

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению лабораторных работ
по дисциплине «**Общая биология и микробиология**»
для студентов направления подготовки /специальности
19.03.01 - Биотехнология
Направленность (профиль) Промышленная биотехнология

Лабораторная работа № 1

Организация работы в биологической лаборатории. Устройство светового микроскопа и правила работы с ним

Цель: изучить устройство и назначение оборудования микробиологической лаборатории, усвоить правила работы в ней; изучить сущность разных видов световой и электронной микроскопии, освоить методику работы с бинокулярным микроскопом.

Техника безопасности

Для получения достоверных результатов исследований, обеспечения личной безопасности и безопасности окружающих при выполнении лабораторных работ необходимо соблюдать следующие основные правила.

1. Каждый студент в лаборатории работает на постоянном месте, выполняя задания индивидуально. Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта.
2. На рабочем месте не должно быть посторонних предметов (в том числе портфелей и сумок).
3. В лаборатории нельзя находиться в верхней одежде, принимать пищу, курить; на столах не должно быть посторонних предметов, в т.ч. одежды и сумок.
4. Студент должен работать в чистом застегнутом халате, волосы должны быть подобраны под специальную шапочку или косынку.
5. Студент должен строго соблюдать общие правила техники безопасности работы с электроприборами, химическими веществами и спиртовками, а также специальные правила техники выполнения микробиологических работ.
6. Перед началом работы обязательно проверяют наличие и исправность приборов, посуды, спиртовых горелок и др. О замеченных недостатках, неисправностях сообщают преподавателю или лаборанту.
7. При работе с культурами микроорганизмов необходимо соблюдать все правила микробиологической техники. На пробирках, колбах, чашках Петри должна быть сделана надпись, содержащая название культуры, дату засева, фамилию студента и номер группы.
8. Все предметы, использованные при работе с культурами, должны быть обеззаражены либо обжиганием в пламени горелки (петли, иглы), либо погружены в дезинфицирующий раствор (предметные и покровные стекла, пипетки, шпатели).

9. В конце занятия студент должен привести в порядок рабочее место и сдать его лаборанту, вымыть руки с мылом.

Теоретическое обоснование

К оборудованию биологической лаборатории относятся: микроскопы, штативы с инструментами – бактериологическими петлями, иглами, пинцетами, скальпелями; стерильная посуда, в т.ч. чашки Петри, пипетки, пробирки.; спиртовки, штативы с капельницами, содержащими красители и иммерсионное масло; стеклянные кюветы со стеклодержателями; предметные и покровные стекла; электронные счетчики для подсчета колоний микроорганизмов; термостаты для создания оптимальных условий развития культур; холодильники для хранения биологических образцов; вспомогательные помещения - автоклавная и моечная.

Основными рабочими инструментами в лаборатории являются биологические световые микроскопы: монокулярный **микроскоп** «Микмед» (ЛОМО, Россия) и бинокулярный микроскоп . Primo Star (Carl Zeiss, Германия) (рис.1).

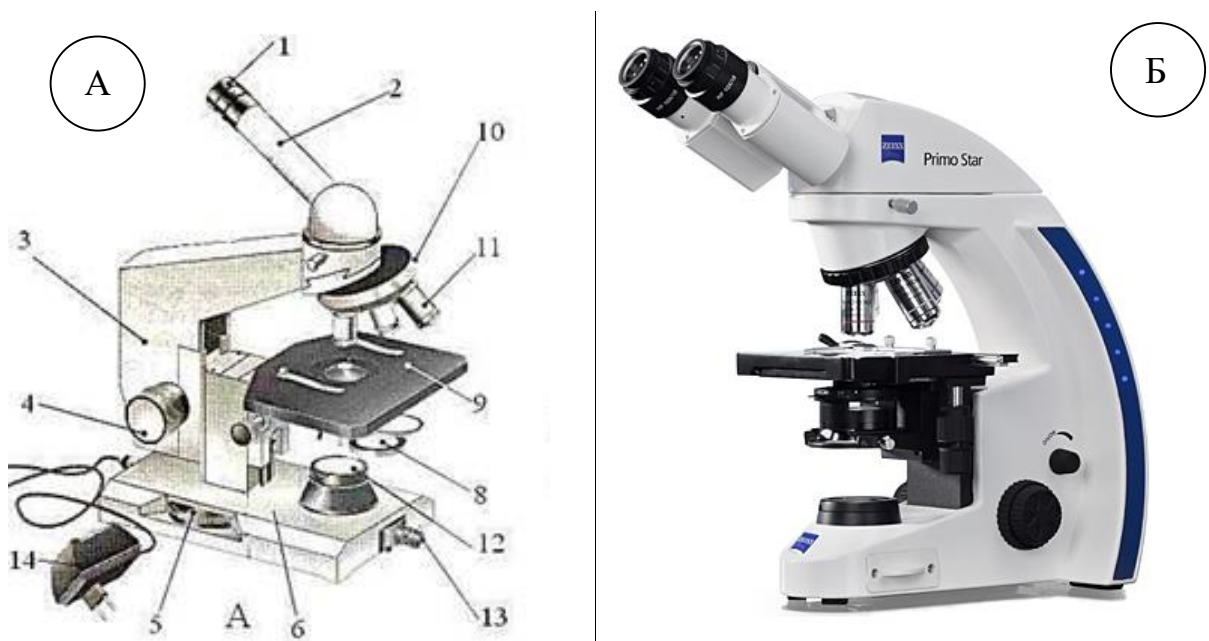


Рисунок 1.1 – Схемы световых микроскопов Микмед (А) и Primo Star (Б).

Световой микроскоп состоит из двух основных частей:

- ◆ механической, включающей штатив (основание, тубусодержатель), предметный столик с клеммами для закрепления предметного стекла, макрометрический (для перемещения тубуса и грубой настройки изображения) и микрометрический (для тонкой настройки) винты, вращающийся револьвер для крепления объективов, тубус и кронштейн конденсора;

♦ **оптической**, включающей в свою очередь две системы:

- осветительную, в которую входит **источник света** (лампочка или зеркало), **ирис-диафрагма** (диск, состоящий из тонких подвижных металлических пластин-сегментов и предназначенный для регулирования интенсивности освещения) и **конденсор** (система линз, которые собирают лучи света в пучок в плоскости просматриваемого препарата);
- наблюдательную, в которую входят объективы и окуляры.

Объектив является основной оптической частью микроскопа, состоит из системы линз, заключенных в металлическую оправу. Увеличение объектива зависит от фокусного расстояния передней (**фронтальной**) линзы, остальные линзы являются **коррекционными**, т.е. служат для устранения дефектов изображения оптических систем – сферической и хроматической аберраций. На оправе объектива указаны цифры, показывающие увеличение (обычно x8, x20, x40, x60, x90) и другие характеристики данного объектива (рис.1.2).



Рисунок 1.2 – Устройство объектива

Объективы бывают сухие (между фронтальной линзой и препаратом находится воздух) и иммерсионные (специальное иммерсионное масло). К иммерсионным относятся объективы с большим увеличением (x90), для которых необходима максимальная освещенность препарата. Для устранения светорассеивания применяют жидкости, показатель преломления которых близок к показателю стекла, например, кедровое или касторовое масло. Фокусное расстояние объективов большого увеличения ($1,9 \div 2,1$ мм)

позволяет исследовать объект, не поднимая объектив из капли иммерсионного масла, что создает однородную оптическую среду между линзой и препаратом (рис. 1.3).

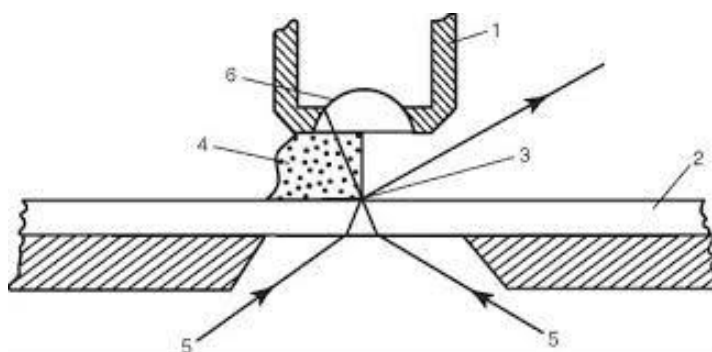


Рисунок 1.3 – Сравнение сухого и иммерсионного объектива (1 – объектив, 2 – предметное стекло. 3 – центр фокусировки, 4 – иммерсионное масло, 5 – лучи света, 6 – линза объектива)

Окуляр состоит из двух линз: глазной (верхней) и собирающей (нижней), увеличивающих изображение, данное объективом, в 7, 10 или 15 раз.

Общее увеличение микроскопа равно произведению увеличения объектива на увеличение окуляра: например, $100 \times 15 = 1500$ – максимальное увеличение оптического микроскопа.

Фокусное расстояние – рабочее расстояние между объективом и верхней частью наблюдаемого объекта. Чем больше увеличение объектива микроскопа, тем обычно меньше его фокусное расстояние.

Разрешающая способность микроскопа – минимальное расстояние между двумя точками рассматриваемого предмета, при котором они не сливаются в одну и предмет виден отчетливо (0,21 мкм).

Аппаратура и материалы: биологические световые микроскопы, готовые временные и постоянные биологические препараты; иммерсионное масло; бинокулярный микроскоп, готовые препараты, плакаты и атласы по теме «Виды микроскопии».

Порядок и методика выполнения работы

1. Записать, выучить и соблюдать основные правила техники безопасности работы в лаборатории.
2. Ознакомиться с оборудованием биологической лаборатории.
3. Изучить устройство светового микроскопа и заполнить таблицу.

Таблица 1.1 - Устройство светового монокулярного микроскопа

Часть, система	Устройство	Описание, назначение

4. Используя рисунок 1.1, зарисовать и подписать основные части микроскопа.

5. Записать в тетради и выучить последовательность действий при работе с микроскопом, обратив особое внимание на работу с иммерсионным объективом.

Правила работы с микроскопом БИОЛАМ и иммерсионным объективом:

- снять защитный чехол, поднять тубус, включить вилку в розетку;
- поместить препаратное стекло с каплей иммерсионного масла на предметный столик, закрепить его клеммами;
- проверить установку объектива вращением револьвера до щелчка;
- под контролем глаза (вид сбоку) с помощью макрометрического винта опустить тубус почти до соприкосновения фронтальной линзы с предметным стеклом;
- включить лампочку; глядя в окуляр, медленно поднимать тубус макрометрическим винтом до появления изображения; настроить резкость изображения с помощью микрометрического винта;
- с помощью ручек кронштейна конденсора и ирис-диафрагмы отрегулировать освещение;
- просмотреть препарат в разных полях зрения, не поднимая объектива и осторожно перемещая стекло в разных направлениях;
- закончив работу, выключить лампочку, отключить электричество, протереть салфеткой объектив, опустить объектив, надеть чехол.

5. Просмотреть под микроскопом при разных увеличениях и зарисовать в тетради готовые временные и постоянные препараты в соответствии с заданием преподавателя. **Зарисовка препарата проводится в круге диаметром 5 см или в квадрате 5х5 см. Справа от рисунка должна быть подпись, содержащая необходимую информацию о препарате (как правило, название объекта исследования, тип препарата, вид окраски, описание структуры и свойств рассматриваемого объекта), под рисунком указывается общее увеличение, при котором препарат просматривался.**

6. Изучить сущность разных видов световой и электронной микроскопии по плакатам и атласам, записать краткую информацию в тетради.

7. Сравнить световую и электронную микроскопию, результаты оформить в виде таблицы.

Содержание отчета и его форма

Отчет по лабораторной работе оформляется в специальной тетради и содержит: **дату, название, цель работы***, правила техники безопасности выполнения работ в биологической лаборатории; заполненную таблицу с подробным описанием всех частей микроскопа; определения общего увеличения и разрешающей способности микроскопа; схему устройства микроскопа; правила работы со световым микроскопом; описание сущности разных видов микроскопии; таблицу сравнения электронной и световой микроскопии; зарисовки просмотренных препаратов.

При оформлении работы сокращения не допускаются! Защита работы проводится в форме письменного опроса на следующем занятии.

Контрольные вопросы и защита работы

1. Основное оборудование биологической лаборатории и его назначение.
2. Правила техники безопасности в биологической лаборатории.
3. Устройство светового микроскопа (части и системы).
4. Устройство и назначение конденсора и ирис-диафрагмы.
5. Устройство и назначение объективов и окуляров.
6. Общее увеличение, фокусное расстояние и разрешающая способность микроскопа.
7. Правила работы со световым микроскопом.

Лабораторная работа № 2

Методы приготовления биологических препаратов

Цель работы: освоить методы приготовления и особенности изучения препаратов живых и фиксированных клеток.

Теоретическое обоснование

Выбор метода приготовления биологических препаратов зависит от цели и объекта исследования. В микробиологии чаще всего используют **фиксированные окрашенные препараты**, в которых клетки убиты и прикреплены к предметному стеклу.

Приготовление фиксированного окрашенного препарата включает 4 основных этапа.

- **Приготовление мазка.** На предметное стекло наносят каплю воды, стерильной бактериологической петлей вносят небольшое количество исследуемого материала, взятого из плотной питательной среды. Материал аккуратно перемешивают с каплей и равномерно, тонким слоем распределяют (размазывают) ее петлей на площади 2-3 см². При использовании жидких биологических объектов или культур, выращенных на жидких питательных средах, каплю воды не наносят.
- **Сушка.** Мазок высушивают на воздухе или в струе теплого воздуха над пламенем спиртовки.
- **Фиксация.** Полностью высушенный мазок фиксируют, проводя 3-4 раза через верхнюю часть пламени. При фиксации клетки погибают, чем обеспечивается безопасность работы и лучшее их прокрашивание, мазок прикрепляется к стеклу и при окрашивании не смывается. Иногда используют химическую фиксацию, например, обработку препарата спиртом.
- **Окраска.** На мазок наливают краситель, выдерживают определенное время (в зависимости от препарата и вида красителя), после чего сливают краску, промывают мазок водой, аккуратно обсушивают фильтровальной бумагой, досушивают мазок окончательно на воздухе и микроскопируют.

Фиксированный мазок может быть окрашен методом простой или сложной окраски. При **простой окраске** используется один краситель и выявляются морфологические свойства – форма, взаимное расположение и размер клеток. **Сложная окраска** препаратов заключается в последовательном окрашивании препарата несколькими красителями и позволяет дифференцировать виды клетки или выявить отдельные клеточные структуры. Примером сложной окраски является окраска по Граму, которая является важным этапом определения вида микроорганизма. Бактериальные клетки, способные образовывать с генцианвиолетом и йодом прочное, нерастворимое в спирте соединение фиолетового цвета, называются грамположительными. Другие после аналогичной обработки обесцвечиваются спиртом и называются грамотрицательными.

Для окраски препаратов применяют анилиновые красители в виде водных или спиртовых растворов. Различают основные, кислые и нейтральные красители. Окраска микроорганизмов – это сложный физико-химический процесс, связанный с явлениями адсорбции, капиллярности, химического сродства между красителем и веществом клетки. В микробиологии чаще всего используют основные красители, которые обладают наибольшим сродством к соединениям кислой природы, составляющим основу

бактериальной клетки. Некоторые красители обладают избирательностью по отношению к отдельным компонентам клетки (ядерному веществу, включениям) и применяются для их выявления. К наиболее часто употребляемым красителям относятся метиленовый синий (раствор Леффлера), фуксин, генцианвиолет, нейтральрот, сафранин, пикрин, гематоксилин-эозин, судан III. В качестве вспомогательных средств применяют растворы йода (Люголя), кислот и щелочей, спирт и др.

При изучении *живых* клеток используют препараты «*раздавленная капля*» и «*висячая капля*», которые позволяют изучать не только форму, размеры, взаимное расположение, но и подвижность клеток и организмов (рис2.1). При этом не следует путать собственное движение объекта с броуновским (беспорядочное колебательное) или механическим (с током жидкости, в одном направлении) движением.

Для приготовления препарата «раздавленная капля» на предметное стекло стерильной пипеткой наносят каплю жидкого биологического объекта или воды, в которую стерильной бактериологической петлей вносят исследуемый биологический объект (например, культуру микроорганизмов). Каплю накрывают покровным стеклом так, чтобы в жидкости не образовалось пузырьков воздуха. Избыток жидкости удаляют фильтровальной бумагой. Для приготовления препарата прижизненно окрашенных микроорганизмов к капле суспензии добавляют краситель, что позволяет дифференцировать живые и мертвые клетки. Для приготовления препарата «висячая капля» каплю исследуемого объекта наносят на покровное стекло и осторожно накладывают на него специальное предметное стекло с луночкой, края которой предварительно смазывают вазелином. Капля должна свободно уместиться в центре углубления. Препарат переворачивают и просматривают при разном увеличении.

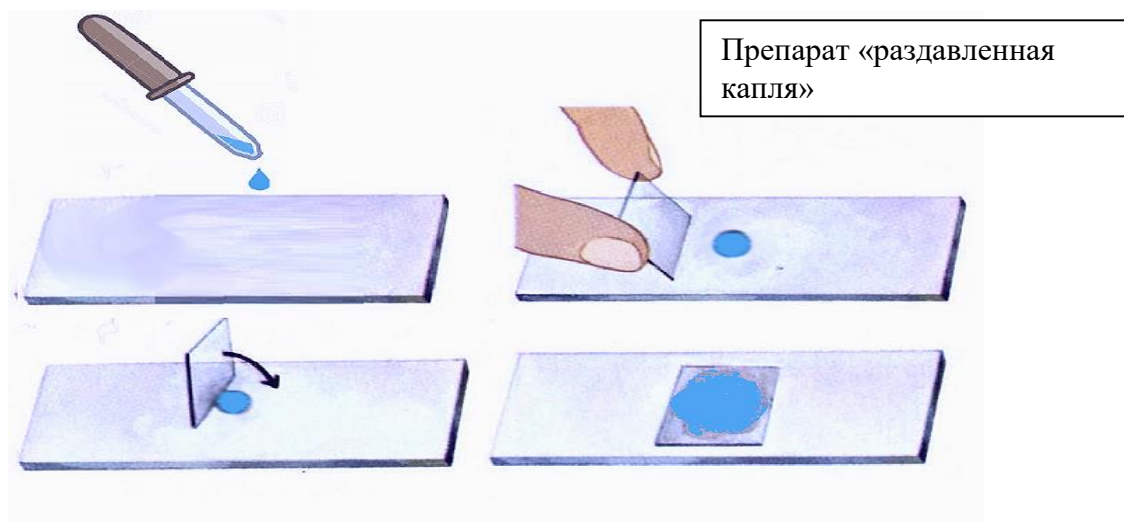
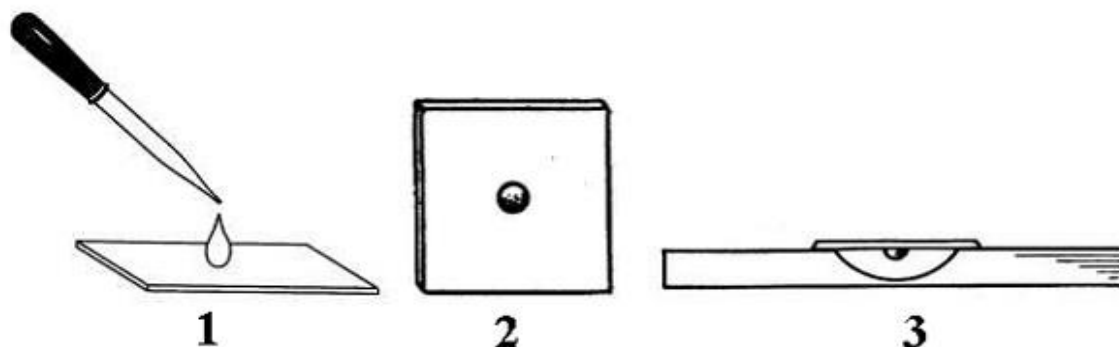


рис. Препарат "Висячая капля"



1-2: Нанесение суспензии или капли воды из водоема на покровное стекло.

Опустить на предметное стекло с лункой

Рисунок 2.1 – Методика приготовления препаратов живых клеток

Описанные выше операции применяются для приготовления **временных** препаратов. Для приготовления **постоянного** препарата на мазок наносят специальный клей (смолу), после чего сверху накладывают покровное стекло, придавливают его и удаляют излишки клея. Такой препарат может длительно храниться и использоваться.

Аппаратура и материалы: микроскоп, штатив с набором красителей, тушь, бактериологические петли, пипетки, предметные и покровные стекла, культуры микроорганизмов на плотных питательных средах (чашки Петри) и в жидких питательных средах (пробирки), вода из открытых водоемов; вспомогательное оборудование и материалы (спиртовки, стеклянные кюветы, емкости с дистиллированной водой, фильтровальная бумага и т.п.)

Техника безопасности

Так как в работе используется открытое пламя спиртовой горелки, следует особое внимание уделить правильной подготовке рабочего места для того, чтобы не было перекрестных движений рук над спиртовкой. Халаты должны быть застегнуты, волосы убраны под косынку или шапочку. Все работы с микроорганизмами ведутся только в стерильной атмосфере зажженной спиртовки! При работе с чашками Петри, в которых находятся колонии микроорганизмов, следует слегка приоткрывать, а не открывать крышку!

Порядок и методика выполнения работы: 1. Изучить назначение и сущность методов приготовления и окраски препаратов фиксированных и живых биологических объектов, описать их в тетради.

2. Приготовить фиксированные мазки из колоний микроорганизмов на плотных питательных средах в чашках Петри и из заквасок на жидких средах в пробирках, окрасить их простым методом, просмотреть под микроскопом при разном увеличении и зарисовать.

3. Приготовить неокрашенные препараты живых биологических объектов «раздавленная капля» или «висячая капля»; просмотреть под микроскопом и зарисовать.

Содержание отчета по лабораторной работе: подробное описание назначения, сущности методик и последовательности приготовления препаратов фиксированных и живых биологических объектов; зарисовки самостоятельно выполненных и просмотренных препаратов (правила зарисовки описаны в лабораторной работе №1).

Контрольные вопросы

1. Назначение и этапы приготовления фиксированного препарата с простой окраской.
2. Назначение и этапы приготовления препаратов живых клеток
3. Простая и сложная окраска препаратов.
4. Назначение и виды красителей.

Лабораторная работа № 3

Изучение строения клеток грибов и растений

Цель: изучить методы цитологии, строение эукариотических клеток грибов и растений.

Теоретическое обоснование

В современной цитологии — науке, изучающей строение клетки, используют следующие методы исследований:

- **микроскопические**, с использованием световой, темнопольной, люминесцентной, фазово-контрастной и электронной микроскопии;
- **цитохимические**, основанные на избирательной адсорбции определенных реактивов веществами цитоплазмы;
- **ауторадиографические**, основанные на введении в клетку радиоактивных изотопов фосфора, углерода и водорода и последующего обнаружения их на фотоэмульсионных материалах;
- **методы дифференциального центрифугирования**, основанные на разрушении клетки и разделении клеточных органелл по молекулярной массе;

- *хроматографические и электрофоретические* методы разделения и идентификации органических веществ клетки;
- *рентгеноструктурный анализ* – определение пространственного расположения молекул;
- *биохимические, генетические, иммунологические;*
- *культивирование* клеток на специальных питательных средах.

По характеру организации ДНК как материала наследственности и изменчивости все клетки делятся на 2 основные группы: прокариотические (доядерные) и эукариотические (истинно ядерные). Представители прокариот: бактерии, сине-зеленые водоросли. Представители эукариот: простейшие, грибы, растения и животные. Эукариотические клетки крупнее, лучше изучены, имеют более сложное строение. Все многоклеточные организмы состоят из клеток эукариотического типа.

Ультраструктура типичной растительной клетки представлена на рис. 3.1.

Классификация растительных тканей показана на рис. 3.2.

Ультраструктура типичной клетки дрожжевых грибов представлена на рис. 3.3. (расшифруйте сокращения самостоятельно).

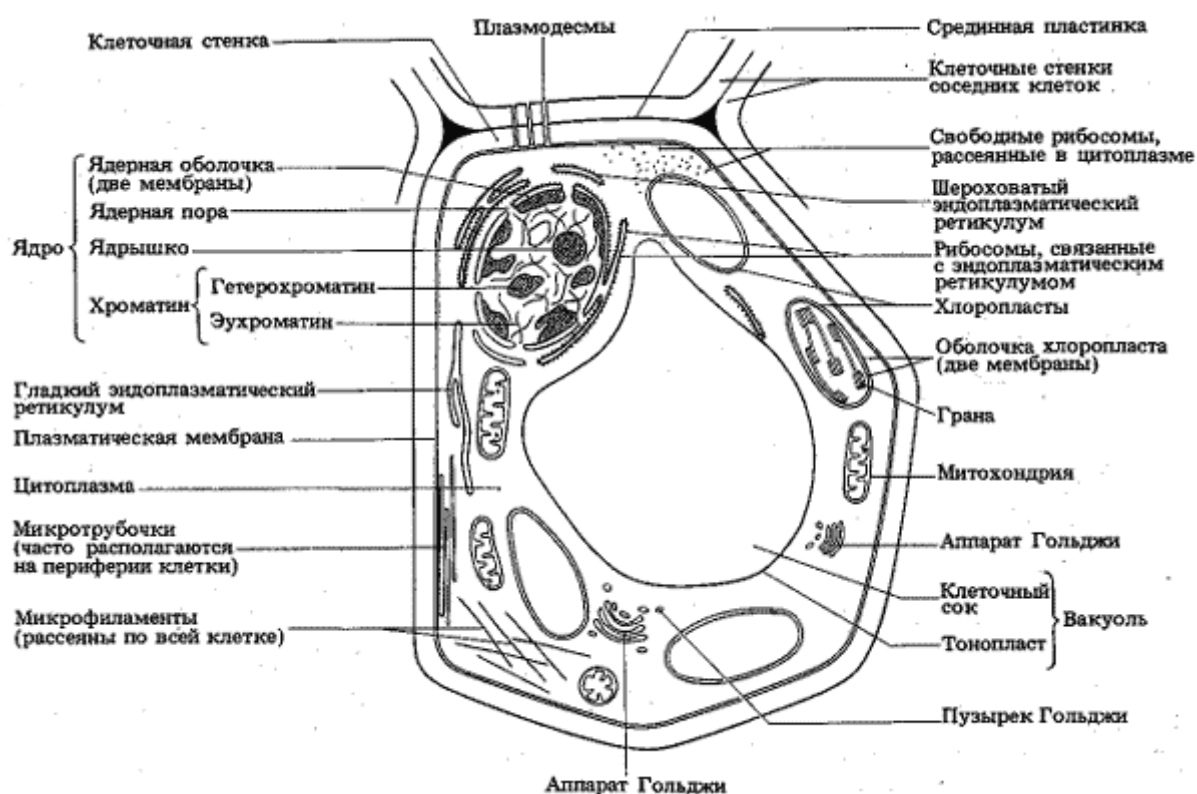


Рис. 3.1. – Ультраструктура растительной клетки

Одна из наиболее распространенных схем классификации тканей:

Образовательные ткани (меристемы):

- верхушечные (апикальные),
- боковые (латеральные),
- вставочные (интеркалярные),
- раневые (травматические).

