекулярных спиртов</p>	
	<p>Дайте ответы на вопросы:</p> <p>1. В каких случаях, описывая бактериальную культуру, можно ограничиться анализом клетки, а в каких – популяции?</p> <p>2. Что должно присутствовать в среде, чтобы культура росла?</p> <p>3. Что является первостепенным для понимания деятельности микроорганизмов в их среде обитания, а что второстепенным?</p>	<p>Тема раскрыта с опорой на соответствующие понятия и теоретические положения, факты и примеры в полном объеме обосновывают выводы – 35-40 баллов</p> <p>Аргументация на теоретическом уровне неполная, смысл ряда ключевых понятий не объяснен, допущена фактическая ошибка, не приведшая к существенному искажению смысла – 20-34 баллов</p> <p>Терминологический аппарат непосредственно не связан с раскрываемой темой, допущены фактические и логические ошибки, свидетельствующие о непонимании темы – 1-19 баллов</p> <p>Ответ отсутствует – 0 баллов</p>

## 8. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

### 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 помещает 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 помещает на столик микроскопа и, пользуясь объективом 8х, устанавливает 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 посевы 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, генциановый фиолет; 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-фиолетовный 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 среды 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;  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$  - 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**

1. 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**

1. 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 на поверхности плотной среды проводят штрихи. После посева чашки помещают в термостат крышками вниз. Выросшие изолированные колонии отсеивают 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 гидролизуется 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-спораносцы клостридиального 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 пробирки 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 дифениламинол.

### **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

##### I. 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	левомицетин
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, анаэробноз, 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
<b>5 семестр</b>			
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 микроорганизмов 7. Экология микроорганизмов 8. Прикладная микробиология	Лабораторные работы	10
		Задания для самостоятельной работы	5
		Реферат	5
		Коллоквиумы	10
Итого:			60
Экзамен			40
Всего:			100

### 9. Сведения об обновлении рабочей программы дисциплины (или модуля)

№ п.п.	Обновленный раздел рабочей программы дисциплины	Описание внесенных изменений	Реквизиты документа, утвердившего изменения
1.			
2.			
3.			
4.			