Покровные (пограничные) ткани:

- эпидерма (эпидермис),
- перидерма,
- корка (ритидом),
- эпиблема (ризодерма),
- веламен,
- эндодерма,
- экзодерма.

Проводящие ткани:

- ксилема (древесина),
- флоэма (луб).

Механические ткани:

- колленхима,
- склеренхима.

Основные ткани:

- ассимиляционная паренхима (хлоренхима),
- запасаящая паренхима, аэренхима.

Выделительные (секреторные) ткани:

- наружные выделительные ткани,
- внутренние выделительные ткани.

Рис. 3.2. Классификация растительных тканей

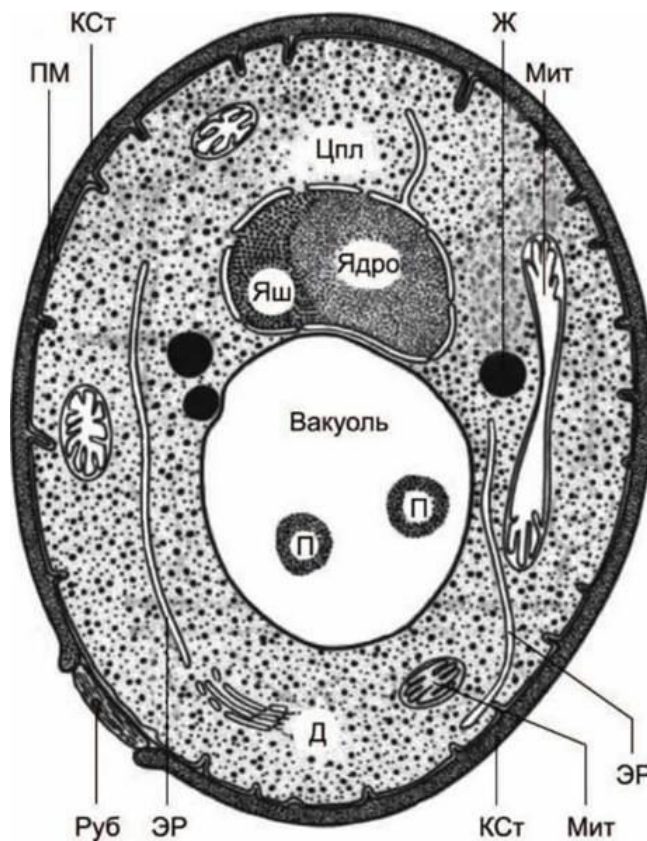


Рис. 3.3. Ультраструктура грибной (дрожжевой) клетки

Аппаратура и материалы: микроскоп, образцы растительных тканей (кожица лука, водоросли, листья растений), готовые гистологические препараты животных тканей; вспомогательные материалы для подготовки и просмотра под микроскопом биологических препаратов (предметные и покровные стекла, скальпели, иммерсионное масло, фильтровальная бумага).

Техника безопасности

При выполнении работы следует соблюдать правила работы с микроскопом и приготовления биологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Ознакомиться с методами изучения строения клетки.
2. Приготовить препараты типа «раздавленная капля» используя образцы растительных тканей. Изучить строение растительных эукариотических клеток на примере клеток кожицы лука, водорослей и др. под микроскопом, зарисовать препараты и подписать увиденные структурные компоненты клеток и тканей.
3. Изучить микроструктуру растительной клетки и зарисовать подробную схему ее строения в тетради.
4. Приготовить препараты клеток грибов (дрожжей), просмотреть под микроскопом, зарисовать и подписать виденные структурные компоненты.
5. Изучить и зарисовать ультраструктуру дрожжевой клетки.

Содержание отчета по лабораторной работе: методы исследования строения клетки, зарисовки ультраструктуры растительных и грибных клеток; схема классификации растительных тканей; зарисовки препаратов растительных и грибных клеток с подписями видимых под микроскопом структур.

Контрольные вопросы

1. Основные этапы истории открытия клеточного строения и развития клеточной теории.
2. Современные методы исследования строения клетки.
3. Типы клеточной организации. Принцип компартментации в цитологии.
4. Химический состав и основные функции веществ клетки.
5. Общие обязательные структурные компоненты клеток.
6. Элементарные структурные компоненты растительной клетки.
7. Элементарные структурные компоненты грибной клетки.
8. Строение и функции ядра.
9. Строение и функции цитоплазматической мембраны (плазмалеммы).
10. Виды и функции пластид. Строение и функции хлоропласта.

Лабораторная работа № 4

Изучение строения клеток и тканей животных

Цель: изучить методы гистологии, строение эукариотических клеток и тканей животных, сравнить строение разных типов клеток.

Теоретическое обоснование

Ткань (лат. *textus*, греч. *histós*) — совокупность клеток и межклеточного вещества, объединённых общим происхождением, строением и выполняемыми функциями. Строение тканей живых организмов изучает наука гистология. Совокупность различных и взаимодействующих тканей образуют органы.

Гистология (от греч. *ístós* «ткань» + *lógos* «знание, слово, наука») — раздел биологии, изучающий строение, жизнедеятельность и развитие тканей живых организмов.

Ультраструктура животной клетки представлена на рис. 4.1.



Рис. 4.1. – Ультраструктура животной клетки

Приготовление гистологического препарата

После забора материала выполняется его подготовка к исследованию, включающая в себя ряд этапов:

1. Фиксация (от лат. *fixatio* — закрепление) — фрагмент ткани обрабатывают с помощью жидкости-фиксатора, в роли которого чаще всего выступает формалин, реже — спирты, пикриновая кислота и др. Такая обработка предотвращает распад клеток и разрушение структуры ткани под действием собственных ферментов клеток и процессов гниения.
2. Проводка — процесс дегидратации (обезвоживания) фрагмента ткани и пропитки его парафином. Этот этап обеспечивает уплотнение ткани, которое, в свою очередь, необходимо для получения срезов (если ткань будет излишне мягкой, то при микротомировании она будет «сминаться», образуя складки, разрывы и другие артефакты, делающие её непригодной к изучению).
3. Заливка — процесс создания блока, достаточно твёрдого, чтобы быть пригодным для резки (микротомирования). Выполняется путём заливания фрагмента ткани жидким парафином, целлоидином, пластмассой или специальными средами для заливки. Затем залитую ткань остужают до затвердевания блока.
4. Резка, или микротомирование, представляет собой изготовление тонких срезов на специальном приборе — микротоме. Толщина срезов, предназначенных для световой микроскопии, не должна превышать 4—5 мкм, для электронной — 50—60 нм.
5. Окрашивание срезов позволяет выявить структуру ткани за счёт неодинакового химического сродства различных элементов ткани к гистологическим красителям. Например, окраска гематоксилином и эозином позволяет выявить кислые структуры ткани, такие как ДНК и РНК, за счёт их связывания с гематоксилином, имеющим щелочную реакцию, и цитоплазму клеток, которая связывается с эозином.
6. Заключение срезов представляет собой помещение окрашенного среза, монтированного на предметном стекле, под покровное стекло с использованием среды для заключения, имеющей коэффициент преломления, близкий к таковому у стекла — канадский бальзам, полистирол, специальные среды для заключения.

Ткани животных, в отличие от тканей растений, содержат много межклеточного вещества. Существуют 4 основных типа животных тканей: эпителиальная (покровная), мышечная, соединительная, нервная (см. таблицу ниже).

ТКАНИ ЖИВОТНЫХ

Особенности	Где находятся	Функции
ЭПИТЕЛИАЛЬНАЯ		
Клетки плотно прилегают друг к другу, межклеточное вещество почти отсутствует	Покровы тела, выстилает поверхность желудка, кишечника, образует железы (слюнные, потовые) Разновидности: - покровный эпителий - железистый эпителий	Защита и выделение секрета Свойства: слабо развито межклеточное вещество
СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ		
Межклеточного вещества много (плотное, рыхлое, жидкое), клетки располагаются группами	Скелет, жир, хрящи, кровь, оболочки внутренних органов Разновидности: - кровь и лимфа - костная - хрящевая - жировая - рыхлая и плотная соединительные ткани	Опора, защита, поддержание формы тела, кроветворение, теплоизоляция, энергетическая Свойства: хорошо развито межклеточное вещество
МЫШЕЧНАЯ		
Гладкая мышечная – клетки одноядерные, веретёновидные, сокращаются медленно. Поперечно-полосатая мышечная – клетки многоядерные, имеют поперечнополосатую исчерченность, быстро сокращаются.	Разновидности: -гладкая мышечная – внутренние органы, поперечно-полосатая мышечная – скелетные мышцы, сердечная мышечная - сердце	Образование опорно-двигательного аппарата, сердца, стенок внутренних сосудов. Свойства: возбудимость и сократимость
НЕРВНАЯ		
Нервные клетки (нейроны) имеют множество коротких отростков (дендриты) и один длинный отросток (аксон). Клетки – спутники (нейроглии). Межклеточное вещество	Нервы, нервные узлы, головной и спинной мозг	Передача нервного импульса, связь с внешней средой Свойства: возбудимость, проводимость

Аппаратура и материалы: микроскоп, готовые гистологические препараты животных тканей; вспомогательные материалы для подготовки и просмотра под микроскопом биологических препаратов (предметные и покровные стекла, скальпели, иммерсионное масло, фильтровальная бумага).

Техника безопасности

При выполнении работы следует соблюдать правила работы с микроскопом и приготовления биологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить микроструктуру животной клетки и зарисовать подробную схему ее строения в тетради.
2. Ознакомиться с определением ткани, классификацией животных тканей, методами гистологии, описать их в тетради.
3. Изучить готовые гистологические препараты и зарисовать строение различных животных эукариотических клеток и тканей по индивидуальному заданию преподавателя. Под рисунками дать краткую информацию о функциях основных видов тканей.
4. Провести сравнительный анализ строения разных типов клеток и заполнить таблицу 4.1.

Таблица 4.1 – Строение про- и эукариотических клеток

Признаки	Прокариотические клетки	Эукариотические клетки	
		Растительные	Животные

Содержание отчета по лабораторной работе: зарисовки ультраструктуры животных клеток, классификации тканей, гистологических препаратов со всеми необходимыми сопровождающими подписями; заполненная таблица сравнительной оценки строения разных типов клеток.

Контрольные вопросы

1. Строение и функции эндоплазматической сети.
2. Строение и функции рибосом.
3. Строение и функции комплекса Гольджи.
4. Строение и функции митохондрий.
5. Строение, виды и функции лизосом.
6. Виды и функции клеточных включений.
7. Сравнительный анализ строения клеток разных типов.

Лабораторная работа № 5

Методы количественной оценки модификационной изменчивости признаков

Цель: изучить биометрические методы количественной оценки модификационной (фенотипической) изменчивости признаков.

Теоретическое обоснование

Организмы наследуют не признак как таковой, а способность формировать определенный фенотип в конкретных условиях среды. Норма реакции – пределы, в которых возможно варьирования признаков у данного генотипа. Разнообразие фенотипов, возникающих у организмов под влиянием условий среды, называют модификационной изменчивостью.

Различают качественные и количественные характеристики изменчивости. Для их оценки делают достаточно большую случайную (без специального подбора) выборку особей из однородного материала, т.к. всю группу объектов исследования (генеральную совокупность) изучить трудно или невозможно.

Для объективной оценки меняющихся признаков используют статистические методы. Отдельные значения признаков, которые варьируют, называют вариантами (V). Число, которое обозначает сколько раз повторяется варианта, называется частотой встречаемости варианты (P). Сумма всех частот равна количеству объектов в ряду (n).

Графическим выражением модификационной изменчивости признака является вариационная кривая (зависимость частоты встречаемости признака от варианты признака). Средняя величина признака рассчитывается по формуле:

$$M = \frac{\sum VP}{n}$$

Для характеристики варьирования совокупности объектов используется показатель среднеквадратичного отклонения σ , который рассчитывается по формуле:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (V - M)^2}{n}}$$

Определяемый признак при варьировании, как правило, отклоняется от среднего арифметического не больше, чем на 3σ , т.е. амплитуда варьирования признака при нормальном распределении вероятностей составляет от -3σ до $+3\sigma$.

Аппаратура и материалы: биологические объекты – семена фасоли, тыквы, желуди, плоды клена, каштана, клубни картофеля или топинамбура, листья деревьев, коллекции раковин и т.п.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучите теорию модификационной изменчивости и ее количественной оценки с помощью математических методов. Запишите основные положения в тетради
2. Рассмотрите биологические объекты, определите параметры, характеризующие их модификационную изменчивость. Измерьте выбранный параметр для 10÷20 объектов.
3. Составьте вариационный ряд, рассчитайте среднюю величину признака и среднеквадратичное отклонение. Запишите полученные данные в виде таблицы 5.1.

Таблица 5.1 – Данные вариационного ряда (объект -..., параметр - ...)

Общее число вариант ряда, n	Варианта, V	Частота встречаемости вариант, P	Средняя величина признака, M	Среднеквадрати чное отклонение

4. Постройте вариационную кривую – графическое выражение изменчивости признака. Отметьте на графике среднюю величину признака.

Содержание отчета по лабораторной работе: теоретические положения модификационной изменчивости признаков биологических объектов и ее количественной оценки с помощью математических методов; данные измерений и расчетов в виде таблицы и графика.

Контрольные вопросы

1. Генотип и фенотип. Норма реакции. Гомеостаз.
2. Наследственность и изменчивость. Формы и виды изменчивости.
3. Половое и бесполое размножение. Виды и формы.
4. Механизмы клеточного деления: виды, принципиальное отличие.
5. Фазы и биологическое значение митоза.
6. Фазы и биологическое значение мейоза.
7. Сравнение результатов и биологического значения митоза и мейоза.

Лабораторная работа № 6

**Изучение закономерностей наследственности
(законы Менделя, взаимодействие аллельных генов)**

Цель: изучить законы Менделя и научиться применять их при решении задач на различные типы и варианты наследования признаков.

Теоретическое обоснование

При мейозе в каждой гамете оказывается только одна из гомологичных хромосом с одним из аллельных генов, поэтому:

- в формулах генотипов родителей каждый признак обозначают двумя генетическими символами, в гаметах – одним;
- если ген представлен парой одинаковых аллелей, то все гаметы несут один и тот же аллель;
- если ген представлен парой разных аллелей, то половина гамет несет один аллель, половина – другой;
- если рассматривается несколько пар генов, определяющих признак, то каждая гамета несет несколько аллелей, но строго по одному из каждой пары;
- частота возможных комбинаций определяется на основе теории вероятности, а число ожидаемых типов гамет можно определить по формуле $x=2^n$, где n – число гетерозиготных признаков.

Аллель – парные гены в гомологичных хромосомах, отвечающие за развитие одного и того же признака.

Первый закон Менделя (закон единообразия гибридов первого поколения): при скрещивании гомозиготных особей, отличающихся друг от друга по одной паре альтернативных признаков, все потомство в первом поколении единообразно как по фенотипу, так и по генотипу.

Второй закон Менделя (закон расщепления): при скрещивании двух гетерозиготных особей (гибридов), отличающихся одной парой альтернативных признаков, в потомстве происходит расщепление в отношении 3:1 по фенотипу и 1:2:1 по генотипу.

Третий закон Менделя (закон *независимого* комбинирования): гены различных аллельных пар и соответствующие им признаки передаются потомству независимо друг от друга, комбинируясь во всех возможных сочетаниях (справедлив для аллельных генов, расположенных в различных гомологичных хромосомах).

! **Анализирующее** скрещивание - скрещивание особи с неизвестным генотипом проводится с особью, гомозиготной по рецессивному признаку.

При взаимодействии аллельных генов возможны разные варианты:

- **полное доминирование** (аллель, который в гетерозиготе подавляет действие альтернативного аллеля, называют доминантным геном, обозначается большой буквой – А, В, С и т.д.);
- **рецессивность** (аллель, не проявляющий свое действие в гетерозиготе, называют рецессивным геном и обозначают прописными буквами – а, b, с и т.д.);
- **неполное доминирование** - взаимодействие двух аллелей, дающее в гетерозиготе промежуточный эффект;
- **кодоминантность** – независимое взаимодействие аллелей в гетерозиготе, одинаковая функциональная активность.

Задача 1. Определите типы гамет, которые образуются у особей со следующим генотипом: ААВВ; АаВвДд; АаВВДдРрКК. Определите гомозиготны или гетерозиготны эти особи.

Задача 2. Мендель установил, что пазушное положение цветов – признак, доминантный по отношению к их верхушечному положению. Каковы типы и соотношение гамет и потомства в каждом из следующих скрещиваний: АА х аа; АА х Аа; Аа х аа; Аа х Аа?

Используя результаты решения задачи, заполните таблицу (доля каждого генотипа или фенотипа указывается в процентах).

Таблица 6.1 – Варианты моногенного наследования признаков

♂	♀	Генотип потомков	Фенотип потомков	Закон Менделя

Задача 3. Синдактилия (сращивание пальцев) наследуется как доминантный аутосомный признак. Какова вероятность рождения детей со сросшимися пальцами в семье, где:

- а) один из родителей гетерозиготен по анализируемому признаку, а другой имеет нормальное строение пальцев;
- б) один из родителей гомозиготен, другой имеет нормальное строение пальцев;
- в) один из родителей гомозиготен, другой – гетерозиготен;
- г) оба родителя гетерозиготны.

Задача 4. (на анализирующее скрещивание). Генетик, работающий с морскими свинками, поставил два скрещивания между черной особью и альбиносом с различными животными.

Каковы возможные варианты наследования признаков и возможные генотипы родителей в опытах, где в потомстве оказалось:

- 12 черных свинок;
- 6 черных и 5 альбиносов.

Задача 5. При скрещивании серой и черной мыши получено 30 потомков, из них 14 были черными. Известно, что серая окраска у мышей доминирует над черной. Каков генотип родительского поколения?

Задача 6 (на построение родословной). Голубоглазый мужчина, оба родителя которого имели карие глаза, женился на кареглазой женщине, отец у которой имел карие глаза, а мать – голубые. От этого брака родился голубоглазый сын. Определите генотипы всех упомянутых лиц и составьте схему их родословной, учитывая, что к доминантным признакам относятся карие глаза и темные волосы.

Задача 7 (на группу крови). Мать со II группой крови имеет ребенка с I группой крови.

Пользуясь данными таблицы, установите возможные группы крови отца.

Группа крови	Генотип (аллели)
I	ОО
II	АА или АО
III	ВВ или ВО
IV	АВ

Задача 8. В родильном доме перепутали двух мальчиков. Родители одного из них имеют I и II группу крови, второго – II и IV. Дети имеют I и IV группу крови. Определите, кто чей сын.

Задача 9. Составьте родословную своей или любой другой семьи по одному из признаков – цвет глаз, волос или группа крови.

Задача 10 (неполное доминирование). Цветки ночной красавицы, гомозиготной по доминанте, имеют красный цвет, по рецессивному гену – белый, гетерозиготные особи – розовую окраску цветка. Определите, какой цвет будут иметь цветки растений, получаемых при скрещивании растений с красными и белыми цветами в первом и втором поколении.

Задача 11 (на сцепленное с полом наследование). ! Обозначение половых хромосом: самки ♀ XX, самцы ♂ XY. С полом сцеплена гемофилия и дальтонизм (как рецессивный признак X^h , норма – доминанта X^H).

Мать имеет нормальную свертываемость крови и является гомозиготной по этому признаку. Отец страдает гемофилией. Какова вероятность рождения детей, больных гемофилией? Как изменится вероятность, если мать – носитель гена гемофилии, отец – здоров?

Задача 12. Женщина, у отца которой был дальтонизм, вышла замуж за мужчину без зрительных аномалий. Какова вероятность того, что в этой семье родится ребенок с дальтонизмом ?

Задача 13. Гипоплазия эмали выражается в резком истончении эмали и изменении цвета зубов. Наследуется как доминантный, сцепленный с X-хромосомой признак. Мужчина, страдающий гипоплазией эмали, женился на здоровой по этому признаку женщине. Определите вероятность рождения детей, страдающих вышеуказанным дефектом эмали.

Задача 14. У кошек черная окраска определяется геном В, рыжая – геном в. Гетерозиготный генотип проявляется в т.н. черепаховой (пятнистой, пестрой) окраске. Признак сцеплен с полом в X-хромосоме. От черной кошки родились один черепаховый и несколько черных котят. Определите фенотип и генотип отца, пол котят.

Задача 15. У морской свинки вихрастая шерсть доминирует над гладкой, а черная окраска – над белой. Какое расщепление по фенотипу можно ожидать у гибридов второго поколения, если скрестить между собой гибридов, полученных от скрещивания гомозиготной белой вихрастой самки с гомозиготным черным гладким самцом.

! При решении таких задач используются решетки Пеннета: в верхней строке пишут гаметы одной родительской особи, в левом столбце – гаметы другой, в ячейках записывают соответствующие генотипы потомков, получающиеся при скрещивании, затем анализируют фенотипы.

Задача 16. У человека близорукость доминирует над нормальным зрением, а карие глаза – над голубыми. У голубоглазой близорукой женщины от брака с кареглазым мужчиной с нормальным зрением родился кареглазый близорукий ребенок. Можно ли точно установить генотипы ребенка и родителей ?

Задача 17. В одной семье у кареглазых родителей имеется четверо детей. Двое голубоглазых имеют I и IV группу крови, двое кареглазых - II и III. Определите генотипы родителей. Какова вероятность рождения следующего ребенка кареглазым с I группой крови ? Решите задачу двумя способами - с помощью решетки Пеннета и пользуясь правилом:

! Чтобы вычислить частоту данного генотипа в потомстве родителей, отличающихся определенным числом независимо наследуемых генов, нужно подсчитать вероятность соответствующего генотипа для каждой пары генов отдельно, а затем перемножить полученные вероятности.

Задача 18*. У мухи дрозофилы отсутствие глаз – рецессивный признак, а нормальное строение крыльев доминирует над зачаточными крыльями. При скрещивании мухи получено потомство: 3/8 с нормальными глазами и крыльями, 3/8 безглазые с нормальными

крыльями, $1/8$ с нормальными глазами и зачаточными крыльями; $1/8$ безглазые с зачаточными крыльями. Определите генотип родителей и проверьте правильность решения задачи по решетке Пеннета.

Задача 19. В семье родился голубоглазый темноволосый ребенок, похожий по этим признакам на отца. Мать – кареглазая темноволосая, бабушка по матери – голубоглазая темноволосая, дедушка – кареглазый светловолосый; бабушка и дедушка по отцовской линии – кареглазые темноволосые. Составьте родословную описанной семьи и определите вероятность рождения в этой семье голубоглазого светловолосого ребенка.

Задача 20. В семье, где мать имеет третью группу крови и голубые глаза, а отец – третью группу крови и карие глаза, родился голубоглазый сын с первой группой крови. Установите генотипы родителей и определите возможные варианты у детей групп крови.

Задача 21. Составьте родословную своей или любой другой семьи по двум любым признакам.

Содержание отчета: законы Менделя, виды и формы наследования при взаимодействии аллельных генов; решенные задачи.

Контрольные вопросы

1. Химический состав клетки.
2. История развития и методы генетики
3. Химическое строение и уровни организации ДНК – материала наследственности и изменчивости.
4. Генный уровень организации ДНК. Свойства гена

Лабораторная работа № 7

Изучение закономерностей наследственности (законы Моргана, взаимодействие неаллельных генов)

Цель: изучить законы Моргана и научиться применять их при решении задач на различные типы и варианты наследования признаков.

Теоретическое обоснование

Закономерности сцепленного наследования описываются **законом Моргана**: гены, локализованные в одной хромосоме, занимают определенное место, называемое локусом, и наследуются сцепленно, причем сила сцепления обратно пропорциональна расстоянию между генами (возможно образование кроссоверных гамет с рекомбинантными генами).

За единицу расстояния между генами принята **морганида** – соответствует образованию 1% кроссоверных гамет.

При взаимодействии неаллельных генов возможны следующие формы наследования:

- **комплементарность** – возникновение нового признака при наличии двух доминантных неаллельных генов, каждый из которых либо не имеет самостоятельного проявления, либо по-разному влияет на развитие признака в разных генотипах;
- **эпистаз** – при взаимодействии двух независимых доминантных генов из разных пар аллелей один из них (супрессор) полностью подавляет действие другого;
- **полимерия** – взаимодействие неаллельных генов, при котором различные гены оказывают действие на один и тот же признак, усиливая его проявление;
- **плейотропия** – ген оказывает влияние на несколько признаков.

Задача 1 (на эпистаз). У лошадей ген серой окраски (С) подавляет действие гена вороной окраски (В) и рыжей масти (в). Скрещены между собой две гетерозиготные серые лошади. Определите расщепление признаков в потомстве.

Задача 2 (на комплементарность). У разводимых в звероводческих хозяйствах норок окраска меха определяется двумя парами несцепленных неаллельных генов. Доминантные гены обоих аллелей определяют коричневую окраску. Рecessивные аллели обеих пар, так же как и один доминантный в отсутствие другого доминантного гена, определяют платиновую окраску меха. Какое потомство получится при скрещивании двух гетерозиготных по обеим парам генов норок?

Задача 3 (на полимерию). Вес человека контролируется несколькими парами неаллельных генов, которые взаимодействуют по типу полимерии. Если пренебречь факторами среды и условно ограничиться лишь тремя парами генов, то можно допустить, что в какой-то популяции среди людей одного роста лица, имеющие наиболее низкий вес (50 кг) являются recessивными гомозиготами, а лица, имеющие наиболее высокий вес (110 кг) – доминантными гомозиготами. Определите вес людей данного роста, гетерозиготных по трем парам генов. Если бы Вы принадлежали к этой популяции, какой набор генов Вы бы имели?

Задача 4. При скрещивании гороха желтого цвета с коричневым в первом поколении все потомство было единообразным по фенотипу – весь горох был красного цвета. При скрещивании во втором поколении получено расщепление: 183 горошин были красного

цвета, 59 – желтого, 61 – коричневого, 20 – зеленого. Установите генотип родительских особей и зеленого гороха. Какой тип наследования признаков наблюдается в этом случае?

! При решении этой задачи следует учесть, что одна доминанта в отсутствие другой дает желтую или коричневую окраску, а две доминанты в генотипе – красную.

Задача 5. Рост человека контролируется несколькими парами несцепленных генов. Если пренебречь факторами среды и условно ограничиться тремя парами генов, то можно допустить, что в какой-то популяции самые низкорослые люди имеют все рецессивные гены и рост 150 см, самые высокие – все доминантные гены и рост 180 см. Низкорослая женщина вышла замуж за мужчину среднего роста. У них было четверо детей, которые имели рост 165 см, 160 см, 155 см и 150 см. Определите генотип родителей и их рост. Какой тип наследования признаков наблюдается в этом случае?

Задача 6. Белое оперение кур определяется двумя парами несцепленных неаллельных генов. В одной паре доминантный ген определяет окрашенное оперение, рецессивный – белое. В другой паре доминантный подавляет окраску, рецессивный – не подавляет. При скрещивании белых кур получено потомство из 1680 особей. 315 были окрашенные, остальные белые. Определите генотипы родителей и окрашенных цыплят. Какой тип наследования признаков наблюдается в этом случае?

! При решении задачи следует обратить внимание на соотношение фенотипов в потомстве, количество возможных генотипов потомства, вид решетки Пеннета и количество типов гамет, которые могут давать родительские особи.

Задача 7. Дигетерозиготная самка по генам А и В скрещивается с самцом, рецессивным по обоим генам. В результате этого получено потомство, у которого имеется расщепление по фенотипу: АВ – 47%, Ab – 3%; aB – 3%, ab – 47%. Какой тип наследования признаков имеется в этом случае? Можно ли определить расстояние между генами А и В?

Задача 8. У мухи дрозофилы рецессивный ген m определяет безглазие, а рецессивный ген b – изогнутые крылья. Можно ли установить, в какой хромосоме и в каком именно локусе находится ген m, если известно, что ген b расположен в локусе 0,0 четвертой хромосомы, а при скрещивании дигетерозиготной по этим генам самки с рецессивным самцом получено потомство MB, Mb, mB, mb в соотношении 49,55%: 0,45%; 0,45%: 49,55%?

Содержание отчета: законы Моргана, виды и формы наследования при взаимодействии неаллельных генов; решенные задачи.

Контрольные вопросы

1. Хромосомный уровень организации ДНК.
2. Геномный уровень организации ДНК.

3. Экспрессия гена в признак – основные этапы.
4. Что необходимо для осуществления процесса трансляции ?
5. Стадии синтеза белка.
6. Механизм регуляции синтеза белка.
7. Генные, хромосомные, геномные мутации.
8. Антимутационные механизмы.
9. Законы Менделя и Моргана.

Лабораторная работа № 8

Изучение закономерностей эволюции растений

Цель работы: изучить важнейшие ароморфозы в эволюции растительного мира.

Теоретические положения

Число видов ныне существующих растений достигает более 500 тыс., из них цветковых примерно 300 тыс. видов. Остатки зеленых водорослей находят в породах архейского возраста (около 3 млрд лет назад). В протерозое в морях обитало много разных представителей зеленых и золотистых водорослей. Первичные почвообразовательные процессы в протерозое подготовили условия для выхода настоящих растений на сушу. В силуре (435–400 млн лет назад) в царстве растений происходит крупное эволюционное событие: растения (риниофиты) выходят на сушу. Происходит перестройка в проводящей системе и покровных тканях: у псилофитов появляются проводящая сосудистая система со слабо дифференцированной ксилемой и флоэмой, кутикула и устьица.

Дальнейшая эволюция растений в наземных условиях привела к усилению компактности тела, появлению корней, развитию эпидермальной ткани с толстостенными, пропитанными восковидным веществом клетками, замене трахеид сосудами, изменению способов размножения, распространения и т.д.

Начальные этапы эволюции наземных растений связаны с возникновением мохообразных, папоротникообразных и голосеменных. Уже в девоне встречаются пышно развитые леса из прогимноспермов, папоротников и плаунов. Эти леса еще более распространяются в карбоне, характеризующемся увлажненным и равномерно теплым климатом в течение всего года. В карбоне же получили развитие первые семенные –

голосеменные: птеридоспермы, древесные кордаиты и гинкговые, часть из которых вымирает в перми, около 280 млн. лет назад.

Опыление у голосеменных осуществляется ветром и нередко насекомыми, после оплодотворения семязачаток превращается в семя. Переход к семенному размножению связан с рядом эволюционных преимуществ: диплоидный зародыш в семенах защищен от неблагоприятных условий наличием покровов и обеспечен пищей, а семена имеют приспособления для распространения животными и др. Эти и другие преимущества способствовали широкому распространению семенных растений.

Цветковые растения, постепенно распространяясь, завоевывают обширные пространства. В дальнейшем отбор цветковых растений пошел по пути привлечения опылителей с помощью нектара, аромата, окраски и специализации цветков на опыление определенными видами насекомых.

В кайнозое (начало – 66 млн лет назад) вся Европа была покрыта пышными лесами теплого и умеренного климатов, включающими дуб, березу, сосну, каштан, бук, виноград, орех и др. В это время леса достигали наибольшего распространения на Земле. В тропической флоре этого периода были представлены фикусы, лавровые, гвоздичные, эвкалипты, виноград и др.

В четвертичном периоде кайнозойской эры (2 млн. лет назад) увеличилось количество осадков и наступило оледенение значительной части Земли, вызвавшее отступление теплолюбивой третичной растительности на юг (а местами полное ее вымирание), возникновение холодоустойчивых травянистых и кустарниковых растений. На огромных территориях завершается начатая в миоцене смена лесов степью, формируется ксерофитная и эфемерная растительность с выраженной сезонностью в цикле развития, складываются современные фитоценозы.

Таким образом, растительность нашей планеты постоянно менялась, приобретая все более современные черты.

Основные черты эволюции царства растений следующие:

1. Переход от гаплоидности к диплоидности. С диплоидизацией организма снижался эффект проявления неблагоприятных мутаций, усиливались морфогенетические потенции организма.
2. Утрата связи процесса полового размножения с наличием капельно-жидкой воды, потери подвижности мужских гамет, заметная редукция гаметофита и сильное развитие спорофита, переход от наружного оплодотворения к внутреннему, возникновение цветка и двойного оплодотворения.

3. Дифференциация тела с переходом к наземным условиям: деление на корень, стебель и лист, развитие сети проводящей системы, совершенствование покровных, механических и других тканей.
4. Специализация опыления (с помощью насекомых) и распространение семян и плодов животными. Усиление защиты зародыша от неблагоприятных условий: обеспечение пищей, образование покровов и др.

Порядок и методика выполнения работы

1. На основе изучения представленных материалов показать важнейшие ароморфозы в процессе развития растений, заполнив в тетради схему, показанную на рисунке 8.1.

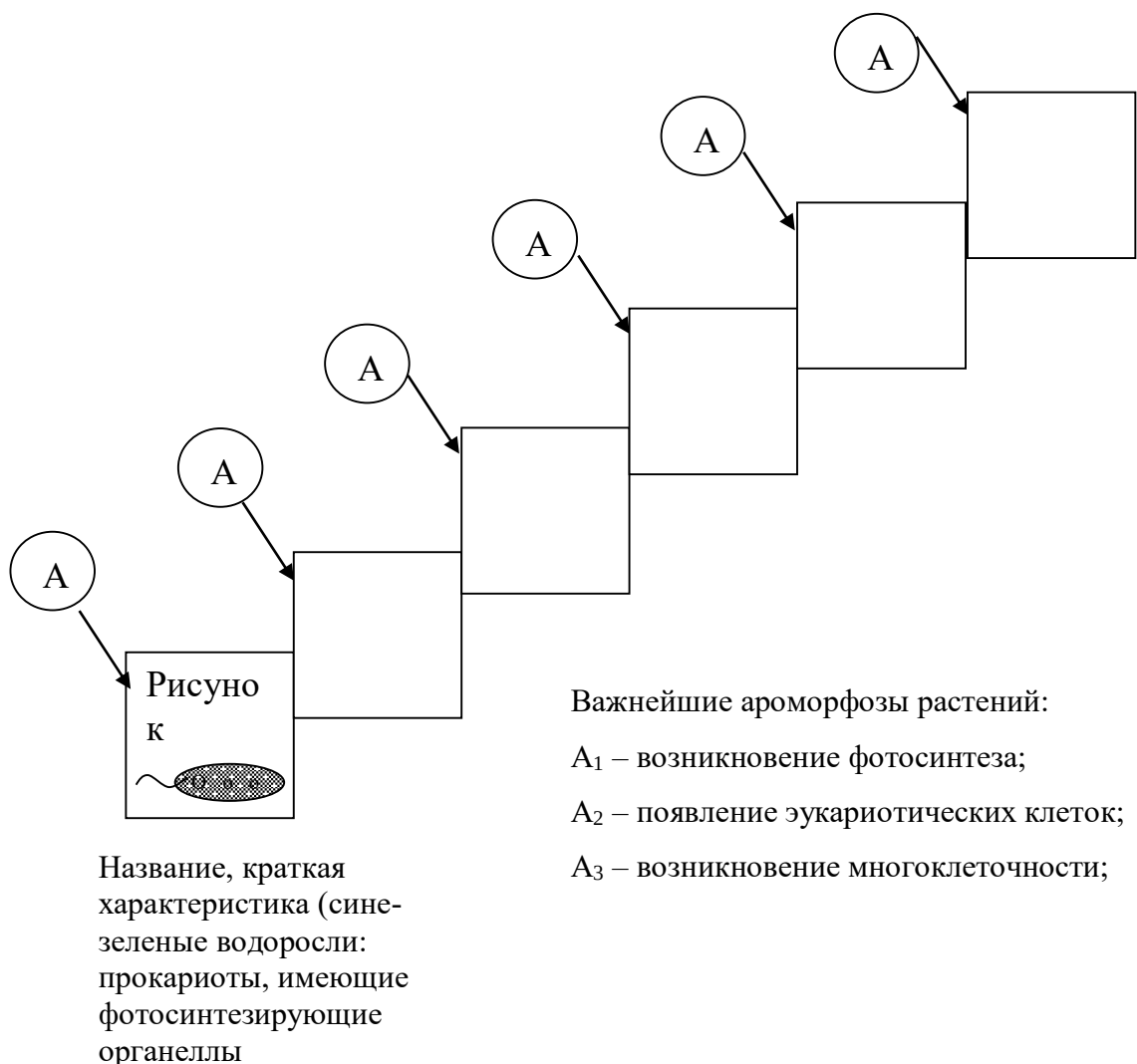


Рисунок 8.1. Основные ароморфозы в эволюции фотосинтезирующих организмов

Содержание отчета: заполненная схема эволюции и основных ароморфозов растений.

Контрольные вопросы

1. История развития эволюционного учения.
2. Эволюционное учение Ч.Дарвина как основа современной теории эволюции.
3. Макро- и микроэволюция. Способы видообразования.
4. Основные направления эволюционного процесса: биологический прогресс (ароморфоз, идиоадаптация, дегенерация) и регресс.
5. Основные этапы развития растительного мира.

Лабораторная работа № 9

Изучение закономерностей эволюции животных

Цель работы: изучить важнейшие ароморфозы в эволюции животных.

Теоретические положения

Царство животных не менее разнообразно, чем царство растений, а по числу видов животные превосходят растения. Описано около 1 млн 200 тыс. видов животных (из них около 900 тыс. видов – членистоногих, 110 тыс. – моллюсков, 42 тыс. – хордовых животных) и считается, что это может быть лишь половина существующих видов.

Первые останки животных находят в морских отложениях протерозоя, возраст которых превышает 1 млрд лет. Первые многоклеточные животные представлены сразу несколькими типами: губки, кишечнополостные, плеченогие, членистоногие.

В морях кембрийского периода уже существовали все основные типы животных. После кембрия эволюция животных характеризовалась лишь специализацией и совершенствованием основных типов. В теплых и мелководных морях ордовика обитали многочисленные кораллы, значительного развития достигали головоногие моллюски – существа, похожие на современных кальмаров, длиной в несколько метров.

Силурийский период ознаменовался важными событиями не только для растений, но и для животных. Появились животные, дышащие воздухом. Первыми обитателями суши были паукообразные, напоминавшие по строению современных скорпионов. Тем временем в водоемах происходило бурное развитие разнообразных низших позвоночных, прежде всего панцирных рыб. В девоне же возникают двоякодышащие, кистеперые и лучеперые рыбы. До наших дней дожили некоторые виды двоякодышащих, лучеперые дали начало современным костистым рыбам, а кистеперые – первичным земноводным (стегоцефалам).

Стегоцефалы появились в верхнем девоне; примерно в это же время возникает другая чрезвычайно прогрессивная группа животных – насекомые.

В каменноугольном периоде появляются первые пресмыкающиеся, что определило начало активного завоевания суши позвоночными. Рептилии благодаря сухим прочным покровам, яйцам, покрытым твердой скорлупой и не боящимся высыхания, были мало связаны с водоемами.

В пермском периоде начинают исчезать стегоцефалы и широко распространяются различные рептилии. От примитивных рептилий из группы цельночерепных в это время развивается ветвь пеликозавров, приведшая несколько позже к возникновению млекопитающих.

В конце палеозоя происходит значительное иссушение климата. Поэтому бурное развитие претерпевают разнообразные рептилии; до наших дней из триасовых рептилий дожили гаттерия и черепахи. Некоторые рептилии становятся хищниками, другие – растительноядными, третьи – вторично возвращаются в водную среду, обеспечивающую им пищу в виде многочисленных форм костистых рыб и головоногих моллюсков. Однако особенно сильного развития достигают морские рептилии в юре (ихтиозавры, плезиозавры). Тогда же пресмыкающиеся осваивают и воздушную среду – возникают птерозавры, видимо, охотившиеся на многочисленных и крупных насекомых. В триасе от одной из ветвей рептилий возникают птицы; первые птицы причудливо сочетали признаки рептилий и птиц.

В условиях похолодания исключительные преимущества получают теплокровные животные – птицы и млекопитающие, которые пышно расцветают лишь в следующем периоде – кайнозое.

Кайнозой – время расцвета насекомых, птиц и млекопитающих. В конце мезозоя возникают плацентарные млекопитающие. В палеоцене и эоцене от насекомоядных происходят первые хищники. В это же время или несколько позже первые млекопитающие начинают завоевывать море (китообразные, ластоногие, сиреновые). От древних хищных происходят копытные, от насекомоядных обособляется отряд приматов. К концу неогена встречаются уже все современные семейства млекопитающих, на обширных открытых пространствах саванн Африки появляются многочисленные формы обезьян, многие из которых переходят к прямохождению. Одна из групп таких обезьян – австралопитеки – дала ветви, ведущие к роду Номо.

В эволюции животных можно наметить несколько магистральных направлений развития адаптации:

1. Возникновение многоклеточности и все большее дифференцирование всех систем органов.
2. Возникновение твердого скелета (наружного – у членистоногих, внутреннего – у позвоночных).
3. Развитие центральной нервной системы. Два разных и чрезвычайно эффективных эволюционных «решения»: у позвоночных развитие головного мозга, основанного на обучении и условных рефлексах, и возрастание ценности отдельных особей; у насекомых – развитие нервной системы, связанной с наследственным закреплением любого типа реакций по типу инстинктов.
4. Развитие социальности в ряде ветвей древа животных, с разных сторон подходящих к рубежу, отделяющему биологическую форму движения материи от социальной формы движения. Перешагнуть этот рубеж смогла лишь одна ветвь приматов – род Человек.

Порядок и методика выполнения работы

1. На основе изучения представленных материалов показать важнейшие ароморфозы в процессе развития систем органов животных, заполнив в тетради схему по примеру, показанному на рисунке 9.1.



Рисунок 9.1. Основные ароморфозы в эволюции пищеварительной системы животных

Содержание отчета: заполненная схема эволюции одной из систем органов животных по заданию преподавателя.

Контрольные вопросы

1. Доказательства эволюции.
2. Элементарные эволюционные факторы.
3. Формы естественного отбора.
4. Критерии вида. Популяция.
6. Основные этапы развития животного мира.

Лабораторная работа № 10

Исследование строения клетки и морфологических типов бактерий

Цель: изучить основные морфологические типы бактерий; закрепить навыки приготовления фиксированных препаратов с простой и сложной окраской и препаратов живых микроорганизмов.

Аппаратура и материалы: микроскоп, набор красителей, бактериологические петли, пипетки, предметные и покровные стекла, культуры микроорганизмов на плотных питательных средах (чашки Петри) и в жидких питательных средах (пробирки); вспомогательное оборудование и материалы (спиртовки, стеклянные кюветы, емкости с дистиллированной водой, фильтровальная бумага и т.п.)

Техника безопасности

При выполнении работ следует точно соблюдать правила приготовления и микроскопирования биологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить при максимальном увеличении микроскопа и зарисовать строение прокариотических клеток бактерий чистых культур различных морфологических типов.

2. Окрасить мазки методом простой окраски, просмотреть под микроскопом с иммерсионным объективом в разных полях зрения и зарисовать форму и взаимное расположение клеток микрококков, стрептококков, сарцин, неспорообразующих палочек (бактерий), спорообразующих палочек (бацилл), извитых форм (спирохет).

3. Один из препаратов по заданию преподавателя окрасить по Граму или для выявления капсул, спор или жгутиков. Зарисовать увиденную под микроскопом картинку и сделать вывод о свойствах изученных микроорганизмов.

Окраска по Граму проводится в следующей последовательности:

- ◆ на фиксированный мазок накладывают фильтровальную бумагу (для предотвращения попадания частиц нерастворившейся краски) и наливают раствор генцианвиолета (с избытком) на 1-2 мин;
- ◆ снимают фильтровальную бумагу и, не промывая водой, наливают на препарат раствор Люголя на 1 мин (мазок чернеет, на его поверхности появляется радужная пленка);
- ◆ аккуратно стряхивают смесь красителей и наливают на мазок спирт на 0,5÷1 мин;
- ◆ промывают мазок водой;
- ◆ дополнительно для выявления грамтрицательных микроорганизмов окрашивают мазок фуксином в течение 1-2 мин.

Окраска спор по методу Циля включает следующие этапы:

- подготовленный фиксированный мазок обрабатывают 5%-м раствором хромовой кислоты в течение 5-10 мин. и промывают водой;
- мазок окрашивают карболовым фуксином Циля при одновременном осторожном нагревании в течение 2-3 мин. (предметное стекло берут пинцетом и нагревают над пламенем горелки до появления паров, но не до кипения, по мере испарения краситель доливают по каплям, не допуская высыхания), затем промывают препарат водой;
- обесцвечивают препарат 1%-м раствором серной кислоты в течение 10-15 с и промывают препарат водой;
- окрашивают препарат метиленовым синим около 20 мин. Промывают водой, высушивают и микроскопируют.

Если препарат приготовлен правильно, вегетативные клетки должны быть синими, а споры красными.

Для выявления **капсул**, которые имеют консистенцию геля и обычно плохо просматриваются под микроскопом, чаще всего применяют негативные методы окраски, когда клетки остаются неокрашенными и ярко выделяются на окрашенном тушью фоне препарата. Исследуемый материал смешивают с каплей черной туши и готовят мазок. Высушенный мазок микроскопируют с иммерсионной системой.

Окраска капсул по методу Омелянского включает следующие этапы:

- на предметное стекло наносят каплю карболового фуксина Циля и каплю воды;
- вносят в каплю исследуемую культуру микроорганизмов и выдерживают 2-3 мин;
- добавляют каплю жидкой черной туши или 10%-го водного раствора нитрозина и тщательно перемешивают;
- накрывают каплю покровным стеклом и просматривают с объективом 40х или размазывают суспензию по стеклу, высушивают и микроскопируют с иммерсионным объективом.

Красители не проникают в капсулу, поэтому бесцветная капсула хорошо видна на общем темном фоне препарата и окрашенных в красный цвет клеток бактерий.

Задание выполняется в форме самостоятельной работы (проверка освоения методов приготовления фиксированных препаратов с простой окраской из разных сред): подготовить рабочее место, продумать последовательность действий, приготовить фиксированные мазки из культур микроорганизмов на плотной и жидкой питательной среде в соответствии с индивидуальным заданием, окрасить их методом простой окраски и по Граму. При зарисовке просмотренных под микроскопом препаратов следует обратить

внимание на относительный размер клеток, их взаимное расположение, цвет красителя, расположение спор у спорообразующих палочек (особый интерес представляют вегетативные клетки с формирующимися спорами).

5. Изучить по плакатам и альбомам ультраструктуру прокариотической клетки и зарисовать подробную схему ее строения в тетради, подписав общие и специфические структурные компоненты.

Содержание отчета по лабораторной работе: зарисовки основных морфологических типов бактерий (надпись справа от рисунка должна включать названия препарата, питательной среды, красителя, морфологического типа микроорганизма на русском и латинском языках, степень увеличения объекта), подробная схема строения прокариотической клетки.

Контрольные вопросы

1. Перечислите обязательные и специфические структурные компоненты прокариотической клетки.
2. Строение и функции ядерного аппарата, цитоплазмы и цитоплазматической мембраны прокариот.
3. Строение и функции органелл прокариотической клетки.
4. Строение и функции клеточной стенки истинных бактерий.
5. Строение и функции капсул бактерий.
6. Строение и функции жгутиков бактерий.
7. Строение и функции спор бактерий.
8. Перечислите основные таксономические единицы, применяющиеся в микробиологии.
9. Каковы правила написания основных таксономических единиц? Приведите примеры.
10. Дайте определение понятию «вид», приведите пример.
11. Дайте определение понятию «штамм», приведите пример.
12. Перечислите основные морфологические группы бактерий.
13. Морфологические типы шаровидных бактерий.
14. Морфологические типы палочковидных бактерий.
15. Морфологические типы извитых бактерий.

Лабораторная работа № 11

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

Цель: изучить и освоить методы выделения чистых культур микроорганизмов.

Теоретическое обоснование

В естественных условиях исследуемые объекты содержат смешанную микрофлору. Идентификация вида возможна только при работе с чистыми культурами, поэтому качественный анализ смешанной микрофлоры объекта начинается с выделения микроорганизмов в виде чистых культур. Чистая культура – культура одного вида, выращенная как потомство одной клетки.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов основаны на изоляции одной микробной клетки из смешанной микрофлоры объекта и последующем выращивании ее на питательных средах. Наиболее распространенный способ – посев на плотные питательные среды в чашки Петри. Основная задача методов – разведение исследуемого материала с таким расчетом, чтобы выросли изолированные колонии микроорганизмов. Чаще всего в микробиологии используют методы истощающего (фракционированного) посева, пластинчатых разводов Коха, предварительного разведения исследуемого материала, а для крупных объектов (например, эукариотических дрожжевых клеток) – капельный метод и микроманипуляторы.

Аппаратура и материалы: исследуемый объект (например, кисломолочный продукт), стерильные пипетки, пробирки со стерильной водой и обезжиренным молоком, чашки Петри (пустые и с плотными питательными средами), флаконы и пробирки с расплавленными питательными средами, шпатели Дригальского, бактериологические петли и иглы, спиртовки, карандаши по стеклу.

Порядок и методика выполнения работы

1. Изучить теорию и практику методов выделения чистых культур микроорганизмов.

Метод истощающего (фракционированного) посева на поверхности плотной питательной среды включает следующие этапы:

- подписывают стерильные чашки Петри с заранее приготовленной питательной средой на крышках карандашом по стеклу (как правило, указывают сокращенное название специальности, номер подгруппы, номер варианта по журналу, номер разведения; цифры располагают в столбик);
- в стерильных условиях на поверхность среды первой чашки (первое разведение) бактериологической петлей наносят каплю исследуемого материала;
- стерилизуют шпатель Дригальского обжигом в пламени со спиртом;

- быстро, тщательно и равномерно растирают каплю на поверхности среды, не повреждая ее;
- не стерилизуя, шпатель переносят во вторую чашку (второе разведение) и растирают остатки биологического материала на поверхности питательной среды;
- аналогично делают посев в 3, 4 и последующие чашки, при этом количество высеваемого материала последовательно убывает; количество разведений определяется степенью микробиологической загрязненности материала

Метод предварительного разведения исследуемого материала в стерильной воде или физрастворе:

- готовят разведения материала в 10, 100, 1000 и т.д. раз в зависимости от его обсемененности в пробирках со стерильной водой;
- вносят по 1мл каждого разведения в заранее подписанные стерильные чашки Петри пустые (глубинный посев) или со средой (поверхностный посев);
- при глубинном посеве чашки Петри с внесенным материалом заливают предварительно расплавленной и охлажденной до температуры $45\div 50^{\circ}\text{C}$ средой, осторожно вращательным движением перемешивают содержимое чашки и оставляют для застывания среды;
- когда среда полностью застынет, чашки ставят в термостат вверх дном при 30°C на 3 суток.

Метод пластинчатых разводов Коха:

- бактериологической петлей в стерильных условиях вносят каплю исследуемого материала в пробирку с расплавленной средой МПА;
- закрыв пробирку пробкой, тщательно перемешивают содержимое путем вращения пробирки между ладонями;
- берут вторую пробирку со стерильной средой и, держа обе пробирки в левой руке, переносят стерильной петлей каплю среды из первой пробирки во вторую, тщательно перемешивают ее содержимое, поставив первую пробирку в водяную баню, чтобы среда не застыла;
- повторяют операцию последовательного разведения материала необходимое количество раз, после чего содержимое пробирок выливают в предварительно подписанные стерильные чашки Петри.

Если разведение исследуемого материала выполнено правильно, на поверхности среды и в ее толще образуются отдельные колонии микроорганизмов, видимые

невооруженным глазом. Исследуемую культуру изолируют, т.е. пересевают на отдельную среду после проверки на чистоту (визуально и микроскопированием мазка).

Капельный метод применяют при исследовании крупных (обычно эукариотических) клеток и выполняют в следующей последовательности:

- готовят взвесь микроорганизмов на специальных средах с таким расчетом, чтобы в 1 капле жидкости была 1 клетка (концентрация взвеси определяется экспериментально);
- на стерильное покровное стекло стерильным инструментом наносят капли рядами по 3-4 капли в ряду, после чего накрывают предметным стеклом с лункой, предварительно смазанной по краям вазелином;
- микроскопируют препарат, каплю с 1 клеткой отмечают тушью;
- препаратное стекло переносят в термостат; из помеченных капель, в которых произошло размножение, производят пересев в жидкую питательную среду.

Выделение чистых культур крупных микроорганизмов можно проводить также **при помощи микроманипулятора** – специального прибора, позволяющего проводить очень тонкие и сложные операции под микроскопическим контролем с помощью микроигл, микропипеток и др. инструментов.

2. Оценить результаты посевов разных методов выделения чистых культур на подготовленных образцах.

Содержание отчета по лабораторной работе: описание методов выделения чистых культур, зарисовки результатов одного из методов по заданию преподавателя с выводом о правильности выполнения посева.

Контрольные вопросы.

1. Что такое культивирование микроорганизмов? С какой целью оно может проводиться?
2. Что такое чистая культура микроорганизмов? Смешанная культура?
3. Перечислите методы выделения чистых культур микроорганизмов. В чем сущность этих методов?
4. Сущность и последовательность выполнения посевов:
 - методом истощающего посева;
 - методом предварительного разведения;
 - методом пластинчатых разводов.
5. Какие микроорганизмы можно выделить капельным методом и с помощью микроманипулятора?

Лабораторная работа № 12

Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств бактерий

Цель работы: освоить основные методы исследования морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов.

Теоретическое обоснование

Микроорганизмы, как и все живые существа, обладают определенными признаками, по которым их отличают и разделяют на устойчивые, отчетливо различающиеся группы. Раньше для такого разделения использовались в основном морфологические признаки, затем добавились культуральные и биохимические свойства, в будущем классификации микроорганизмов будут создаваться на основе генетических карт.

Морфологические свойства - форма, взаимное расположение, размер и строение клеток, некоторые внешние особенности строения, например, наличие или отсутствие спор, капсул, жгутиков; окраска по Граму. Размеры микроорганизмов обычно измеряют в мкм. Для точного измерения используют специальные приспособления – объект- и окуляр-микрометры.

Культуральные свойства – особенности роста на разных питательных средах (на плотных – в виде колоний разного цвета, формы и размера, каждая колония вырастает из одной клетки, представляет собой миллионы организмов с одинаковыми генами, т.е. клоны).

Физиолого-биохимические свойства - способы получения энергии, потребности в питательных веществах, отношение к температуре и другим факторам внешней среды.

Аппаратура и материалы: чистые культуры микроорганизмов заквасок в виде отдельно выросших колоний на плотных питательных средах в чашках Петри; предметные и покровные стекла, спиртовки, красители, микроскопы, лупы, вспомогательные материалы для подготовки препаратов.

Указания по технике безопасности: необходимо строго выполнять правила работы подготовки и просмотра микробиологических препаратов.

Порядок и методика выполнения работы:

1. В соответствии с заданием преподавателя исследовать отдельную колонию микроорганизмов на МПА в чашках Петри в следующей последовательности:

- описать колонию (размер, форму, цвет, поверхность, прозрачность, профиль, характер края, консистенцию);

- приготовить фиксированный мазок с простой окраской, просмотреть под микроскопом в 10 полях зрения и сделать вывод о чистоте культуры;
- изучить, зарисовать и описать морфологические свойства данной культуры микроорганизмов (форму и взаимное расположение клеток, размер, подвижность, наличие или отсутствие спор и др.), определить морфологический тип;
- исследовать тинкториальные свойства (окраска по Граму), зарисовать, сделать вывод.

2. Ознакомиться с методикой определения культуральных и биохимических свойств, выполнить необходимые посевы.

Для исследования **культуральных** свойств выделенной чистой культуры микроорганизмов проводят посевы на различные питательные среды:

- на скошенный агар (плотную питательную среду) – штрихом;
- в столбик МПА (плотную питательную среду) – уколом;
- в столбик МПЖ (плотную питательную среду) – уколом;
- в МПБ (жидкую питательную среду) – бактериологической петлей, с определением оптимальной температуры.

По результатам учета посевов описывают характер роста микроорганизма на различных питательных средах, делают выводы об отношении к кислороду и оптимальной температуре развития исследуемого микроорганизма.

Для исследования **биохимических** свойств чистой культуры микроорганизмов проводят посевы:

- на сахаролитические свойства – в углеводные среды Гисса с моносахарами (глюкозой, галактозой, фруктозой), дисахаридами (лактозой, сахарозой) или полисахаридами, индикаторным красителем и стеклянными поплавками;
- на протеолитические свойства – в МПБ с добавлением 3% пептона и индикаторами на сероводород и аммиак; в обезжиренное молоко;
- на липолитические свойства – в среду с тугоплавким жиром;
- на редуцирующие – в обезжиренное молоко с метиленовой синью.

Сахаролитические свойства, т.е. способность использовать в метаболических процессах определенные углеводы, определяются по изменению цвета среды и образованию газа. Появление желтой окраски свидетельствует о том, что микроорганизм использует данный углевод с образованием кислоты, зеленой – щелочи; образование пузырьков в поплавках указывает на образование при этом CO_2 .

Протеолитические свойства, т.е. способность разлагать белковые вещества, определяются по изменению внешнего вида сред (помутнению МПБ, осветлению молочной среды, свидетельствующей о пептонизации молочных белков) и изменению индикаторов (почернение свинцовой бумажки свидетельствует об образовании при распаде белка сероводорода, покраснение лакмусовой бумажки – аммиака).

Если выделенная культура микроорганизмов обладает липолитическими свойствами, т.е. способна разлагать жир, то на мутной жировой среде рядом с колониями появляются осветленные зоны.

Если выделенная культура обладает редуцирующими свойствами, то наблюдается обесцвечивание индикаторного красителя в обезжиренном молоке.

3. Проведите учет посевов, опишите результаты по каждому из методов, сделайте выводы о свойствах изучаемой чистой культуры микроорганизмов.

Содержание отчета: описание методов исследования морфологических, культуральных и биохимических свойств чистых культур микроорганизмов, результаты исследований и выводы.

Контрольные вопросы

5. Основные процессы метаболизма.
6. Питательные потребности микроорганизмов.
7. Деление микробов по источнику азота.
8. Деление микробов по источнику углерода.
9. Пути поступления питательных веществ в клетку.
10. Деление микроорганизмов по типу дыхания.
11. Аэробное и анаэробное дыхание: виды, сущность.
12. Энергетический баланс биологического окисления глюкозы.
13. Способы и формы размножения микроорганизмов.
14. Этапы деления бактериальных клеток.
15. Фазы развития микробов в статической культуре.
16. Способы культивирования микроорганизмов: периодическое, непрерывное, синхронное.
17. Применение турбидостатов и хемостатов для непрерывного культивирования микроорганизмов.

Лабораторная работа № 13
Определение вида бактерий

Цель работы: изучить основные этапы определения вида микроорганизма; ознакомиться со структурой и правилами работы с определителями бактерий; определить наиболее вероятный вид исследуемой культуры.

Теоретическое обоснование

В микробиологии используются общие принципы систематики, принятые в биологии.

Вид (основная таксономическая единица) – совокупность особей микроорганизмов, сходных по морфологическим, биохимическим, культуральным свойствам, имеющих единое происхождение и генотип.

Определение вида микроорганизма проводится по результатам исследования его свойств с помощью специальных классификаторов (определителей). Наиболее часто для практических целей используется определитель бактерий Берджи, в соответствии с 9 изданием которого все прокариоты с целью дифференциации делятся на 4 категории:

1 – **грамтрицательные эубактерии**, имеющие клеточные стенки (характерного строения, разной формы, подвижные и неподвижные, автотрофы и гетеротрофы, некоторые – внутриклеточные паразиты);

2 – **грамположительные эубактерии**, имеющие клеточные стенки (разнообразная форма, у актиномицетов – ветвление, гетеротрофы с разным отношением к кислороду);

3 – **эубактерии, лишенные клеточной стенки** (микоплазмы; изменчивая форма, чаще нитчатая ветвящаяся, грамтрицательные, характерно проникновение внутрь сред и образование глубинных колоний);

4 – **архебактерии** (или археобактерии, преимущественно почвенные или водные микроорганизмы, встречаются в гиперсоленых или геотермальных водах, муреин в клеточных стенках отсутствует).

Аппаратура и материалы: результаты предыдущей работы, определители бактерий Циона и Берджи.

Порядок и методика выполнения работы:

1. Обобщите данные исследований морфологических, культуральных и биохимических свойств чистой культуры микроорганизмов, заполнив соответствующую колонку таблицы 15.1.

Таблица 15.1- Определение вида бактерий

№	Признак	Результаты исследований	Данные определителя Циона	Данные определителя Берджи
1	Движение			
2	Окраска по Граму			
3	Разжижение желатина			
4	Свертывание молока			
5	Образование газа с глюкозой			
6	Спорообразование			
7	Отношение к кислороду			
8	Форма и расположение клеток			
9	Величина			
10	Колонии на агаре			
11	Рост на бульоне			
12	Рост в молоке			
13	Глюкоза: газ, реакция			
14	Лактоза: газ, реакция			
15	Образование H_2S			
16	Образование NH_3			
17	Пигмент			
18	Оптимальная температура			
19	Место выделения			
20 ...	(дополнительные сведения по определителям)			
	Вид			

4. Используя данные первых 6 пунктов таблицы и ключ к определителю Циона, найдите номер таблицы для ориентировочного определения вида. Выберите в таблице 2-3 наиболее подходящих варианта, выпишите названия видов.

5. Найдите полное описание выбранных видов в определителе Циона, сравните свойства, определите вид, который по наибольшему количеству признаков совпадает с результатами Ваших исследований. Внесите данные Циона в таблицу.

6. Ознакомьтесь с принципами определения группы микроорганизмов по Берджи. Найдите группу, соответствующую данным ваших исследований. Сверьте признаки, определите вид по Берджи. Заполните соответствующую графу таблицы.

7. По результатам выполненной работы сделайте вывод о виде выделенной и исследованной чистой культуры микроорганизмов.

8. Кратко опишите в тетради основные классификационные группы бактерий по Берджи.

Содержание отчета: заполненная таблица, вывод о наиболее вероятном виде исследуемого микроорганизма, описание основных классификационных групп бактерий по Берджи.

Контрольные вопросы

1. Полиморфизм и мономорфизм как направления в науке об изменчивости бактерий. Формы изменчивости микроорганизмов.
2. Фенотипическая изменчивость: сущность, виды.
3. Генотипическая изменчивость: сущность, виды.
4. Мутационная изменчивость: сущность, виды.
5. Трансформация, трансдукция, конъюгация: открытие, сущность, стадии.
6. Цель и этапы селекции микроорганизмов.
7. Цель и этапы генной инженерии в микробиологии.

Лабораторная работа № 14

Изучение морфологических и культуральных свойств мицелиальных грибов (плесеней)

Цель работы: изучить особенности роста на питательных средах и строения разных видов плесеней.

Теоретическое обоснование

Плесневые грибы относят к царству Мусота. По строению клетки это низшие эукариоты, гетеротрофы, способны к ветвлению и неограниченному верхушечному росту, способ питания — всасывание. Плесени — аэробы, не требовательны к питательным веществам, растут преимущественно на поверхности различных субстратов. Устойчивы к неблагоприятным условиям среды, выдерживают низкие температуры, высокие концентрации осмотически активных и других химических веществ. Чаще всего грибы —

сапрофиты, но встречаются и паразиты. Размножаются обычно бесполым путем (делением или экзоспорами – хламидоспорами, оидиями, конидиями, спорангиоспорами), но способны и к половому размножению (аскоспорами, базидиоспорами, зигоспорами). Вегетативное тело плесневого гриба состоит из гиф, имеющих диаметр 2-10 мкм и представляющих собой разветвленную нить, включающую цитоплазму и органоиды. Совокупность (сплетение) гиф образует мицелий. Гифы разделяются на отдельные клетки септами – перегородками полностью или частично (у многоклеточных). Врастающий в питательный субстрат мицелий называют вегетативным, спорообразующий – репродуктивным. Рост грибов осуществляется за счет кончиков гиф и может продолжаться до тех пор, пока хватает питательных веществ. Мицелий обычно не окрашен (белый), цвет колонии придают споры.

Плесени иногда используются в производстве пищевых продуктов (сыров, соусов), но чаще приносят вред: вызывают разнообразные пороки пищевых продуктов (плесневение и меловую болезнь хлеба, макаронных и кондитерских изделий); некоторые виды могут вызывать заболевания растений (спорынья, фузариоз, черная гниль), животных и человека (передаются через зараженное зерно, муку, готовые изделия, вызывают отравления – микотоксикозы).

Аппаратура и материалы: готовые препараты и плотные питательные среды с культурами плесеней; микробиологические принадлежности для приготовления препаратов и микроскопирования.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Описать характер роста каждой культуры на питательных средах (размер и форма колонии, цвет, характер мицелия – пышный воздушный, бархатистый низкий и т.п.).
2. Приготовить и просмотреть под микроскопом препарат «раздавленная капля». Зарисовать и подписать рисунки, обратив внимание на правильность написания названий на латинском языке. Сделать вывод об особенностях строения клеток (одноклеточный или многоклеточный мицелий, размеры клеток, внутренние органеллы) и способах размножения (названия плодоносящих органов и спор).

Содержание отчета: рисунки препаратов с подписью названий исследованных плесеней на латинском языке с кратким описанием особенностей культуральных свойств и строения плодоносящих органов.

Контрольные вопросы

1. Особенности строения и классификация мицелиальных грибов.
2. Способы бесполого размножения плесеней.

3. Способы полового размножения плесеней.
4. Характеристика классов Ascomycetes, Phycomycetes, Deuteromycetes, Basidiomycetes.
5. Роль плесеней в биотехнологии.

Лабораторная работа № 15

Изучение морфологических и культуральных свойств сумчатых грибов (дрожжей)

Цель работы: Изучить особенности роста на питательных средах и строения клетки разных видов дрожжей.

Теоретическое обоснование

Дрожжи – почкующиеся грибы (бесполое размножение – почкованием), относятся к классу аскомицетов (половое размножение – аскоспорами, к аскомицетам относится род *Saccharomyces*, в который входят хлебопекарные, спиртовые, пивные, молочные дрожжи) или к дейтеромицетам (нет способности к половому размножению, представители семейства криптококковые родов *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula* вызывают пороки пищевых продуктов; некоторые виды образуют пигменты – красные, желтые, оранжевые). Форма клеток – круглая, овальная, эллипсоидная, цилиндрическая; неподвижные, грам+, крупные эукариотические клетки, под микроскопом видны внутренние включения – ядро, запасные питательные вещества, жировые капли, вакуоли.

Аппаратура и материалы: плотные и жидкие питательные среды с культурами: *Saccharomyces cerevisiae* (хлебопекарные), *Sacch.lactis* (молочные), *Sacch.vini* (винные), *Sacch.carlsbergensis* (пивные), *Rhodotorula* (образующие пигменты); микробиологические принадлежности для приготовления, окраски препаратов и микроскопирования; счетные камеры Горяева.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Описать характер роста каждой культуры на питательных средах.
2. Приготовить и просмотреть под микроскопом препарат «раздавленная капля». Зарисовать и подписать рисунки, обратив внимание на правильность написания названий на латинском языке. Сделать вывод о подвижности дрожжей, форме, взаимном расположении клеток, внутреннем строении (показать на рисунке цитоплазму, клеточную оболочку и цитоплазматическую мембрану, ядро, запасные питательные вещества). Найти почкующиеся дрожжи, сделать вывод о способе размножения.

3. Приготовить фиксированные препараты дрожжей и окрасить их дифференциально-диагностическими методами:

- окраска по Граму (сделать вывод о тинкториальных свойствах);
- выявление запасного углевода - гликогена (окраска раствором йода - гликоген окрашивается йодом в бурый цвет);
- выявление запаса полифосфата в виде волютина (окраска метиленовым синим, волютин в виде капель окрашен в сине-фиолетовый, а цитоплазма – в голубой цвет);
- выявление жира (окраска суданом 111, капли жира окрашиваются в красный цвет).

4. Освоить метод непосредственного счета микроорганизмов с использованием камеры Горяева на примере клеток дрожжей.

На поверхность клетки наносят каплю исследуемой суспензии, накрывают шлифованным стеклом и притирают покровное стекло к боковым площадкам. Подсчет клеток производят через 3-5 мин, чтобы клетки осели и расположились в одной плоскости. Подсчет проводят с объективом 8X или 40X, для получения достоверных результатов – в 5 больших или 20 малых квадратах в 3-х повторностях. Количество клеток в 1 мл исходной суспензии (С):

$$C = a \cdot 1000 \cdot n / h \cdot S, \text{ где}$$

a – среднее число клеток в квадрате сетки; h – глубина камеры 0,1 мм; S – площадь квадрата сетки (1/25 мм² большого квадрата) или 1/400 мм² малого квадрата); n – степень разведения исходной суспензии.

Содержание отчета: зарисовки просмотренных препаратов дрожжей с выводами о морфологических, тинкториальных свойствах, наличии гликогена, волютина, жира, способах размножения.

Контрольные вопросы

1. Особенности строения и размножения дрожжевых клеток.
2. Методы выявления клеточных включений в дрожжевых клетках.
3. Особенности метаболизма дрожжей.
4. Классификация дрожжей.

Лабораторная работа № 16

Изучение морфологических и культуральных свойств возбудителей молочнокислого брожения

Цель и содержание: изучить морфологические, культуральные, биохимические свойства молочнокислых микроорганизмов, применяющихся в биотехнологии.

Теоретическое обоснование

К основным характеристикам молочнокислых микроорганизмов относятся: морфология, тип брожения (гомо- или гетероферментативное), оптимальная температура развития, энергия кислотообразования, предельная кислотность, создаваемая культурой в молоке; органолептические свойства сгустка – консистенция, вкус, запах.

Знание свойств заквасочной микрофлоры и умение управлять процессом ее культивирования необходимы биотехнологу для получения качественной и безопасной продукции.

Аппаратура и материалы: чистые культуры молочнокислых кокков и палочек разных видов (в колбах и пробирках с обезжиренным молоком, колонии на АГМ); материалы и оборудование для приготовления фиксированных препаратов – предметные стекла, спиртовки, бактериологические петли, красители; микроскопы; пипетки, колбы, титровальные установки и 0,1 н р-р NaOH, фенолфталеин.

Методика и порядок и выполнения работы

1. Исследуйте свойства следующих видов молочнокислых кокков и палочек:

- *Lactococcus. lactis* subsp. *lactis* (молочный лактококк);
- *Lac. lactis* subsp. *cremoris* (сливочный лактококк);
- *Lac. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (ароматообразующий лактококк);
- *Str. thermophilus* (термофильный стрептококк);
- *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* или subsp. *dextranicum* (ароматообразующие лейконостоки);
- *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricum* (болгарская палочка);
- *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* (молочная палочка);
- *Lb. acidophilum* (ацидофильная палочка);
- *Lb. helveticum* (швейцарская палочка);
- *Lb. plantarum* (палочка плантарум);
- *Lb. casei* subsp. *casei* (сырная палочка).

Работу проведите в следующей последовательности:

- опишите колонии микроорганизмов на элективных плотных питательных средах (АГМ, АГМ с мелом, АГМ с цитратом);

- опишите органолептические свойства сквашенного культурой молока (консистенцию, вкус, запах);
- определите титруемую кислотность сгустка, отметьте время сквашивания;
- приготовьте фиксированные препараты культур, окрасьте их метиленовой синью, просмотрите под микроскопом в нескольких полях зрения и зарисуйте наиболее характерные виды, обратив внимание на форму, размер и взаимное расположение клеток;
- кратко опишите основные свойства изученных видов рядом с рисунком.

2. Ознакомьтесь с положением изученных микроорганизмов в «Определителе бактерий Берджи» (9-е издание).

Содержание отчета: зарисовки препаратов со всеми необходимыми данными о свойствах изученных микроорганизмов (название вида, предельная кислотность, энергия кислотообразования, тип брожения, применение).

Контрольные вопросы

1. Классификация микроорганизмов в зависимости от их роли в производстве биотехнологической продукции.
2. Классификация и общие свойства молочнокислых микроорганизмов.
3. Характеристика молочнокислых кокков: лактококков, стрептококков, лейкопастоков.
4. Характеристика молочнокислых палочек: термобактерий, стрептобактерий, бетабактерий.
5. Применение возбудителей молочнокислого брожения в биотехнологической и пищевой промышленности.

Лабораторная работа № 17

Методы количественного учета микроорганизмов

Цель работы: изучить сущность методик и освоить методы прямого счета клеток микроорганизмов, счета колоний, предельных разведений.

Теоретическое обоснование

Количественные методы используют для определения количества микроорганизмов в определенном объеме (или массе) исследуемого материала при исследовании доброкачественности и эпидемиологической безопасности пищевых продуктов, бактериологической загрязненности природных объектов и биологических субстратов, санитарном контроле воды, воздуха, оборудования и т.д. Стандартные методы определения суммарного микробного обсеменения могут быть разделены на три группы:

- прямой подсчет клеток микроорганизмов;
- количественный посев на плотные питательные среды и счет колоний;
- методы предельных разведений и титрационные посевы на жидкие питательные среды.

Выбор метода зависит от характера изучаемых объектов и цели исследований.

Для количественного микробиологического анализа отбирают т.н. среднюю пробу – сравнительно небольшое количество исследуемого материала, взятое как сумма проб из различных участков или в определенном объеме и представляющее среднее содержание микроорганизмов в материале. Пробы берут с соблюдением строгих условий стерильности. Чтобы не допустить размножения микроорганизмов после взятия пробы, ее охлаждают и приступают к анализу не позднее 2-6 ч (в зависимости от вида продукта или субстрата).

Подсчет клеток микроорганизмов под микроскопом производят в счетных камерах, на фиксированных препаратах или с помощью специальных приборов-счетчиков.

Счетная камера Горяева представляет собой толстое предметное стекло с нанесенной сеткой в виде больших и малых квадратов определенной площади и применяется для подсчета достаточно крупных объектов – дрожжей, одноклеточных водорослей, спор грибов и т.п. Метод прост, удобен, достаточно широко применяется в производственных условиях.

Подсчет клеток в единице объема суспензии с использованием фиксированных окрашенных мазков проводят по методу Виноградского-Брида. Сущность метода заключается в приготовлении мазка из строго определенного объема исследуемой суспензии ($0,01 \div 0,05$ мл) на определенной площади предметного стекла ($1-4 \text{ см}^2$). Преимуществом метода по сравнению с использованием счетных камер является возможность исследования мелких клеток бактерий.

Подсчет выросших на плотных питательных средах колоний - наиболее распространенный метод оценки микробного обсеменения объекта. При этом считают, что каждая изолированная колония является результатом развития одной клетки. Работа выполняется в три этапа: приготовление количественных разведений исходного материала; посев на плотную питательную среду; подсчет выросших колоний и определение количества микроорганизмов в единице объема (или массы) исследуемого объекта.

Недостатком метода является заниженная количественная оценка микробной обсемененности, т.к. абсолютно универсальных сред для всех микроорганизмов не существует. При использовании стандартных методов культивирования можно говорить

лишь о КМАФАнМ (количестве мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов).

Метод предельных разведений (титрационный метод, метод наиболее вероятного числа НВЧ) заключается в определении предельного разведения исследуемого материала, содержащего жизнеспособные микроорганизмы. Для выполнения анализа в емкости с жидкой питательной средой вносят точные объемы из различных разведений материала и после инкубации определяют, в каком наименьшем количестве посевного материала обнаруживаются микроорганизмы. Это количество называется титром микроорганизмов. Титрационный метод применяется для определения микроорганизмов, которые плохо развиваются на стандартных питательных средах, а также для выявления бактерий определенных физиологических групп (молочнокислых, бактерий группы кишечной палочки, анаэробных и т.п.). При этом обычно используют селективные или дифференциально-диагностические среды.

Аппаратура и материалы: чистые культуры микроорганизмов в жидких питательных средах, чашки Петри с колониями микроорганизмов из разных разведений, пробирки со стерильным обезжиренным молоком и посевом культур молочнокислых микроорганизмов по методу предельных разведений, бактериологические петли, спиртовки, красители, счетчики колоний микроорганизмов.

Порядок и методика выполнения работы

1. Проведите количественный учет микроорганизмов в контрольном образце методом непосредственного подсчета клеток под микроскопом.

Метод подсчета клеток на мазке (Виноградского-Брида, для живых и мертвых клеток бактерий) включает следующие этапы:

- на предметном стекле очерчивают квадрат примерно 20х20 мм - место нанесения мазка (или накладывают стекло на миллиметровую бумагу с очерченной площадью);
- наносят каплю исследуемой суспензии с помощью микропипетки, отмечают объем капли;
- равномерно размазывают каплю исследуемой суспензии микроорганизмов на очерченной площади;
- мазок высушивают, фиксируют, окрашивают;
- микроскопируют препарат при максимальном увеличении, посчитывая количество клеток в 10-100 полях зрения, рассчитывают среднее количество клеток в поле зрения;
- зная площадь одного поля зрения, рассчитывают количество клеток на всей площади мазка;

- зная количество нанесенной суспензии, рассчитывают количество клеток в 1 см^3 исходного образца.

Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 1.

2. Используя подготовленные образцы посевов на МПА в чашках Петри, определите количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в исходном материале. Проведите количественный учет микроорганизмов методом счета колоний на плотных питательных средах (метод Коха), который используется для определения аэробных и факультативно-анаэробных живых микроорганизмов и включает следующие основные этапы:

- приготовление десятикратных разведений исследуемого объекта в стерильном физрастворе (в пробирках);
- посев 1 см^3 разведений (и/или продукта) на плотные питательные среды (поверхностный или глубинный, в чашках Петри);
- термостатирование (выращивание микроорганизмов при определенной температуре в течение определенного времени);
- учет посевов – подсчет количества колоний, определение среднего по нескольким разведениям, пересчет на 1 см^3 образца; результат дается в КОЕ – колониобразующих единицах.

Подсчет колоний проводят, не открывая чашек Петри, со стороны дна, отмечая просчитанную колонию карандашом по стеклу или пользуясь специальными автоматическими счетчиками. При значительном количестве колоний (сотни) площадь чашки со стороны дна делят на секторы, подсчитывают количество в 2-3 секторах, определяют среднее арифметическое и умножают на число секторов. Для определения микробной обсемененности исходного материала число колоний в чашке умножают на 10 в степени соответствующего разведения. Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 2.

3. Используя подготовленные образцы посевов в жидкую питательную среду (обезжиренное молоко) методом предельных разведений, определите наиболее вероятное количество молочнокислых микроорганизмов в исходном образце продукта. Проведите количественный учет микроорганизмов методом НВЧ – наиболее вероятного числа микроорганизмов (титрационный, предельных разведений) в следующей последовательности:

- проводим учет посевов исследуемого образца в жидкую питательную среду после термостатирования;
- рисуем схему посевов и отмечаем (зачеркиваем или штрихуем) пробирки с признаками роста микроорганизмов;
- определяем числовую характеристику, состоящую из трех цифр, и пишем ее под соответствующими разведениями;
- используя специальные таблицы, по числовой характеристике находим наиболее вероятное число микроорганизмов при параллельном заражении 2 (3, 4...) пробирок в разведении, соответствующем первой цифре числовой характеристики;
- проводим пересчет наиболее вероятного количества микроорганизмов на 1 см³ или 1 г образца
- если в образце несколько видов микроорганизмов, то готовят мазки, микроскопируют их и составляют числовую характеристику по каждому виду.

Оформите результаты количественного учета микроорганизмов в соответствии с примером, приведенным в приложении 3.

Содержание отчета: описание методов количественного учета с результатами собственных исследований по каждому из методов.

Контрольные вопросы

1. Цель и классификация методов количественного учета микроорганизмов.
2. Сущность и этапы непосредственного подсчета клеток под микроскопом. Камеры Горяева. Метод Виноградского-Брида.
3. Сущность и этапы метода счета колоний.
4. Сущность и этапы метода предельных разведений (НВЧ).
5. Современные методы количественного учета микроорганизмов.

Лабораторная работа № 18

Микробиологическое исследование объектов окружающей среды и биотехнологической продукции (посев, учет)

Цель: изучить требования СанПиН к питьевой воде, воздуху производственных помещений, биотехнологической продукции; освоить методы микробиологического исследования и оценки состояния воды, воздуха, оборудования, рук работников предприятия; разных видов готовой продукции.

Теоретическое обоснование

К объектам контроля санитарно-гигиенического состояния производства биотехнологической продукции относят оборудование, трубопроводы, аппаратуру, посуду, инвентарь, тару, руки и спецодежду работников, воду, воздух, а также вспомогательные материалы производства.

Вода, используемая в биотехнологическом производстве, должна отвечать требованиям СанПиН 2.1.4.559-96 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества». Нормы по микробиологическим показателям приведены в таблице 1. Анализ воды проводится в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.671-97 «Методы санитарно-микробиологического анализа питьевой воды».

Таблица 1 – Нормы для воды питьевой из централизованной системы водоснабжения

Микробиологический показатель	Норма
Общее микробное число, КОЕ/1см ³	Не более 50
Термотолерантные колиформные бактерии	Не допускаются в 100 мл
Общие колиформные (БКГП)	Не допускаются в 100 мл
Колифаги, число бляшкообразующих единиц (БОЕ)	Не допускаются в 100 мл
Споры сульфитредуцирующих клостридий	Не допускаются в 20 мл

В биотехнологической промышленности в **воздухе** производственных помещений определяют общее количество бактерий (КМА), количество дрожжей (Др) и плесеней (Пл) не реже одного раза в месяц.

Примерные микробиологические показатели оценки воздуха седиментационным методом (методом осаждения микробов на поверхность среды в чашках Петри) приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Оценка воздуха по микробиологическим показателям

Объект анализа	Оценка								
	отлично			хорошо			удовлетворит.		
	Количество колоний, выросших в чашке Петри (осаждение в течение 5 мин)								
	КМА	Пл	Др	КМА	Пл	Др	КМА	Пл	Др
Воздух цеховых помещений	До 20	-	-	20-50	До 5	До 5	50-70	До 5	До 5
Воздух остальных помещений	До 30	До 5	-	30-70	5-10	До 5	70-100	До 15	5-10

Аппаратуру и оборудование контролируют после мойки и дезинфекции непосредственно перед началом работы. Смывы с плоских поверхностей оборудования с площади около 100 см² отбирают ватными или марлевыми тампонами, смачивая их в стерильной воде (3-4 мл). Затем весь объем смыва (можно вместе с тампоном) засевают в 5 мл среды Кесслер. БГКП в смывах должны отсутствовать. В случае необходимости проводят посев 1 мл смыва на КМАФАнМ, а оставшееся количество засевают в среду Кесслер или Кода.

Руки работников контролируют без предварительного предупреждения перед началом работы. Смыв с рук делают тампоном, смоченным в стерильной воде, обтирая поверхности обеих рук. В смывах не должны обнаруживаться БГКП. Контроль хлорирования рук проводят с помощью йод-крахмального индикатора: если после его нанесения на поверхности рук появляется сине-бурое окрашивание, руки были обработаны раствором хлорной извести.

Аппаратура и материалы: нормативные документы, образцы пищевых продуктов (в потребительской упаковке или в стерильных бюксах по 1г), чашки Петри, питательная среда для определения КМАФАнМ (МПА), питательная среда для определения дрожжей и плесеней (БФ), питательная среда для определения БГКП (среда Кесслер), пробирки со стерильной водой для приготовления разведений, стерильные пипетки, спиртовки.

Методика и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться со структурой и содержанием основных законодательных документов биотехнологической промышленности.
2. Изучить и описать в тетради методы микробиологического анализа и требования к качеству воды, используемой в производственных процессах. Отобрать пробу водопроводной воды, исследовать ее на основные микробиологические показатели.
3. Изучить и описать в тетради методы микробиологического исследования и требования к воздуху производственных помещений. Провести анализ воздуха помещения седиментационным методом.
4. Изучить и описать в тетради методы контроля санитарно-гигиенического состояния оборудования, инвентаря, посуды, тары, рук персонала. Провести смывы и посеvy с оборудования и рук.
5. По результатам проведенных исследований заполнить таблицу 3 и сделать вывод о соответствии исследованных объектов требованиям санитарных норм.

Таблица 3 – Результаты микробиологических исследований санитарного состояния производства в экспериментальном цехе

№	Объект	Нормируемые показатели	Результаты исследований

6. Изучить нормативные требования СанПиН к микробиологическим показателям разных видов продукции отрасли и записать их в тетрадь.

7. Составить схему определения микробиологических показателей одного из видов продуктов по заданию преподавателя по образцу, приведенному в приложении 4. Провести необходимые разведения и посевы для исследования микробиологических показателей образца продукции.

8. Провести учет посевов. Обобщить данные исследования группы в виде таблицы 4 и сделать вывод о соответствии исследованных продуктов требованиям стандартов.

Таблица 4 - Результаты определения микробиологических показателей

№	Название продукта	КМАФАнМ, КОЕ / г	БГКП (наличие или отсутствие в Х г продукта)	Дрожжи и плесени, КОЕ / г

Контрольные вопросы:

1. Какие группы микроорганизмов играют роль в формировании качества и безопасности биотехнологической продукции?
2. Какие микробиологические показатели контролируются в биотехнологической продукции?
3. Как проводится отбор проб и исследование микробиологических показателей продукции на производстве?
4. Что такое санитарно-показательные микроорганизмы?
5. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние воды?
6. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние воздуха?
7. По каким показателям контролируют санитарно-гигиеническое состояние оборудования и аппаратуры?

Рекомендуемая литература

1. Перечень основной литературы:

1. Рябцева С.А. Общая биология и микробиология. Часть 1. Общая биология [Электронный ресурс] : учебное пособие / С.А. Рябцева. — Электрон.текстовые данные. — Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет, 2016. — 149 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/66069.html>

2. Богомолова, А. Ю. Биология в современном мире [Электронный ресурс] : учебное пособие / А. Ю. Богомолова, О. В. Кабанова. — Электрон. текстовые данные. — Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. — 130 с. — 978-5-7410-1822-4. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/78766.html>

3. Тюменцева, Е. Ю. Основы микробиологии : учебное пособие / Е. Ю. Тюменцева. — Омск : Омский государственный институт сервиса, Омский государственный технический университет, 2015. — 123 с. — ISBN 978-5-93252-357-5. — Текст : электронный // Электроннобиблиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. — URL: <http://www.iprbookshop.ru/32788.html>

4. Красникова Л.В. Общая и пищевая микробиология. Часть I [Электронный ресурс] : учебное пособие / Л.В. Красникова, П.И. Гунькова. — Электрон.текстовые данные. — СПб. : Университет ИТМО, 2016. — 135 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/67411.html>

2. Перечень дополнительной литературы:

1. Мышалова О.М. Биология [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Мышалова О.М.— Электрон. текстовые данные.— Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2014.— 107 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/61261.html>.— ЭБС «IPRbooks»

2. Тулякова О.В. Биология [Электронный ресурс]: учебник/ Тулякова О.В.— Электрон. текстовые данные.— Саратов: Вузовское образование, 2014.— 448 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/21902.html>.— ЭБС «IPRbooks»

3. Емцев, Всеволод Тихонович. Микробиология : учебник для бакалавров : [для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям и специальностям агрономического образования] / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. - 8-е изд., испр. и доп. - Москва : Юрайт, 2016. -446 с.

4. Гусев, Михаил Викторович. Микробиология : учебник для студ.вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева.- 9-е изд., стер. - Моск Академия, 2010. - 461, [1] с.

5. Нетрусов, Александр Иванович. Микробиология : Университетский курс : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. - 4-е изд., перераб. и доп. - Москва. : Академия, 2012. - 384 с.

8.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине (модулю)

Общая биология и микробиология : методические указания к лабораторным работа для студентов специальности «Биотехнология» / сост. С. А. Рябцева - 71 с.

Градова, Н. Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии / Н. Б. Градова, Е. С. Бабусенко, И. Б. Горнова. - [2-е изд., перераб. и доп.]. - М. : ДеЛи принт, 2004. - 144 с. - Библиогр.: с. 138. - ISBN 5-94343-060-1

3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://mediaterra.ru/project/biology> - интерактивный учебник по биологии. Темы по зоологии, ботанике, микробиологии, истории науки

<http://microbiology.ucoz.org/> - справочная информация по микробиологии

<http://www.biology.ru> - содержание учебного компакт-диска "Открытая биология", обзор сетевых ресурсов по биологии; отдельные интерактивные демонстрации моделей;

<http://www.e-cell.org/> - информация о разработках в области компьютерной биологии: моделирование процессов, происходящих в клетке и органеллах, изучение биохимических путей и биоритмов;

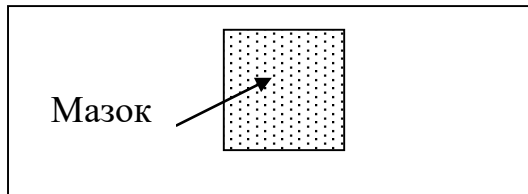
<http://www.informika.ru/text/database/biology/> - теоретические основы цитологии, генетики, экологии, теории эволюции

<http://www.microbiologyinpictures.com>- атлас по микробиологии

Приложение 1

Пример оформления результатов метода непосредственного подсчета клеток под микроскопом

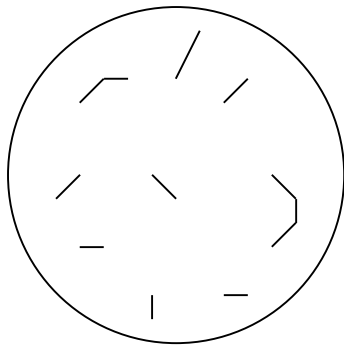
Исследуемый образец – сыворотка, содержащая молочнокислые палочки, разведенная в 100 раз.



Площадь очерченного мазка

$$S_m = 255 \text{ мм}^2.$$

Объем нанесенной капли 0,05 см³



Фиксированный мазок

Окраска метиленовой синью

Количество палочковидных клеток в 10 полях зрения при увеличении 90x15:

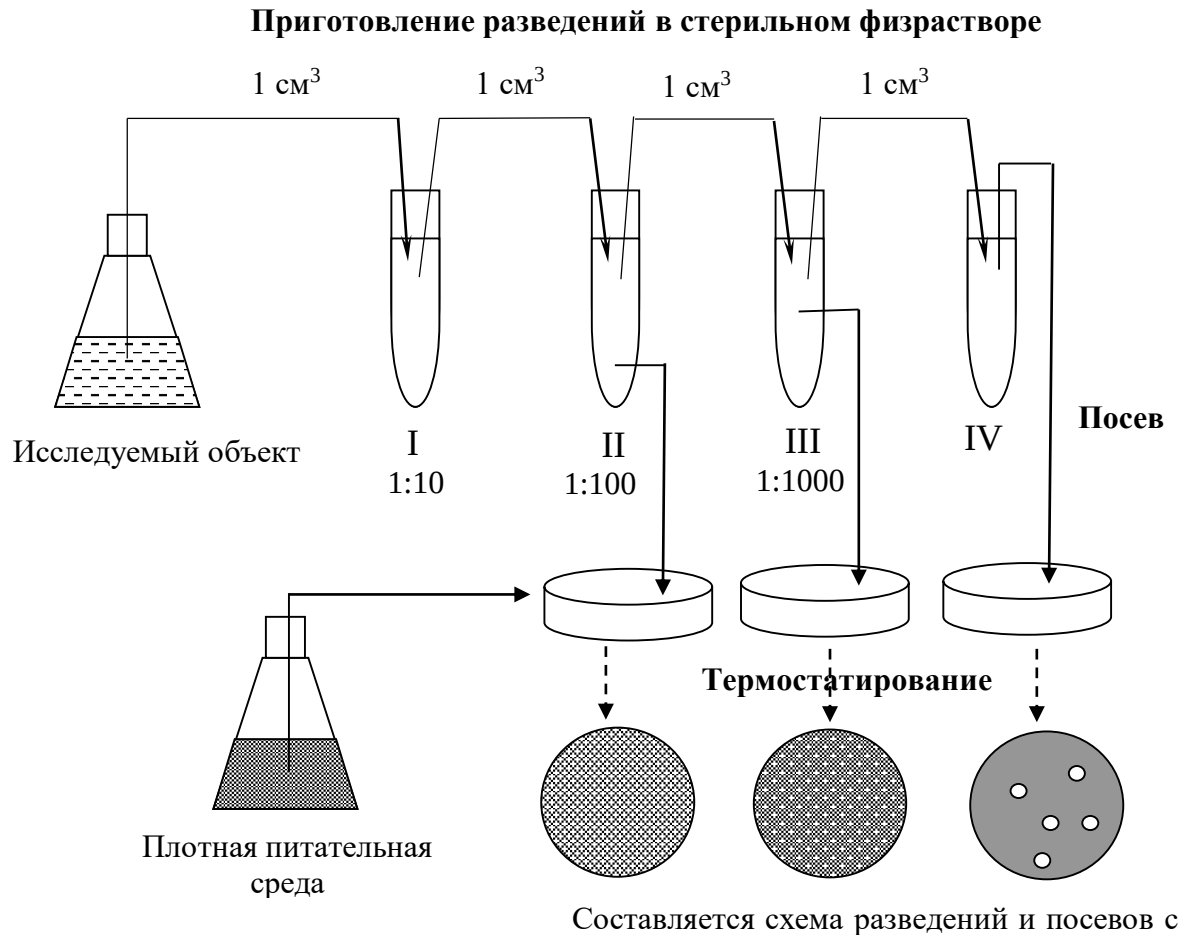
8, 3, 15, 12, 23, 2, 19, 20, 11, 19

Среднее количество клеток: 13,2

Так как площадь одного поля зрения равна 0,02 мм², то на всем мазке находится 168300 клеток. На мазок было нанесено 0,05 см³ разведения сыворотки, следовательно, в 1 см³ разведения сыворотки содержится $3,4 \cdot 10^6$ клеток. Учитывая разведение в 100 раз, можно сделать

Вывод: *в 1 см³ сыворотки содержится $3,4 \cdot 10^8$ молочнокислых палочек*

Пример оформления результатов метода счета колоний



указанием объекта, питательной среды и условий термостатирования.

Подсчет количества колоний в разведениях:

II – 246 колоний → в 1 см^3 образца содержится $246 \cdot 10^2 \text{ КОЕ}$;

III – 51 колония → в 1 см^3 образца содержится $51 \cdot 10^3 \text{ КОЕ}$;

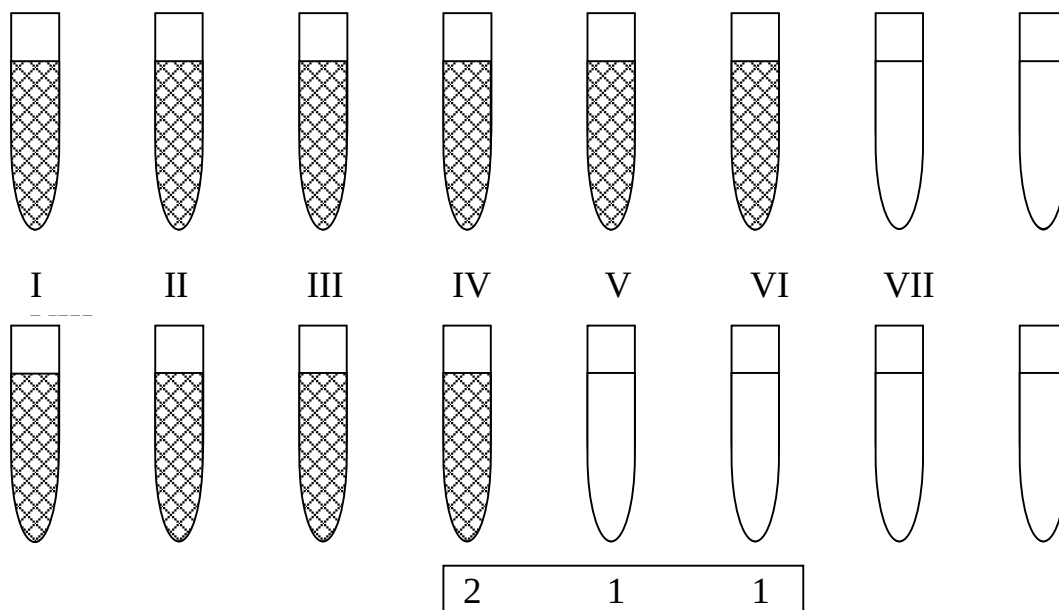
IV – 5 колоний → в 1 см^3 образца содержится $5 \cdot 10^4 \text{ КОЕ}$.

Среднее: $(2,46 \cdot 10^4 + 5,1 \cdot 10^4 + 5 \cdot 10^4) / 3 = 4,2 \cdot 10^4$

Вывод: в 1 см^3 исследуемого образца содержится $4,2 \cdot 10^4 \text{ КОЕ}$

Пример оформления результатов метода НВЧ

Задание: Определите количество молочнокислых микроорганизмов в йогурте по результатам посевов образца в 2 параллельных ряда пробирок со стерильным обезжиренным молоком, которые термостатировались при 40°C в течение 24 ч. Пробирки, в которых образовался сгусток, на схеме заштрихованы.



Числовая характеристика, определенная по схеме посевов, равна 211. Следовательно, наиболее вероятное число микроорганизмов при параллельном заражении 2 пробирок, определенное по таблице и соответствующее IV разведению, равно 13. Если в 4 разведении, т.е. в 10^{-4} см³ образца содержится 13 клеток, то в 1 см³ образца содержится $1,3 \cdot 10^5$ клеток.

Вывод: в 1 см³ образца йогурта содержится $1,3 \cdot 10^5$ клеток молочнокислых микроорганизмов.

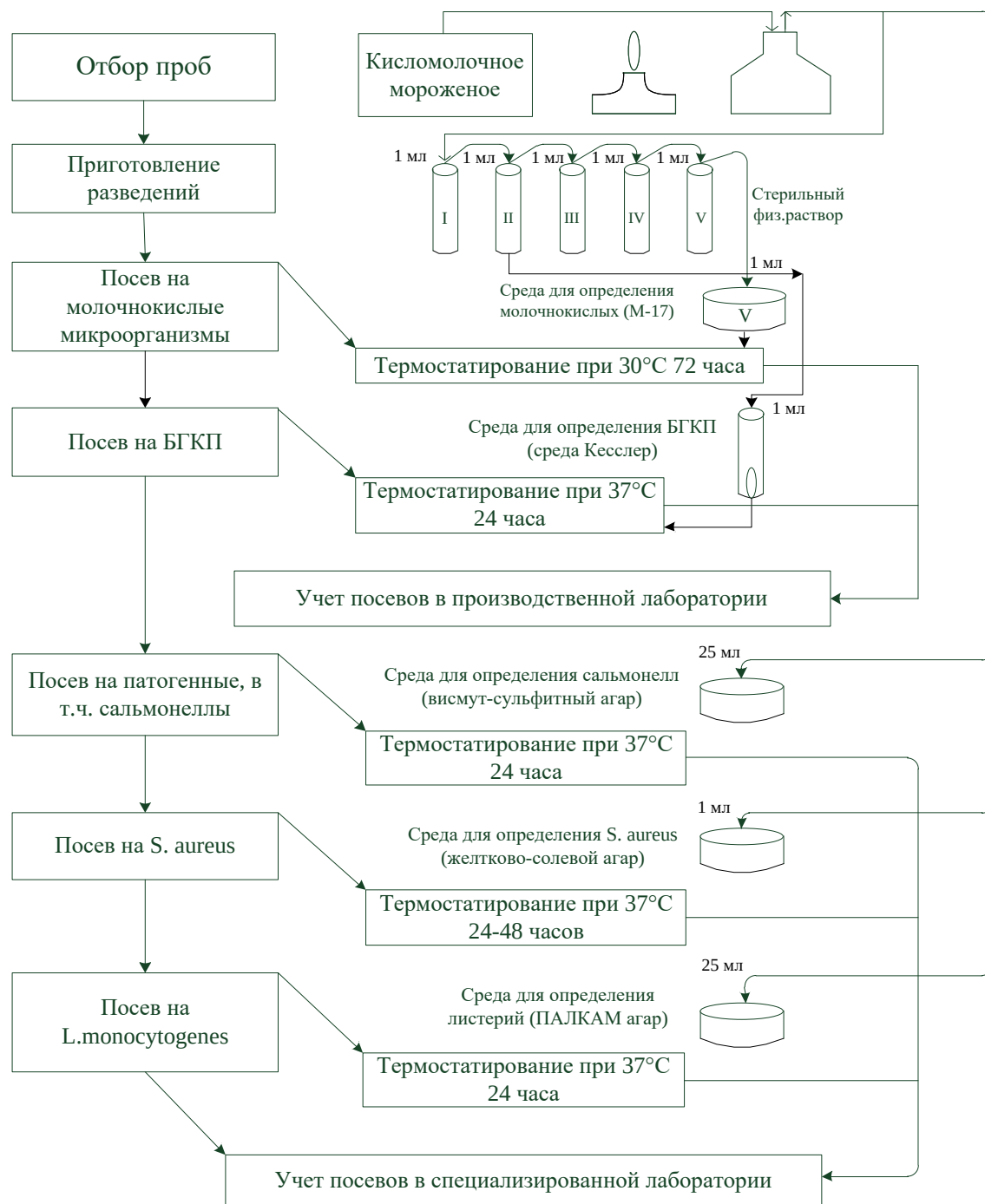


Рис.2. Схема проведения микробиологических исследований продукта «Кисломолочное мороженое»

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

по выполнению практических занятий
по дисциплине «**Общая биология и микробиология**»
для студентов направления подготовки /специальности
19.03.01 - Биотехнология
Направленность (профиль) Промышленная биотехнология

Практическое занятие 1, 2

История развития биологии. Методы исследований в биологии

Цель: изучить историю развития и основные методы исследований, применяющиеся в биологии; научиться использовать полученные знания для решения конкретных задач

Теоретические положения

При выполнении практических занятий необходимо соблюдать следующие правила.

1. Приходить на занятия подготовленным, с оформленной предыдущей работой и выученным теоретическим материалом.
2. Строго соблюдать общие правила техники безопасности работы с электроприборами, стеклянной посудой и химическими веществами.
3. В аудитории нельзя находиться в верхней одежде, принимать пищу, курить; на столах не должно быть посторонних предметов.
4. В конце занятия студент обязан привести в порядок рабочее место, сдать его дежурному. Дежурный сдает аудиторию лаборанту.

Биология изучает живые системы с помощью различных методов. Основными являются наблюдение и эксперимент, к важным относятся описательный, сравнительный и исторический методы; в настоящее время в биологии все большую роль играют статистические методы и метод моделирования.

Наблюдение – отправной пункт всякого естественнонаучного исследования. В биологии это особенно хорошо заметно, так как объект ее изучения – человек и окружающая его живая природа. Наблюдение как метод собирания информации – хронологически самый первый прием исследования, появившийся в арсенале биологии, а точнее, еще ее предшественницы – естественной истории. И это неудивительно, так как наблюдение опирается на чувственные способности человека (ощущение, восприятие, представление).

Наблюдения могут быть прямыми или косвенными, они могут вестись с помощью технических приспособлений или без таковых. Так, орнитолог видит птицу в бинокль и может слышать ее, а может фиксировать прибором звуки вне слышимого человеческим ухом диапазона; гистолог наблюдает с помощью микроскопа зафиксированный и окрашенный срез ткани, а, скажем, для молекулярного биолога наблюдением может быть фиксация изменения концентрации фермента в пробирке.

В наблюдении важна не только точность, аккуратность и активность наблюдателя, но и его непредвзятость, его знания и опыт, правильный выбор технических средств. Постановка задачи предполагает также наличие плана наблюдений, т.е. их плановость.

Экспериментальный метод исследования явлений природы связан с активным воздействием на них путем проведения опытов (экспериментов) в контролируемых условиях. Этот метод позволяет изучать явления изолированно и достигать повторяемости результатов при воспроизведении тех же условий. Эксперимент обеспечивает более глубокое, чем другие методы исследования, раскрытие сущности биологических явлений. Именно благодаря экспериментам естествознание в целом и биология частности дошли до открытия основных законов природы. Экспериментальный метод служит не только для проведения опытов, получения ответов на поставленные вопросы, но и для доведения правильности принятой в начале гипотезы или позволяет скорректировать ее.

Полный цикл экспериментального исследования состоит из нескольких стадий. Как и наблюдение, эксперимент предполагает наличие четко сформулированной цели исследования, плана, базируется на предположениях, т.е. исходных положениях. Поэтому, приступая к эксперименту, нужно определить его цели и задачи, обдумать возможные

результаты. Научный эксперимент должен быть хорошо подготовлен и тщательно проведен. Кроме того, эксперимент требует определенной квалификации проводящих его исследователей.

На втором этапе выбираются конкретные приемы и средства технического воплощения и контроля. В последние полвека в биологии широко используются методы математического планирования и проведения экспериментов. Результаты проведенного опыта затем интерпретируются, что дает возможность истолковать их. Таким образом, замысел, план проведения и интерпретация результатов эксперимента в гораздо большей степени зависят от теории, чем поиски и интерпретации данных наблюдения.

Собрав фактический материал, необходимо, прежде всего, описать его. Поэтому биологические наблюдения всегда сопровождаются описанием изучаемого объекта. Под эмпирическим **описанием** понимается «фиксация средствами естественного или искусственного языка сведений об объектах, данных в наблюдении». Это означает, что описывать результат наблюдения можно и в числовом выражении, формулами, а также наглядным образом – с помощью рисунков, схем, графиков. Факт, полученный в результате наблюдения, может быть многозначным, так как зависит от многих привходящих обстоятельств и несет на себе отпечаток наблюдателя, места и времени события. Поэтому, строго говоря, только из наличия факта еще не следует его истинность. Иными словами, факты нуждаются в интерпретации.

Работа по описанию живой природы, проведенная в XVI–XVII вв. в биологии, имела огромное значение для ее развития. Она открыла пути к систематизации животных и растительных организмов, показав все их разнообразие. Кроме того, эта деятельность значительно расширила сведения о формах и внутреннем устройстве живых организмов.

Позже описательный метод лег в основу **сравнительного и исторического** методов биологии. Правильно составленные описания, произведенные в разных местах, в разное время, можно сравнивать. Это позволяет путем сопоставления изучать сходство и различие организмов и их частей. Находя закономерности, общие для разных явлений, имея в своем распоряжении соответствующие описания, биолог может сравнить размеры раковин моллюсков одного биологического вида в наши дни и при Ламарке, поведение лося в Сибири и на Аляске, рост культуры клеток при низкой и высокой температуре и так далее. Поэтому сравнительный метод получил распространение еще в XVIII веке. На его принципах была основана систематика и сделано одно из крупнейших обобщений – создана клеточная теория.

Исторический метод исследования явлений природы выясняет закономерности появления и развития биологических систем, становления их структуры и функций; является основой создания теории эволюции. С введением этого метода в биологии произошли качественные изменения: из чисто описательной науки она стала трансформироваться в науку объясняющую.

Статистический метод исследования явлений природы основывается на сборе, измерении и анализе информации.

Метод **моделирования** представляет собой изучение определенного процесса или явления через воссоздание его (или его свойств) в виде модели.

Биология – фундаментальная наука. К основным этапам научного исследования относятся следующие:

- ✓ Постановка проблемы.
- ✓ Формулирование темы, целей и задач исследования.
- ✓ Выдвижение гипотез (научных предположений).
- ✓ Планирование эксперимента, выбор методов исследования.
- ✓ Проведение практической части исследования, регистрация качественных и количественных результатов.

- ✓ Многократное повторение эксперимента для достоверности.
- ✓ Обработка полученных результатов.
- ✓ Анализ полученных результатов.
- ✓ Формулировка выводов, проверка гипотез.
- ✓ Определение круга нерешенных вопросов.
- ✓ Оформление итогов исследования.

На основе анализа данных экспериментов или научных фактов (событий или явлений, точно установленных и многократно подтвержденных исследованиями многих ученых) может быть сформулирована теория (система наиболее общих знаний в определенной области науки) или закон - вербальное и/или математически сформулированное утверждение, которое описывает соотношения, связи между различными научными понятиями, предложенное в качестве объяснения фактов и признанное на данном этапе научным сообществом согласующимся с экспериментальными данными.

Задания

1. Изучить по методичке и рекомендованным источникам методы, применяющиеся в биологии, описать их в тетради в виде таблицы, заполнив первые три колонки.

№	Название метода	Сущность, виды	Пример использования метода

2. Используя таблицу «Важнейшие даты в биологии» (приложение 1), заполните четвертую колонку таблицы.

3. Выберите по три наиболее важных (с вашей точки зрения) события в развитии:
 - микробиологии;
 - цитологии;
 - генетики.

4. В лаборатории исследовали влияние температуры на размножение бактерий. После эксперимента были получены следующие данные: при температуре 10°C количество бактерий было равно 300, при 20 °C – 14000, при 30 °C – 28000000, при 40 °C - 27000, при 50 °C - 60. Отрадите эти данные на графике. Опишите полученную закономерность. Определите оптимальную температуру развития для данного вида бактерий.

- 5*. Составьте примерный план эксперимента по изучению причин порчи любого выбранного вами пищевого продукта, включив обязательные пункты:

- краткое описание объекта, постановка проблемы, формулировка гипотезы;
- цель и задачи работы;
- факторы, которые вы хотите изучить;
- выходные параметры и методы их контроля, которые вы хотели бы использовать;
- возможные варианты представления полученных данных;
- возможную научную и практическую ценность полученных вами результатов.

Контрольные вопросы

1. Методы исследований в биологии.
2. История развития биологических наук.
3. Принципы научных исследований в биологии.

Практическое занятие 3, 4

Виды световой микроскопии. Виды электронной микроскопии

Цель: изучить сущность методов микроскопии, составить их классификацию.

Теоретические положения

Для исследования объектов малой величины, лежащей за пределами видимости обычных световых микроскопов, используют различные виды световой микроскопии, в т.ч. темнопольную, фазово-контрастную, люминесцентную и др., а также электронную микроскопию.

Классификация световых микроскопов основана на нескольких признаках.

Первый признак: объект исследования.

По этому признаку микроскопы можно разделить на следующие *основные виды*:

- ✓ **микроскопы плоского поля** — это микроскопы, оптическая схема которых обеспечивает воспроизведение объекта в двумерном пространстве — двумерное изображение (по координатам X-Y/площадь). Объекты исследования — тонкие, в среднем, толщиной от 10 мкм до 0,1 мм, просматриваемый слой от 1 мм до 0,001 мм. В этих микроскопах возможно наблюдение объемного изображения в пределах 100-200 мкм по высоте за счет особых способов освещения (эффекты косого освещения, фазового контраста, дифференциально-интерференционного контраста);
- ✓ **стереоскопические микроскопы** — это микроскопы, оптическая схема которых обеспечивает воспроизведение объекта в трехмерном пространстве — объемное, трехмерное изображение (по координатам X-Y-Z/объем). Объекты исследования — габаритные, в среднем, толщиной от 100 мкм до 1 мм, просматриваемый слой по высоте/глубине — от 50 мкм до 0,5 мм. В этих микроскопах можно наблюдать и плоские объекты.

Второй признак: конструкция осветительной системы микроскопа.

В зависимости от *способа освещения* все рассмотренные выше типы микроскопов можно разделить следующим образом:

- **микроскопы проходящего света** (классические микроскопы для биолого-медицинских исследований), основной принцип освещения в которых связан с тем, что свет проходит через объект. С помощью микроскопов проходящего света плоского поля, которые могут быть как прямыми, так и инвертированными, а также стереоскопическими, можно рассматривать прозрачные и полупрозрачные объекты;
- **микроскопы отраженного света** (металлографические микроскопы), основной принцип освещения в которых связан с тем, что свет падает на объект и отражается от него. На микроскопах отраженного света плоского поля, которые могут быть как прямыми, так и инвертированными, а также стереоскопическими, исследуются объекты непрозрачные, с различной степенью отражающей способности, и полупрозрачные.

Третий признак: принцип построения изображения.

В основном, это связано с физико-химическими явлениями, которые возникают при воздействии светового потока на объект или препарат, приготовленный специальным способом. При этом световой поток также может быть подвержен изменению, как по форме, так и по своим физическим свойствам. В таком случае микроскопы можно разделить следующим образом.

- **Микроскопы светлого поля** обеспечивают следующую картину — на светлом фоне более темное изображение объекта. Основные условия освещения: это обычный прямо проходящий свет, изменения в котором могут быть связаны только с длиной волны

светового потока, определяемой применением в осветительной системе широкополосных светофильтров из обычного цветного стекла.

- **Микроскопы темного поля** гарантируют такое изображение — на темном фоне можно наблюдать более светлое изображение объекта или ярко блестящий контур объекта. Основные условия освещения: а) в микроскопах проходящего света — обычный прямо проходящий свет полностью перекрывается до того, как попадает на объект; б) в микроскопах отраженного света — обычный свет, проходя через кольцевую диафрагму с непрозрачным диском, по размеру перекрывающим выходной зрачок объектива.
- **Микроскопы с методом фазового контраста** (самый популярный микроскоп для биолого-медицинских исследований прозрачных слабоконтрастных объектов) дают возможность с максимальной степенью визуализации и детальности наблюдать на сером фоне более темное «объемное» изображение объекта, окруженное по контуру светлой полосой; при негативном (темнопольном) фазовом контрасте картина обратная. Основные условия освещения: обычный прямо проходящий свет перекрывается, но в два этапа — часть света до объекта, а затем после объекта прошедшая часть света перекрывается с ослаблением. При этом свет в виде светового кольца определенной площади проходит через объект, а затем после объекта — через полупрозрачное кольцо в объективе.
- **Люминесцентные микроскопы** обеспечивают возможность наблюдения на темном фоне свечения объектов. Основные условия освещения: обычный прямо падающий свет определенной длины волны попадает на объект, изображение объекта строится в другой длине волны; выделение соответствующих областей спектра происходит с помощью сложной системы блоков интерференционных светофильтров. Собственная (первичная) люминесценция биологических объектов бывает часто слабо выражена, поэтому обычно препарат обрабатывают веществами-флюорохромами, которые создают наведенную (вторичную) флюоресценцию.
- **Поляризационные микроскопы** в общем случае обеспечивают наблюдение на сером или темном фоне разноцветного, четкого или контрастного изображения. Основные условия освещения: обычный прямо проходящий свет с помощью поляризатора в осветительной системе превращается в линейно-поляризованный свет, после объекта с помощью анализатора происходит выделение из структуры изображения тех элементов, которые связаны с анизотропией объекта.
- **Микроскопы дифференциально-интерференционного контраста или интерференционного контраста**, обеспечивающие наблюдение на однотонном цветном фоне яркого цветного «объемного» изображения или изображения того же цвета, что и фон, но с окантовкой из другого цвета. Основные условия освещения: обычный прямо проходящий свет с помощью поляризатора в осветительной системе превращается в линейно-поляризованный свет, после объекта с помощью специальной призмы (или другого специального элемента) и анализатора происходит создание объемного (в пределах глубины резкости объектива) цветного контрастного изображения независимо от того, является ли объект анизотропным или нет.
- **Ультрафиолетовые микроскопы и инфракрасные микроскопы** — освещение и наблюдение изображения объекта с помощью электронно-оптических преобразователей (ЭОПов) вне видимого спектрального диапазона: до 400 нм и свыше 700 нм.

Четвертый признак: способ наблюдения, документирования и анализа изображения:

- **Обычные микроскопы**, в которых изображение фиксируется и анализируется глазами человека; с помощью дополнительных съемных приспособлений можно выводить изображение на телеэкран и монитор, на фотопленку.

- **Фотомикроскопы** — это сложная фотосистема, она встроена в схему микроскопа (причем не одна, а две-три), работает с помощью полностью автоматизированной системы настройки, в микроскопе может быть осуществлена передача изображения на ТВ-экран, и может производиться видеозапись.
- **Анализаторы изображения** (аппаратно-программные комплексы) — это комплекс оборудования, в котором изображение фиксируется, передается с помощью аналоговых или цифровых камер и анализируется в системе компьютера, обрабатывающего изображение по определенной программе.
- **Микроскопы проекционные**, в которых проекция изображения осуществляется непосредственно на специальный большой экран (система обычного наблюдения с помощью окуляров отсутствует), при этом разработки конструкций и технологий изготовления экрана направлены на получение такого разрешения элементов изображения объекта, которое было бы приближено к разрешению обычного микроскопа.
- **Микроскопы сравнения**, оптические системы, в которых обеспечивают объединение в одном поле видения двух изображений, полученных с помощью двух разных микроскопов, при этом два изображения могут накладываться друг на друга или располагаться рядом, занимая какую-либо часть поля.

Развитие современной науки, техники и технологии ведет к усовершенствованию световых микроскопов, приближая их по разрешению и созданию изображения к электронным микроскопам. Все чаще встречаются такое словосочетание: лазерный сканирующий микроскоп, конфокальный микроскоп и туннельный микроскоп. В них используется принцип послойного сканирования изображения с различным шагом по глубине и площади с помощью лазерного луча или обычного пучка света минимального (точечного) размера. Шаг сканирования объекта по глубине может составлять доли микрона: чем он меньше, тем точнее воспроизводится объемный рельеф объекта.

Разрешающая способность светового микроскопа ограничена длиной световых волн. Максимально возможное разрешение равно половине длины волны используемого света. Получить изображение объекта размером меньше, чем эта величина, невозможно. Средняя длина волны видимого света составляет примерно 550 нм, поэтому в конце XIX в. могли получить разрешение примерно в 200 нм. Незначительное увеличение разрешающей способности было достигнуто благодаря использованию специально сконструированного микроскопа с ультрафиолетовым светом (длина волны которого составляет 250 нм), обеспечивающим разрешение примерно в 100 нм. Однако многие клеточные структуры имеют меньший размер.

Эта проблема была решена в тридцатые - сороковые годы, когда создание **электронного микроскопа** произвело революцию в биологической науке. Вместо светового излучения в электронном микроскопе используют пучок электронов, у которых длина волны значительно меньше и, следовательно, с намного большей разрешающей способностью. Длина волны электронов зависит от напряжения, подаваемого для генерации электронного пучка, но практически можно получить разрешение приблизительно в 0,5 нм, т. е. примерно в 500 раз больше, чем в световом микроскопе. Создаваемое увеличение достаточно, чтобы различить крупные молекулы. Лимитирующим фактором в достижении большего увеличения стало (и остается до сих пор) не усиление разрешающей способности микроскопа, а методы подготовки материала для исследования.

В сущности принцип действия электронного микроскопа такой же, как и светового микроскопа, в котором пучок световых лучей направляется линзой конденсора через образец, а полученное изображение затем, увеличивается с помощью линз. В табл. 1 суммированы некоторые сходства и различия между этими микроскопами. Запомните

также, что принципы подготовки материала для электронной и световой микроскопии примерно одинаковы, хотя имеются и важные различия (табл.1).

Сравнение светового и электронного микроскопов.		
	Трансмиссионный электронный микроскоп	Световой
Источник излучения	электроны	свет
Длина волн	например, 0,005 нм при 50 кВ	400 - 700 нм
Максимальное полезное увеличение	x2500 (на экране)	x1500
Максимальное разрешение		
на практике	0,5 нм	200 - 500 нм
в теории	0,2 нм	200 нм
Линзы	электромагниты	стеклянные
Объект	не живой, обезвоженный, относительно маленький или тонкий	живой или неживой
Распространённые красители	содержат цветные металлы, которые отражают электроны	цветные красители
Изображение	чёрно-белое	цветное

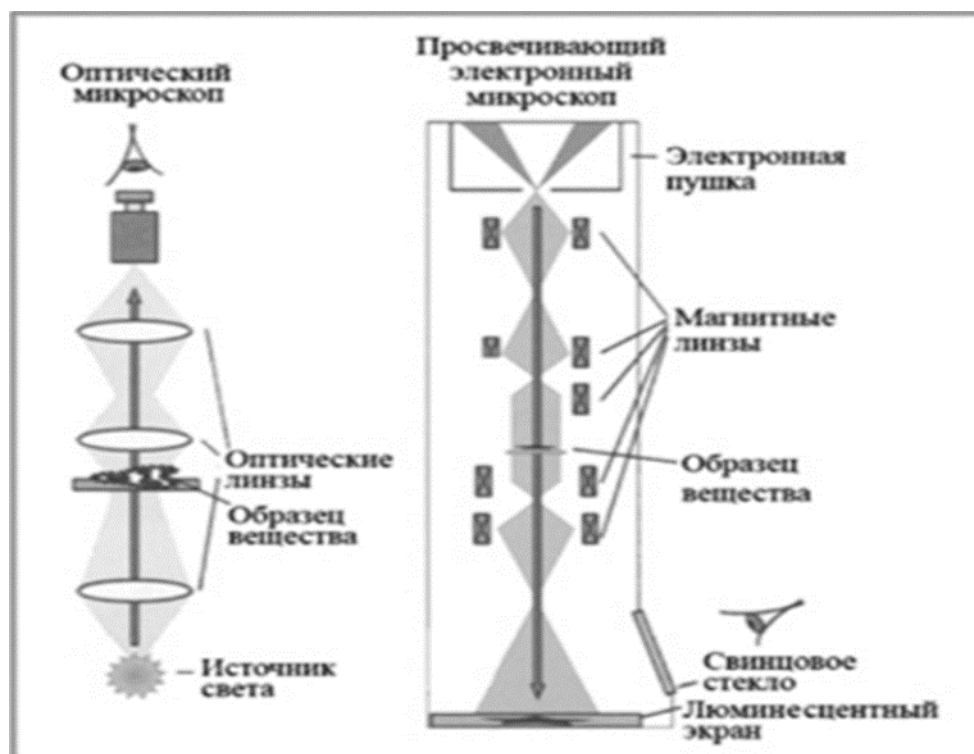


Рисунок 1.5 – Схема устройства светового и электронного микроскопов

В трансмиссионном (просвечивающем) электронном микроскопе электроны проходят через образец, поэтому для изучения можно использовать только очень тонкие срезы или частицы, так как электроны легко рассеиваются или поглощаются исследуемым

объектом. Части образца с относительно высокой молекулярной массой в наибольшей степени вызывают рассеивание электронов, поэтому при окрашивании образца с целью увеличения контраста используются тяжелые металлы, такие, как свинец или уран. Образец обычно удерживается на маленькой медной сетке (примерно 2 мм в диаметре), которую иногда для большей прочности покрывают тонкой пластмассовой пленкой. Пройдя через образец, электроны собираются и фокусируются добавочными электромагнитными линзами. Электроны невидимы для человеческого глаза, поэтому они направляются или на флуоресцентный экран, который воспроизводит видимое изображение, или же непосредственно на фотопленку, чтобы получить постоянный фотоснимок (электронную микрофотографию).

Для подготовки материала к исследованию используют различные приемы (они описаны ниже), но в любом случае материал должен быть мертвым, так как в процессе наблюдения он находится в вакууме, быстро нагревается и начинает разрушаться под действием пучка электронов. Фотографировать необходимо для регистрации информации в том случае, если требуется длительное изучение образца.

1. Окрашивание ультратонких срезов тяжелыми металлами. Срезы готовятся на ультратоме и окрашиваются соединениями тяжелых металлов, такими, как нитрат свинца, уранилацетат или осмиевая кислота. Окрашенные участки становятся малопроницаемыми для электронов, и, таким образом, на микрофотографиях они выглядят темными.

2. Негативное контрастирование. При негативном контрастировании окрашивается фон, тогда как сам образец остается неокрашенным. Этот метод особенно удобен при изучении деталей строения поверхности мелких частиц, таких, как рибосомы, вирусы и фрагменты изолированных органелл и мембран, так как краситель проникает между деталями поверхностного строения.

3. Напыление. Образец бомбардируется атомами тяжелых металлов, например золотом или платиной, в определенном направлении или под определенным углом. Поверхность образца покрывается слоем металла, непроницаемого для электронов. Закрытые площади, в том числе "тень" за образцом, не покрываются металлом и остаются относительно прозрачными для электронов. Они дают белый цвет (пропускают электроны, которые равнозначны свету). Так как человеческий глаз лучше воспринимает и интерпретирует темные отпечатки, обычно печатают негативы фотографий. Напыление используют также, чтобы выявить структуру поверхности мелких частиц, например вирусов.

4. Замораживание - скалывание и замораживание - травление. Фрагмент ткани быстро замораживается при очень низкой температуре и затем разламывается с помощью очень острого металлического лезвия. Ткань трескается вдоль слабо соединенных плоскостей, которыми часто являются мембраны. Образец выдерживают на холоде в глубоком вакууме; в этих условиях лед возгоняется, оставляя сколотую поверхность.

Сравнительно недавно был введен в употребление новый тип микроскопа - **сканирующий** электронный микроскоп. В нем очень точно сфокусированный пучок электронов движется взад и вперед по поверхности образца, а отраженные от его поверхности электроны собираются и формируют изображение, наподобие того, которое возникает на экране телевизора. Преимущество этого метода заключается в том, что детали строения поверхности видны с большей глубиной резкости, что создает эффект трехмерности (см. рис. 9.8 и 14.13). Разрешающая способность ниже, чем у трансмиссионного электронного микроскопа (5-20 нм), но при этом можно работать с образцами большего размера.

Порядок выполнения работы

1. Изучить сущность разных видов световой и электронной микроскопии по материалам методички, атласу и рекомендуемой литературе.
2. Составить и зарисовать в тетради классификационную схему «Виды микроскопии».
3. Зарисовать в тетради схему сравнения светового и электронного микроскопов.

Контрольные вопросы и защита работы

4. Классификация видов микроскопии.
5. Сущность фазово-контрастной микроскопии.
6. Сущность темнопольной микроскопии.
7. Сущность люминесцентной микроскопии.
8. Сущность поляризационной микроскопии.
9. Виды и сущность электронной микроскопии.
10. Сравнение электронной и световой микроскопии.

Практическое занятие 5, 6

Классификация растительных тканей

Цель: изучить различные виды растительных тканей и их функции, составить их классификацию.

Теоретические положения

Ткань — это совокупность клеток, имеющих сходное строение, общее происхождение и выполняющих определённые функции, а также межклеточного вещества, выделяемого этими клетками.

Строение тканей изучает наука гистология (от др.-греч. histos [гистос] — «ткань» и logos [логос] — «учение, наука»). Обычно выделяют 5 типов растительных тканей: покровные, основные, проводящие, механические и образовательные.

Все органы растения отделены от внешней среды покровными тканями. Покровные клетки плотно прилегают друг к другу и имеют прочные, иногда утолщённые оболочки. Межклеточного вещества почти нет. Основные функции покровных тканей — это защита растения от механических повреждений, высыхания, проникновения микроорганизмов, а также обеспечение газообмена и регулируемого испарения воды.

Клетки покровных тканей могут быть живыми или мёртвыми. Листья, молодые зелёные стебли, цветки и многие плоды покрыты кожицей. Кожица (эпидерма) образована одним слоем живых клеток. В нём есть особые образования — устьица. В зависимости от условий окружающей среды устьица могут открываться, формируя отверстия, и закрываться. Через открытые устьица происходит испарение влаги и газообмен — перемещение кислорода и углекислого газа. Молодые корни тоже снаружи одеты покровной тканью, её называют эпibleмой или ризодермой. В эпibleме корня нет устьиц, зато есть корневые волоски. Каждый корневой волосок — это длинная тонкостенная клетка покровной ткани. Соприкасаясь с частицами почвы, она всасывает воду с растворёнными в ней минеральными солями.

На многолетних частях растения кожица замещается пробкой. Клетки пробки откладываются наружу и отмирают после созревания. Таким образом, слой пробки состоит преимущественно из мёртвых клеток. Эти клетки имеют толстую клеточную стенку,

пропитанную жироподобным веществом, поэтому слой пробковых клеток практически не пропускает воду и воздух. Для обеспечения газообмена в пробке есть чечевички — бугорки, заполненные тонкостенными, рыхло расположенными округлыми клетками. Чечевички хорошо видны на молодых ветвях в виде бородавочек или штрихов.

Новые слои клеток пробки откладываются регулярно. Поскольку внешний слой пробки состоит из мёртвых, не способных к растяжению клеток, он трескается. Наружная трещиноватая часть коры многолетних побегов и корней, состоящая из нескольких слоёв мёртвых клеток пробки и погибших элементов проводящей ткани, называется коркой. Корка, таким образом, состоит не только из клеток покровной ткани, поэтому её называют покровным комплексом. На старых стволах некоторых видов деревьев развивается очень мощная корка. Плантации пробкового дуба и амурского пробкового дерева (амурского бархата) выращивают ради того, чтобы ежегодно получать урожай корки. Из неё изготавливают пробки для винных бутылок, стеновые панели, покрытия для пола и многое другое.

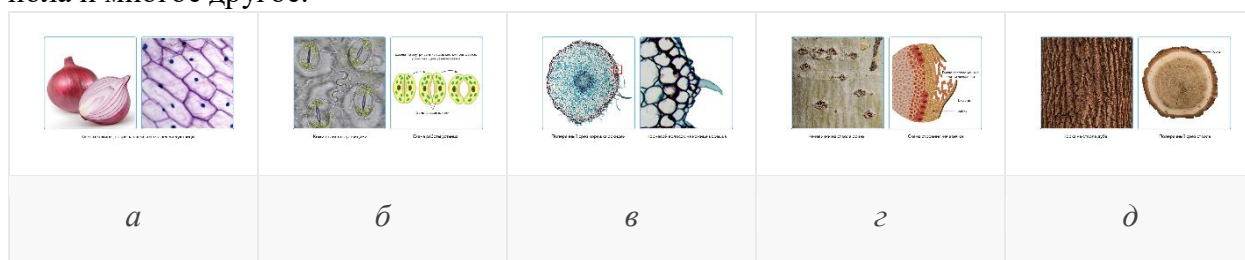


Рис. 1У. Виды покровной ткани растений (а–д)

Большая часть растения образована основной тканью — паренхимой. Она состоит из живых клеток и выполняет важнейшие функции: синтез органических веществ, газообмен с окружающей средой, запасание питательных веществ, воды и воздуха.

Фотосинтезирующая ткань — основная ткань зелёных частей растения (листьев, молодых стеблей, незрелых плодов). Эта ткань расположена под кожицей, состоит из тонкостенных клеток, содержащих множество хлоропластов. В клетках этой ткани на свету происходит синтез органических веществ — фотосинтез.

Запасающая ткань — ткань, преобладающая в зрелых плодах и семенах, сердцевине стеблей и корней, в луковицах, клубнях и корневищах. В клетках этой ткани откладываются запасные питательные вещества (крахмал, сахара, белки, жиры), которые впоследствии используются растением в процессе жизнедеятельности.

Водоносная ткань хорошо развита у суккулентов — растений, приспособленных к жизни в засушливых местах. Клетки этой ткани содержат крупные вакуоли со слизистыми веществами, удерживающими большое количество влаги. В период засухи водоносная ткань постепенно отдаёт накопленную влагу фотосинтезирующей ткани.

Воздухоносная ткань построена из очень рыхло расположенных клеток, между которыми остаются крупные межклетники, заполненные воздухом. Одна из главных функций воздухоносной губчатой ткани листа — газообмен. Сквозь устьица воздух проникает в межклетники, оттуда клетки растения во время фотосинтеза, в светлое время суток, поглощают углекислый газ и выделяют кислород, а ночью — наоборот, выделяют углекислый газ и поглощают кислород. У водных растений воздухоносная ткань, расположенная в разных органах, выполняет ещё одну важную функцию — она уменьшает удельный вес растения. Благодаря этому растения или отдельные их части, например плавающие листья и цветы, не тонут.

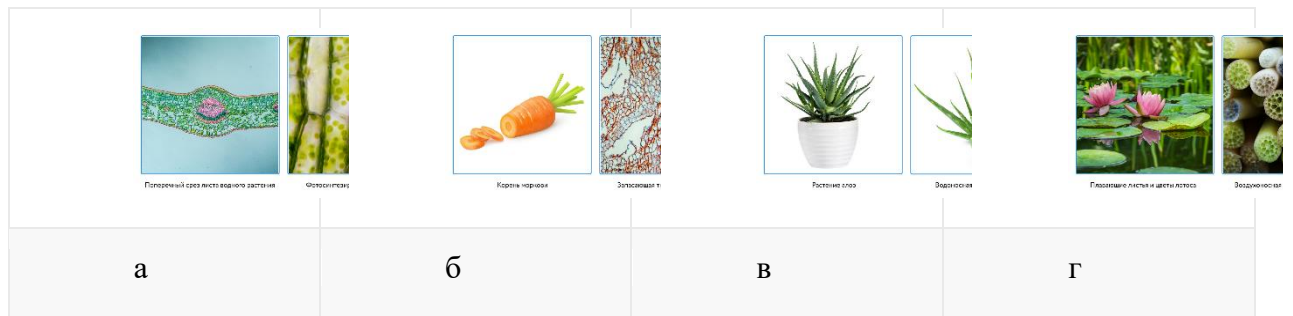


Рис. 2У. Виды основной ткани растений (а–г)

Проводящие ткани обеспечивают передвижение воды и питательных веществ по организму растения. Выделяют два вида проводящих тканей: ксилему (древесину), обеспечивающую восходящий ток, и флоэму (луб), обеспечивающую нисходящий ток. Это сложные (комплексные) ткани, состоящие не только из проводящих элементов, но также клеток механической и основной ткани.

По ксилеме осуществляется транспорт воды и минеральных веществ от корней к листьям. В её состав входят трахеиды и/или сосуды, клетки паренхимы и механической ткани.

Трахеиды — это мёртвые клетки. Они вытянуты в длину, с утолщёнными оболочками и скошенными концами. В местах вертикальных контактов клеток имеются поры, через которые вода и растворённые вещества проникают из одной трахеиды в другую. У папоротников, хвощей, плаунов и голосеменных растений трахеиды являются единственным видом проводящих элементов ксилемы. У покрытосеменных (цветковых) растений кроме трахеид есть сосуды.

Сосуды — длинные полые трубки, образованные из расположенных друг над другом мёртвых толстостенных клеток, между которыми разрушены поперечные перегородки. По сосудам растворы перемещаются от корней к другим органам растения быстрее, чем по трахеидам.

По флоэме органические вещества, произведённые в процессе фотосинтеза, перемещаются от листьев к другим органам. В её состав входят собственно проводящие элементы — ситовидные клетки, а также клетки-спутницы, клетки паренхимы и клетки механической ткани.

Ситовидные трубки — это ряды расположенных друг над другом вытянутых живых клеток, они проходят по всей длине растения. В этих клетках отсутствуют ядра, рибосомы и комплекс Гольджи, мембрана вакуоли разрушается и клеточный сок смешивается с цитоплазмой. Поперечные перегородки — места контакта двух клеток — имеют множество сквозных отверстий и напоминают сито.

Рядом с ситовидными трубками расположены клетки-спутницы, они примыкают к их боковым стенкам. Это типичные клетки основной ткани (паренхимы), их функция — обеспечение жизнедеятельности безъядерных ситовидных клеток. У голосеменных растений клетки-спутницы отсутствуют, но их функцию выполняют особые альбуминоидные клетки.

Ксилема и флоэма тесно взаимодействуют друг с другом и обычно образуют в органах растения особые тканевые комплексы — проводящие пучки.

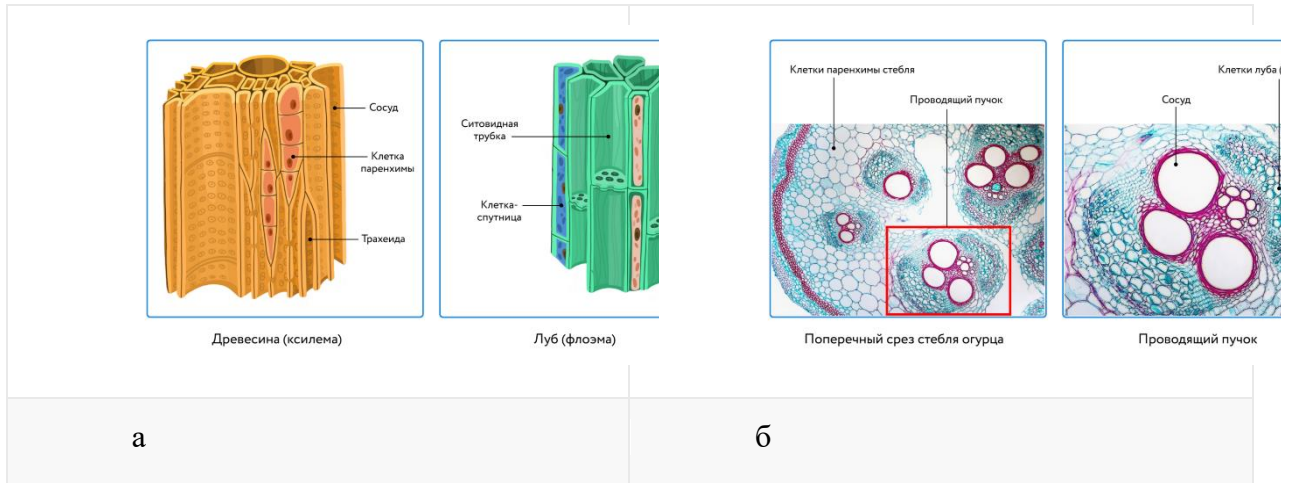


Рис. 3У. Проводящие ткани растений (а, б)

Механическая ткань образует каркас растительного организма, служит его опорой и придаёт прочность органам. Клетки этой ткани имеют сильно утолщённую клеточную стенку; они могут быть живыми или мёртвыми.

Степень развития механических тканей различна у разных видов растений и зависит от условий обитания и размеров растения. Механические ткани слабо развиты у травянистых водных и прибрежных растений, но зато хорошо развиты у растений засушливых местообитаний и древесных форм. Клетки механической ткани присутствуют во всех органах растения, но наиболее многочисленны в стеблях, корнях, черешках и жилках листьев, оболочках семян и плодов.

Выделяют два вида механических тканей: колленхиму и склеренхиму.

Колленхима — это эластичная механическая ткань, залегающая под эпидермой молодых однолетних стеблей двудольных растений, а также в черешках и жилках листьев. Она состоит из живых вытянутых клеток с неравномерно утолщёнными, но не одревесневшими клеточными стенками. Колленхима обеспечивает упругость органов растений только при наличии в клетках достаточного количества воды, которая обеспечивает тургор. Клетки колленхимы имеют хлоропласты и способны к фотосинтезу. В подземных частях растений колленхима не встречается.

Склеренхима состоит из мёртвых клеток с равномерно утолщёнными одревесневшими клеточными стенками. Одревеснение — это процесс пропитывания клеточной стенки особым веществом — лигнином. Склеренхима не так эластична, как колленхима, она обеспечивает прочность всего тела растений. Различают два типа склеренхимных клеток — волокна и склереиды. Волокнами называют длинные мёртвые клетки, собранные в тяжи или пучки, например лубяные волокна и волокна древесины. Склереиды, или каменистые клетки, — это мёртвые компактные клетки разнообразной формы (округлой, звёздчатой, палочковидной). Склереиды присутствуют в скорлупе орехов, косточек вишни, центральной части плодов груши.



а	б	в
---	---	---

Рис. 4У. Механические ткани растений (а–в)

Образовательная ткань — меристема — это совокупность клеток, интенсивно делящихся на протяжении всей жизни. Она обеспечивает рост растения и предоставляет материал для образования клеток специализированных тканей — основной, проводящей, механической. Клетки образовательной ткани мелкие, округлые, с тонкими клеточными стенками и мелкими вакуолями, цитоплазма этих клеток содержит много рибосом и митохондрий.

По расположению в теле растения различают четыре вида меристем.

Верхушечная (апикальная) меристема находится на верхушках побегов и корней. Она определяет верхушечный рост осевого органа (стебля, корня) в длину. Верхушку растения, состоящую из группы клеток меристемы, а иногда и из одной клетки (у мхов, папоротников и хвощей), называют конусом нарастания.

Вставочная (интеркалярная) меристема находится у основания междоузлий побегов, в нижней части междоузлия стебля злаков и у основания молодых листьев. Она определяет рост осевых органов в длину за счёт удлинения, вытягивания их частей.

Боковая (латеральная) меристема располагается вдоль осевых органов растения параллельно их поверхности, таким образом, представляя собой цилиндр из делящихся клеток. Она определяет рост органов в толщину. У двудольных и голосеменных растений эту ткань называют камбием. Камбий представляет собой слой клеток, залегающий на границе между древесиной и лубом. Сезонные изменения активности камбия обуславливают образование годичных колец древесины.

Раневая (травматическая) меристема возникает в месте повреждения в виде разрастания или валика. Такое образование из недифференцированных клеток на раневых поверхностях растения называют каллусом (каллусом). Каллус способствует зарастанию ран и образованию корней, например при вегетативном размножении растений. Культуры клеток каллуса используют в биотехнологии и клеточной инженерии, поскольку такие неспециализированные клетки способны дать начало целому растению.

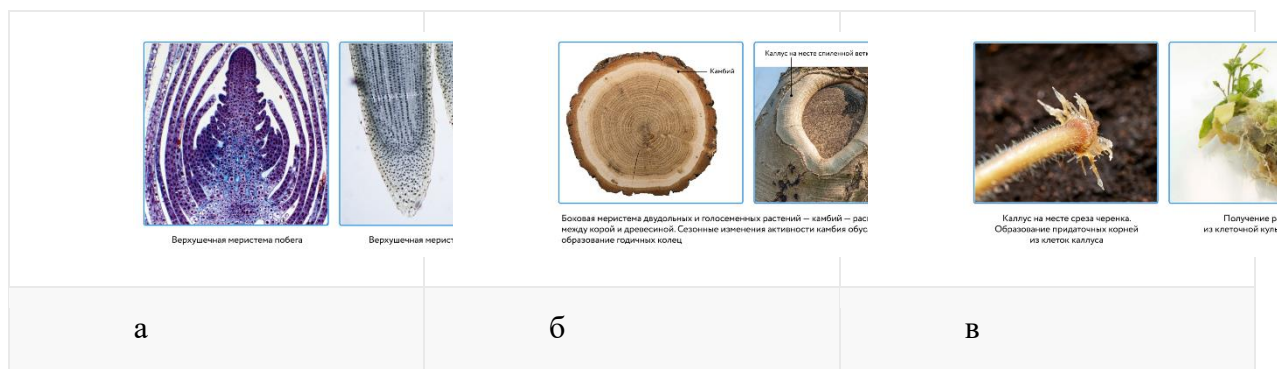


Рис. 5У. Виды образовательной ткани растений (а–в)

Секреторными (выделительными) тканями называют группы клеток, предназначенные для выделения веществ, например защитных, ядовитых, привлекающих.

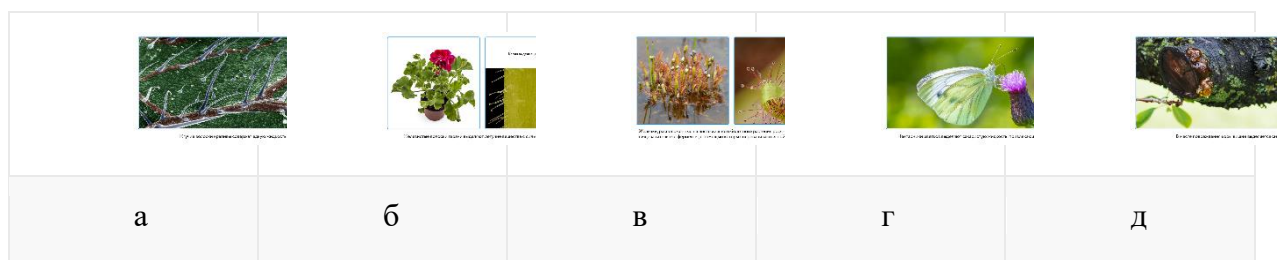


Рис. 6У. Виды секреторной ткани растений (а–д)

Порядок выполнения работы

1. Изучить различные виды растительных тканей и их функции по материалам методички, атласу и рекомендуемой литературе.
2. Составить и зарисовать в тетради классификационную схему «Виды растительных тканей и их функции».

Содержание отчета по лабораторной работе: схема классификации растительных тканей.

Контрольные вопросы

1. Что такое ткань? Какая наука изучает ткани?
2. Характеристика покровных тканей растений.
3. Характеристика основных тканей растений.
4. Характеристика механических тканей растений.
5. Характеристика проводящих тканей растений.
6. Классификация растительных тканей.

Практическое занятие 7,8

Классификация животных тканей

Цель: изучить различные виды животных тканей и их функции, составить их классификацию.

Теоретические положения

В организмах животных выделяют четыре типа тканей. Эпителиальная ткань, или эпителий (от лат. *epithelium* [эпителиум] — «покровная ткань») образует внешние покровы животных, а также выстилает полости внутренних органов. Из соединительной ткани состоят кости, хрящи, связки, сухожилия, жировые отложения и кровь. Мышечная ткань образует скелетные мышцы и сердечную мышцу, а также входит в состав некоторых внутренних органов. Клетки нервной ткани формируют мозг, нервные узлы и нервы.

Покровы животных образованы эпителиальными тканями (эпителиями). Они состоят из одного или нескольких слоёв плотно прилегающих друг к другу клеток; межклеточное вещество в эпителиях практически отсутствует. Эпителий располагается на базальной мембране, в образовании которой участвуют как эпителиальные клетки, так и нижележащая соединительная ткань. Базальная мембрана не имеет клеточного строения, её основу составляет фибриллярный (от лат. *fibra* [фибра] — «волокно», уменьшит. *fibrilla* [фибрилля] — «волоконце») белок коллаген. Эпителиальным тканям присуща высокая способность к регенерации (от лат. *regeneratio* [регенерацио] — «возрождение»).

Выделяют несколько видов эпителиальных тканей: по числу слоёв (одно- или многослойные), форме клеток (плоская, кубическая, цилиндрическая), а также способности к ороговению.

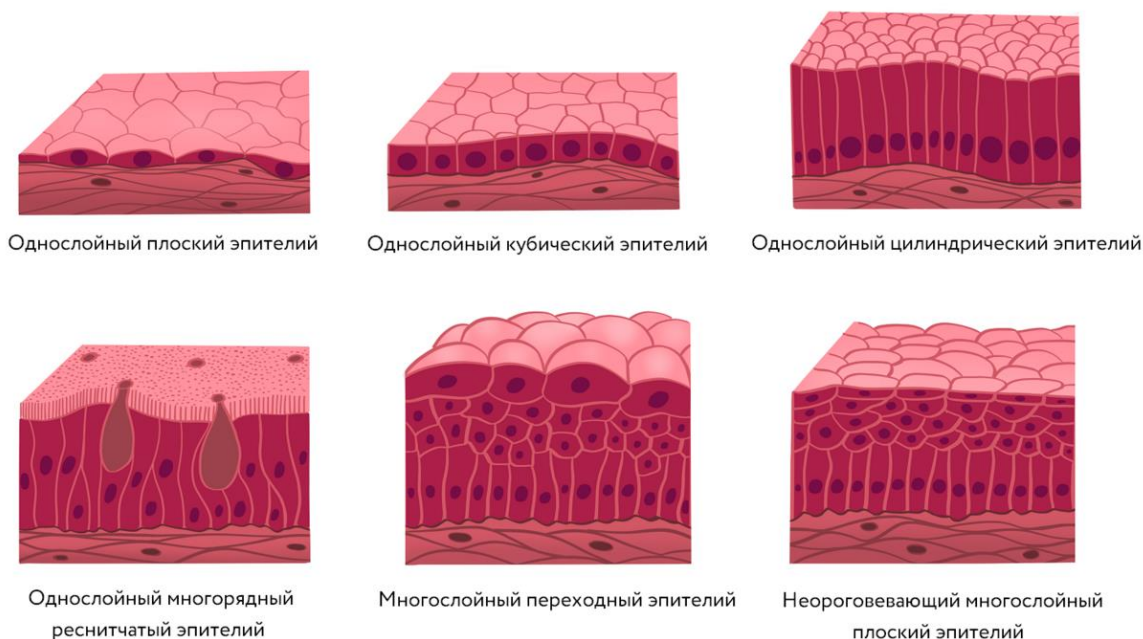


Рис. 1. Виды эпителиев

Кроме защитной функции — от механических повреждений, проникновения вредных веществ и микроорганизмов — эпителиальные ткани выполняют ещё ряд важных функций.

Эпителием покрыты полости внутренних органов.

Эпителиальные клетки кишечника всасывают питательные вещества.

Эпителий почечных канальцев выполняет функцию обратного всасывания ряда веществ из первичной мочи в кровь.

Эпителий, выстилающий лёгкие, участвует в поглощении кислорода и удалении углекислого газа из организма.

Эпителиальные ткани формируют железы — органы, которые выделяют различные вещества (пот, жир, слизь, ферменты, гормоны, некоторые другие вещества). Образование этих веществ происходит в эпителиальных клетках. Так, наружный эпителий рыб и земноводных богат железами, выделяющими слизь, а эпителий млекопитающих — потовыми и сальными железами. Эпителиальные железы желудка млекопитающих выделяют ферменты (пепсиноген и желатиназу), слизь, ионы водорода и хлора, которые образуют соляную кислоту.

Для животных характерны кожные образования эпидермального происхождения. У млекопитающих, птиц, пресмыкающихся они состоят из рогового вещества — кератина; это волосы, когти, ногти, копыта, рога, перья и чешуи. Клетки эпителия многих беспозвоночных выделяют прочную кутикулу (от лат. *cuticula* [кути́куля] — «кожица») — защитный слой на поверхности тела. У червей она состоит главным образом из коллагеновых волокон, у членистоногих пропитана хитином и инкрустирована солями кальция. Паутинные железы пауков также имеют эпителиальное происхождение.



Рис. 2. Микропрепараты эпителиальных тканей млекопитающих: а — кожа (виден волос); б — многослойный эпителий пищевода; в — срез через ворсинку кишечника (видна щёточная кайма из микроворсинок — выростов эпителиальных клеток)

Соединительные ткани

Соединительная ткань не отвечает непосредственно за работу какого-либо органа, но играет существенную роль, создавая его основу. Обычно соединительная ткань составляет 40–90% от массы любого органа.

Соединительная ткань и её производные образуют кости, хрящи, связки, сухожилия, фасции (оболочки мышц), жировые отложения и кровь. Таким образом, соединительная ткань — единственная ткань, которая присутствует в организме в разных видах: твёрдом (кости), волокнистом (связки), гелеобразном (хрящи), жидком (кровь).

Особенность соединительной ткани — относительно небольшое количество клеток, расположенных на различном расстоянии друг от друга, и большое количество межклеточного вещества.



Рис. 3. Соединительные ткани в составе сустава

Соединительная ткань выполняет в организме животных опорную, защитную, транспортную и трофическую (питающую) функции. Кости, хрящи и сухожилия обеспечивают опору телу. Соединительная ткань входит в состав кожи. Кровь переносит по организму питательные вещества, а также кислород — от лёгких к другим органам, а углекислый газ — в обратном направлении. В жировой ткани запасаются питательные вещества, кроме того, подкожный слой жира играет роль термоизолятора.

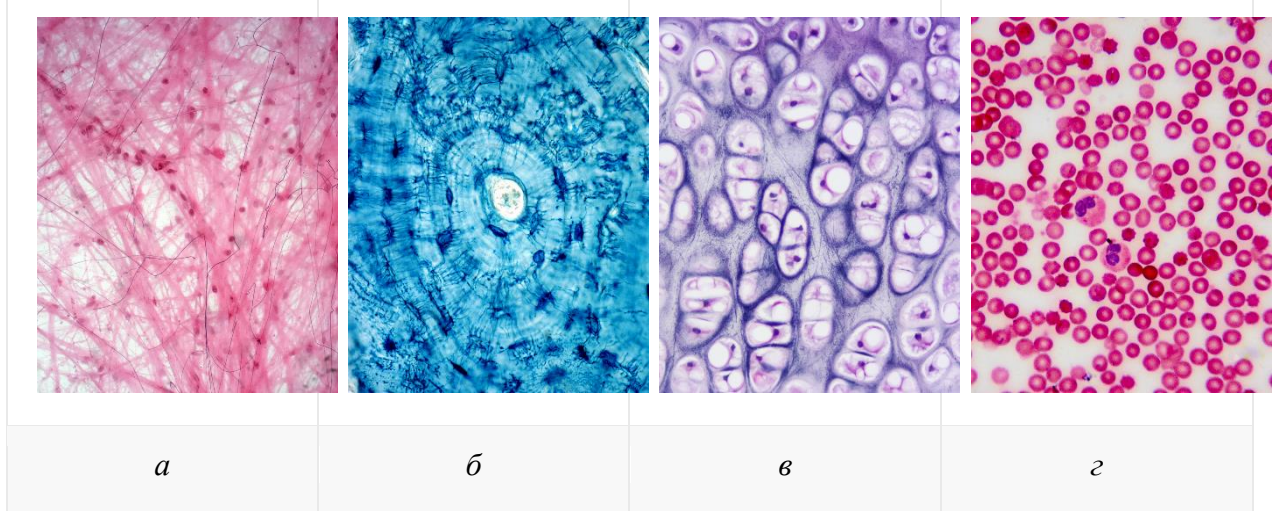


Рис. 4. Микропрепараты соединительных тканей млекопитающих: а — рыхлая соединительная ткань (видны клетки и волокна коллагена и эластина); б — костная ткань (виды костные клетки и цилиндрические пластинки); в — хрящевая ткань (видны клетки и межклеточное вещество); г — кровь (видны клетки и плазма)

Мышечные ткани

Мышечная ткань отвечает за движение организма и его частей. Из неё состоят скелетные мышцы и сердце; мышечная ткань есть в стенках всех полых органов.

Мышечные клетки имеют удлинённую форму. Они располагаются группами и ориентированы параллельно друг другу. Главные свойства мышечных клеток — это возбудимость и сократимость, то есть способность сокращаться в ответ на сигналы, поступающие из центральной нервной системы.

Выделяют три вида мышечной ткани: гладкую, поперечнополосатую скелетную и поперечнополосатую сердечную.

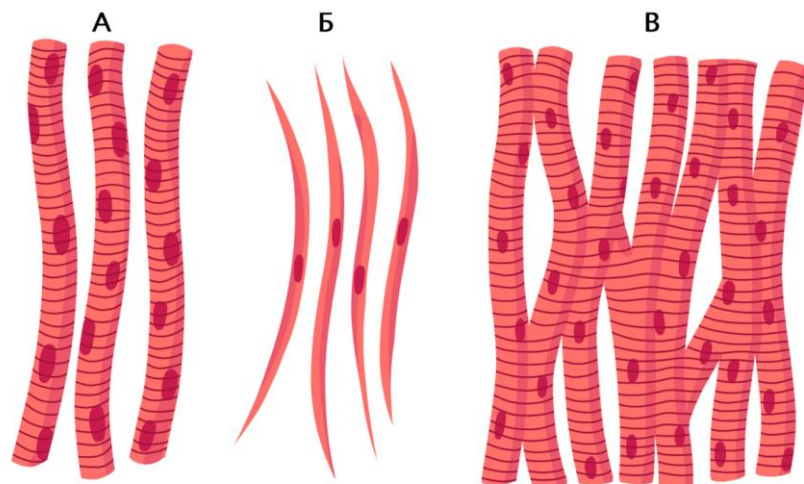


Рис. 5. Виды мышечной ткани: а — поперечнополосатая скелетная; б — гладкая; в — поперечнополосатая сердечная

Гладкая мышечная ткань состоит из одноядерных клеток веретеновидной формы, которые не имеют поперечной исчерченности. Гладкомышечные клетки сокращаются и расслабляются медленно, их сокращения непроизвольные. Гладкая мышечная ткань входит в состав стенок внутренних органов — кровеносных сосудов, пищеварительного тракта, мочевого пузыря, матки, протоков желёз. Размеры зрачка и кривизна хрусталика глаза также изменяются благодаря работе гладких мышц.

Поперечнополосатая скелетная мышечная ткань состоит из очень вытянутых, до нескольких сантиметров в длину, многоядерных клеток, имеющих поперечную исчерченность. Свойства этой ткани — высокая скорость сокращения и расслабления, а также произвольность, то есть подконтрольность сознанию. Поперечнополосатой скелетной мышечной тканью образованы скелетные и глазодвигательные мышцы, язык, стенки глотки и верхней части пищевода.

Поперечнополосатая сердечная мышечная ткань состоит из клеток, тоже имеющих поперечную исчерченность. Но клетки сердечной мышцы разветвлены и образуют между собой соединения. Особое свойство этой ткани — автоматизм, то есть способность ритмично сокращаться и расслабляться под действием возбуждения, возникающего в самих мышечных клетках. Сокращения клеток этой ткани являются непроизвольными.

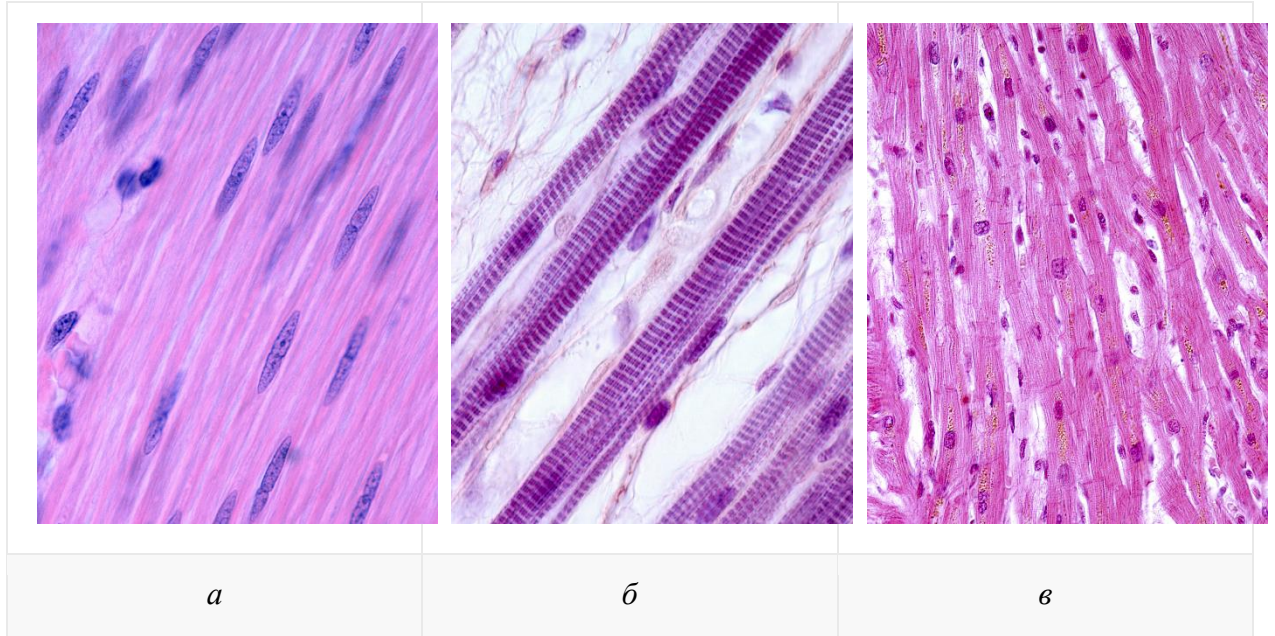


Рис. 6. Микропрепараты мышечных тканей млекопитающих: а — гладкая; б — поперечнополосатая скелетная; в — поперечнополосатая сердечная

Нервная ткань

Нервная ткань образует нервную систему: входит в состав нервов, нервных узлов, спинного и головного мозга. Она состоит из клеток двух видов.

Собственно нервные клетки — нейроны, имеют звёздчатую форму и отростки разной длины (некоторые могут достигать метра и более). Нейроны воспринимают раздражение и передают возбуждение к мышцам, коже и другим органам. Нейрон — основная структурная и функциональная единица нервной системы.

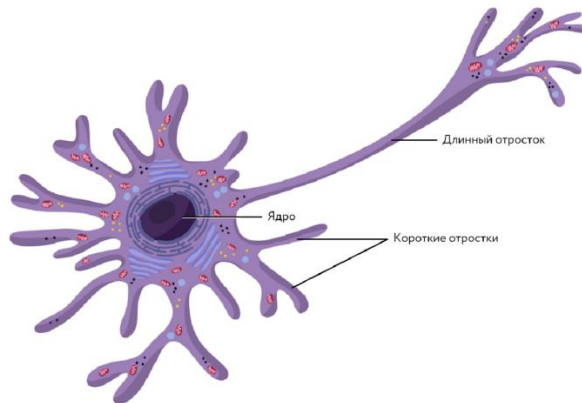


Рис. 7. Строение нейрона

Клетки нейроглии — вспомогательные клетки — могут иметь разную форму и выполняют несколько функций, обеспечивая нормальное функционирование нейронов.

Главные свойства нервной ткани — это возбудимость и проводимость. Возбудимость — это способность отвечать на действие раздражителя изменением физиологических свойств, то есть возникновением процесса возбуждения — нервного импульса. Проводимость — это способность служить проводником этого нервного импульса.

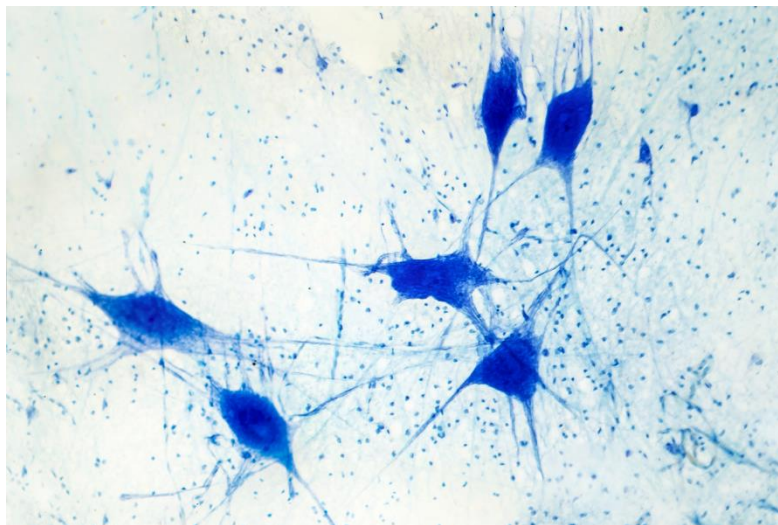


Рис. 8. Микропрепарат нервной ткани (видны крупные нейроны звёздчатой формы и мелкие глиальные клетки)

Порядок выполнения работы

1. Изучить различные виды животных тканей и их функции по материалам методички, атласу и рекомендуемой литературе.
2. Составить и зарисовать в тетради классификационную схему «Виды животных тканей и их функции».

Контрольные вопросы

1. Что такое ткань? Какая наука изучает ткани?
2. Характеристика эпителиальных тканей животных.
3. Характеристика соединительных тканей животных.
4. Характеристика мышечных тканей животных.
5. Характеристика нервных тканей животных.
6. Классификация животных тканей.

Практическое занятие 9, 10

Механизмы митоза и мейоза

Цель: изучить механизмы митоза и мейоза, провести их сравнение.

Теоретические положения

Митоз — основной способ деления эукариотических клеток, при котором сначала происходит удвоение, а затем равномерное распределение между дочерними клетками наследственного материала.

Митоз представляет собой непрерывный процесс, в котором выделяют четыре фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. Перед митозом происходит подготовка клетки к делению, или интерфаза. Период подготовки клетки к митозу и собственно митоз вместе составляют **митотический цикл**. Ниже приводится краткая характеристика фаз цикла.

Интерфаза состоит из трех периодов: пресинтетического, или постмитотического, — G_1 , синтетического — S , постсинтетического, или премитотического, — G_2 .

Пресинтетический период ($2n\ 2c$, где n — число хромосом, c — число молекул ДНК) — рост клетки, активизация процессов биологического синтеза, подготовка к следующему периоду.

Синтетический период ($2n\ 4c$) — репликация ДНК.

Постсинтетический период ($2n\ 4c$) — подготовка клетки к митозу, синтез и накопление белков и энергии для предстоящего деления, увеличение количества органоидов, удвоение центриолой.

Профаза ($2n\ 4c$) — демонтаж ядерных мембран, расхождение центриолой к разным полюсам клетки, формирование нитей веретена деления, «исчезновение» ядрышек, конденсация двуххроматидных хромосом.

Метафаза ($2n\ 4c$) — выстраивание максимально конденсированных двуххроматидных хромосом в экваториальной плоскости клетки (метафазная пластинка), прикрепление нитей веретена деления одним концом к центриолям, другим — к центромерам хромосом.

Анафаза ($4n\ 4c$) — деление двуххроматидных хромосом на хроматиды и расхождение этих сестринских хроматид к противоположным полюсам клетки (при этом хроматиды становятся самостоятельными однохроматидными хромосомами).

Телофаза ($2n\ 2c$ в каждой дочерней клетке) — деконденсация хромосом, образование вокруг каждой группы хромосом ядерных мембран, распад нитей веретена деления, появление ядрышка, деление цитоплазмы (цитотомия). Цитотомия в животных клетках происходит за счет борозды деления, в растительных клетках — за счет клеточной пластинки.

Биологическое значение митоза. Образовавшиеся в результате этого способа деления дочерние клетки являются генетически идентичными материнской. Митоз обеспечивает постоянство хромосомного набора в ряду поколений клеток. Лежит в основе таких процессов, как рост, регенерация, бесполое размножение и др.

Фазы митоза показаны на рисунке 1.

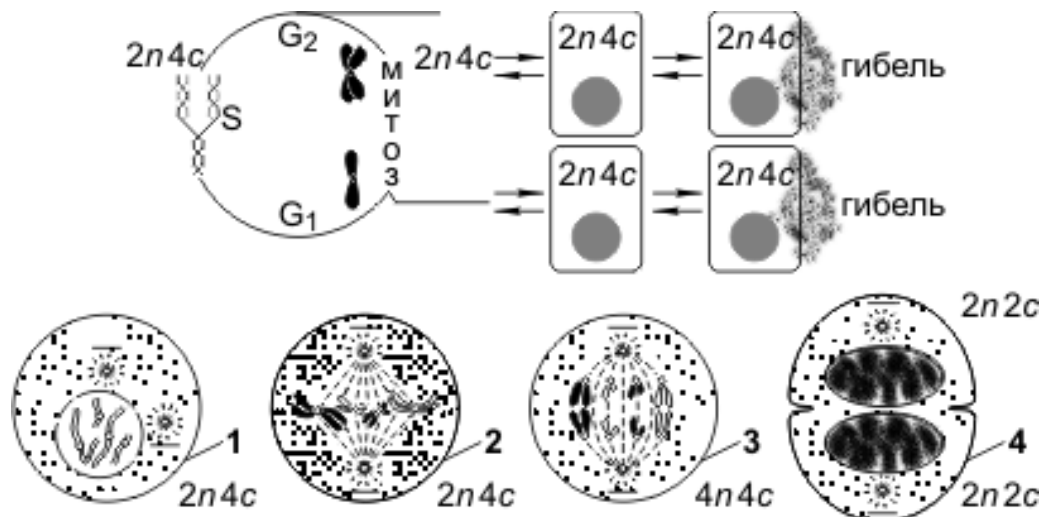


Рис.1 - Митотический цикл, митоз: 1 — профаза; 2 — метафаза; 3 — анафаза; 4 — телофаза.

Мейоз — это особый способ деления эукариотических клеток, в результате которого происходит переход клеток из диплоидного состояния в гаплоидное. Мейоз состоит из двух последовательных делений, которым предшествует однократная репликация ДНК.

Первое мейотическое деление (мейоз 1) называется редукционным, поскольку именно во время этого деления происходит уменьшение числа хромосом вдвое: из одной диплоидной клетки ($2n\ 4c$) образуются две гаплоидные ($1n\ 2c$).

Интерфаза 1 (в начале — $2n\ 2c$, в конце — $2n\ 4c$) — синтез и накопление веществ и энергии, необходимых для осуществления обоих делений, увеличение размеров клетки и числа органоидов, удвоение центриолей, репликация ДНК, которая завершается в профазе 1.

Профаза 1 ($2n\ 4c$) — демонтаж ядерных мембран, расхождение центриолей к разным полюсам клетки, формирование нитей веретена деления, «исчезновение» ядрышек, конденсация двухроматидных хромосом, конъюгация гомологичных хромосом и кроссинговер. **Конъюгация** — процесс сближения и переплетения гомологичных хромосом. Пару конъюгирующих гомологичных хромосом называют **бивалентом**. **Кроссинговер** — процесс обмена гомологичными участками между гомологичными хромосомами.

Профаза 1 подразделяется на стадии: **лептотена** (завершение репликации ДНК), **зиготена** (конъюгация гомологичных хромосом, образование бивалентов), **пахитена** (кроссинговер, рекомбинация генов), **диplotена** (выявление хиазм, 1 блок овогенеза у человека), **диакинез** (терминализация хиазм).

Метафаза 1 ($2n\ 4c$) — выстраивание бивалентов в экваториальной плоскости клетки, прикрепление нитей веретена деления одним концом к центриолям, другим — к центромерам хромосом.

Анафаза 1 ($2n\ 4c$) — случайное независимое расхождение двухроматидных хромосом к противоположным полюсам клетки (из каждой пары гомологичных хромосом одна хромосома отходит к одному полюсу, другая — к другому), рекомбинация хромосом.

Телофаза 1 ($1n\ 2c$ в каждой клетке) — образование ядерных мембран вокруг групп двухроматидных хромосом, деление цитоплазмы. У многих растений клетка из анафазы 1 сразу же переходит в профазу 2.

Второе мейотическое деление (мейоз 2) называется эквационным.

Интерфаза 2, или **интеркинез** ($1n\ 2c$), представляет собой короткий перерыв между первым и вторым мейотическими делениями, во время которого не происходит репликация ДНК. Характерна для животных клеток.

Профаза 2 ($1n\ 2c$) — демонтаж ядерных мембран, расхождение центриолей к разным полюсам клетки, формирование нитей веретена деления.

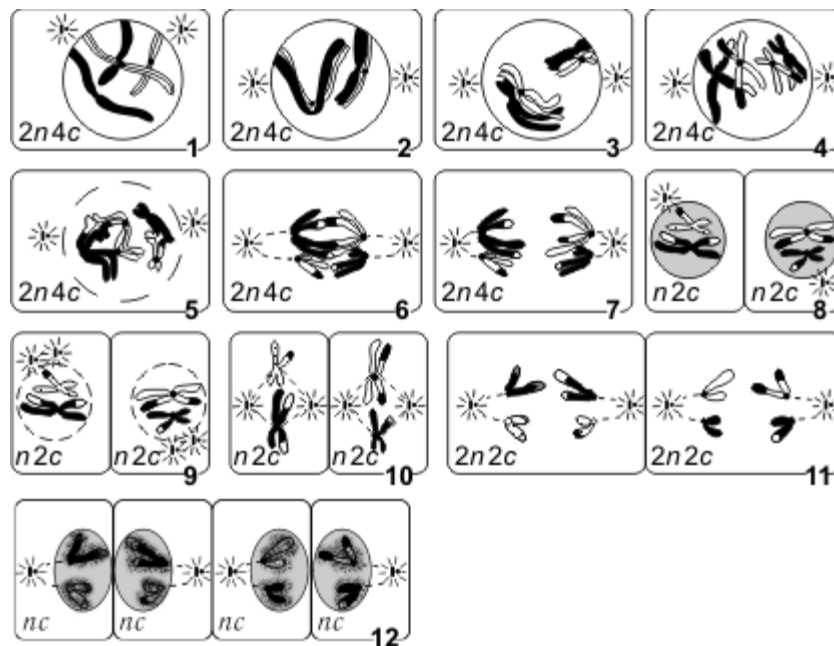
Метафаза 2 ($1n\ 2c$) — выстраивание двуххроматидных хромосом в экваториальной плоскости клетки (метафазная пластинка), прикрепление нитей веретена деления одним концом к центриолям, другим — к центромерам хромосом; 2 блок овогенеза у человека.

Анафаза 2 ($2n\ 2c$) — деление двуххроматидных хромосом на хроматиды и расхождение этих сестринских хроматид к противоположным полюсам клетки (при этом хроматиды становятся самостоятельными однохроматидными хромосомами), перекомбинация хромосом.

Телофаза 2 ($1n\ 1c$ в каждой клетке) — деконденсация хромосом, образование вокруг каждой группы хромосом ядерных мембран, распад нитей веретена деления, появление ядрышка, деление цитоплазмы (цитотомия) с образованием в итоге четырех гаплоидных клеток.

Биологическое значение мейоза. Мейоз является центральным событием гаметогенеза у животных и спорогенеза у растений. Являясь основой комбинативной изменчивости, мейоз обеспечивает генетическое разнообразие гамет.

Фазы мейоза показаны на рисунке 2.



Мейоз: 1 — лептотена; 2 — зиготена; 3 — пахитена; 4 — диплотена; 5 — диакинез; 6 — метафаза 1; 7 — анафаза 1; 8 — телофаза 1; 9 — профаза 2; 10 — метафаза 2; 11 — анафаза 2; 12 — телофаза 2.

Контрольные вопросы

1. Фазы митоза.
2. Биологическое значение митоза.
3. Фазы мейоза.
4. Биологическое значение мейоза.

Практическое занятие 11,12

История развития и методы генетики

Генетика (от греч. *genesis* – происхождение) – наука о наследственности и изменчивости живых организмов и методах управления ими.

Наследственностью называется присущее всем живым существам свойство воспроизведения в потомстве признаков родителей и более отдаленных предков, обеспечивающее преемственность поколений и сохранение характерных для данного вида особенностей строения.

Изменчивостью называют различия между особями одного вида, между предками и потомством, возникающее как под влиянием наследственности и изменения самого наследственного материала, так и под влиянием внешних условий. Явление наследственности и изменчивости у растений привлекали внимание и интересовали человека с давних времен. В течение многих веков люди пытались понять и объяснить эти свойства живой природы. К тому же это было необходимо для решения ряда задач с/х производства, связанных с улучшением сортов культурных растений и пород домашних животных. Этого можно было достичь лишь путем экспериментов и правильного обобщения полученных в них данных. Во второй половине XVIII – первой половине XIX столетия И. Кельрейтер, К. Гертнер, О. Сажрэ, Ш. Нодэн, Т. Найт провели ряд опытов по гибридизации растений, в результате которых были получены некоторые факты по наследственности организмов. Но решающий шаг в этом направлении сделал чешский ученый Грегор Мендель.

В 1865 г. в обществе естествоиспытателей в г. Брно (Чехословакия) Г. Мендель изложил результаты своих исследований в труде *«Опыты над растительными гибридами»*. До него в биологии господствовала теория слитного наследования. Гибридизация сравнивалась со слиянием в пробирке двух разноокрашенных жидкостей, дающих в растворе промежуточную окраску. Считалось, что подобно этому гибриды по сравнению с родительскими формами всегда характеризуется промежуточным проявлением признака. Мендель убедительно показал, что наследственность дискретна (делима), что отдельные признаки или свойства организма развиваются на основе материальных наследственных факторов, которые в процессе слияния гамет не растворяются, не исчезают и могут наследоваться независимо друг от друга. Мендель разработал основные принципы генетического анализа наследственности организмов, впервые применил к изучению наследственности методы математической статистики и установил основные закономерности числовых соотношений расщепления гибридов при скрещивании. Эти закономерности наследственности имели фундаментальное значение для теории и практики гибридизации растений и селекции вообще. Мендель стал основоположником генетики. Однако его работы не были по достоинству оценены современниками и долгое время оставались почти неизвестными. В 1900г. трое ученых – К. Корренс в Германии, Э. Чермак в Австрии и Гуго Де-Фриз в Голландии, независимо друг от друга получили те же результаты, что и Мендель.

1900 г., когда были переоткрыты закономерности наследственности, впервые установленные Менделем, считается официальной датой рождения генетики. Это название науке о наследственности и изменчивости было дано позже, в 1906г. английским ученым В. Бэтсоном. Предметом изучения генетики являются наследственность и изменчивость, изучение которых ведется на различных уровнях организации живой материи: молекулярном, клеточном, организменном, популяционном. Многообразие объектов и методов исследования в генетике явилось причиной возникновения большого количества

ее разделов, таких, как цитогенетика, молекулярная, биохимическая, радиационная, медицинская, физиологическая, популяционная, онтогенетика.

Главная задача генетики – разработка методов управления наследственностью и изменчивостью для получения нужных человеку форм растений, животных и микроорганизмов и управления индивидуальным развитием организмов.

В истории генетики можно выделить три основных периода. Два из них, продолжавшиеся с 1900 по 1953 гг., составляют эпоху классической генетики. Третий период, начавшийся после 1953 г. – открыл эпоху молекулярной генетики.

Первый период (1900 – 1910 гг.) в развитии генетики связан с утверждением открытий Менделя: принципа дискретности в передаче наследственного материала и метода гибридологического анализа. Многочисленные опыты по гибридизации, проведенные в этот период с разными растениями и животными, показали, что правила имеют универсальный характер и применимы по отношению ко всем организмам, размножающимся половым путем. Важнейшее значение для последующего развития генетики имела выдвинутая в это время (1901 – 1903 гг.) голландским ученым Гуго де Фризем теория мутаций, согласно которой все наследственные свойства и признаки организмов изменяются скачкообразно – мутационно. В 1903 г. датский генетик и физиолог растений В. Иоганнсен на основе своих опытов по изучению наследования признаков в популяциях и чистых линиях фасоли разработал и ввел в генетику понятия – ген, генотип, фенотип.

Второй период (1911 – 1953 гг.) связан с установлением материальных основ наследственности. Еще в первое десятилетие развития генетики (1902 – 1907 гг.) Т.Бовери, У. Сэттон и Э. Вильсон обосновали *хромосомную теорию наследственности* (ХТН). Решающее значение для обоснования и утверждения ХТН имели начавшиеся в 1910 г. исследования американского ученого Т. Моргана с плодовой мушкой дрозофилой. Благодаря работам Моргана было установлено, что гены находящиеся в хромосомах расположены в них в линейном порядке; они образуют столько групп сцепления, сколько пар гомологических хромосом имеется у данного вида; гены, находящиеся в одной группе сцепления могут рекомбинировать благодаря кроссинговеру, величина рекомбинации – функция расстояния между генами. К началу 20-х годов у дрозофилы было обнаружено и локализовано во всех четырех группах сцепления несколько сотен генов.

В 1925 г. советским ученым Г.А. Надсоном и Г.С. Филиппову впервые в мире удалось получить мутации у дрожжевых грибов под воздействием лучей радия.

В 1927 г. генетик Г. Меллер опубликовал результаты своих работ о большом повышении частоты мутаций у дрозофилы под воздействием лучей рентгена. Он же разработал методику точного количественного учета мутаций. Так была доказана изменчивость генов под влиянием внешних условий.

В 1928 г. в США Л. Стадлер получил первые рентгеномутации у ячменя и кукурузы, а в 1928 – 1932 гг. в СССР А.А. Сапегин и Л.Н. Делоне выявили серию хозяйственно-полезных мутантных форм пшеницы. Они же предложили использовать радиационный мутагенез в качестве одного из методов создания исходного материала для селекции. Все эти работы положили начало новому направлению в генетике названному впоследствии радиационной генетикой.

В начале 30-х годов В.В. Сахаров и М.Е. Лобашев получили первые данные о возникновении наследственных изменений под влиянием некоторых химических соединений. В середине 40-х годов в результате работ советского генетика И.А. Раппопорта и английского генетика Ш. Ауэрбах было открыто несколько классов химических соединений, вызывающих наследственные изменения и создана теория химического мутагенеза. Огромное методологическое значение для развития генетики имели экспериментальные и теоретические работы А.С. Серебровского и Н.П. Дубинина, впервые

доказавших в начале 30-х гг. делимость гена. Ген стали понимать как участок хромосомы, контролирующей развитие определенного признака.

В 20-30 годах работами С. Райта, Дж. Холдена и Р. Фишера были заложены основы генетико-математических методов популяционных процессов. Огромный вклад в развитие генетики популяций и эволюционной генетики внесли советский генетик С.С. Четвериков (1926 г.) и его ученики.

Третий период в развитии генетики, начавшийся после 1953 г., связан с использованием методов и принципов исследований точных наук: химии, физики, математики, кибернетики и т.д. Стали широко применять электронную микроскопию, рентгеноструктурный анализ, скоростное центрифугирование, метод радиоактивных изотопов, чистые препараты витаминов, ферментов и аминокислот и т.д.

В 40-х годах в результате работы американских биохимиков Г. Бидла и Э. Татума с сумчатым грибом нейроспорой были выяснены химические процессы, в которых гены влияют на обмен веществ и в конечном счете на формирование всех морфологических признаков и физиологических свойств живых организмов. Была выдвинута гипотеза «один ген – один фермент».

В 1944 г. американский микробиолог – генетик О. Эвери в опытах по бактериальной трансформации представил данные о том, что основным материалом носителем наследственности являются не белковые компоненты хромосом, а ее ДНК. В 1953 г. Джеймс Уотсон и Френсис Крик создали модель строения ДНК.

В 1957 г. американский генетик А. Корнберг искусственно создал вирусную частицу, способную к размножению и обладающую всеми свойствами природных вирусов, а в 1958 г. в лабораторных условиях осуществил искусственный синтез ДНК.

В 1961 – 62 гг. М. Ниренберг, Г. Маттеи, С. Очоа и Ф. Крик расшифровали код наследственности и состав нуклеотидных триплетов для 20 аминокислот, входящих в состав белковых молекул.

В 1961 – 1962 г. французские микробиологи – генетики Ф. Жакоб и Ж. Моно разработали теорию регуляции белкового синтеза и на ее основе предложили схему механизма генетического контроля синтеза ферментов

Генетика, как любая наука, имеет свои методы исследования. Основными из них являются следующие:

1. Гибридологический метод – для выявления закономерностей наследования того или иного признака или группы признаков проводится скрещивание особей, различающихся по этим признакам и изучается полученное от них потомство 1, 2-го и других поколений. Гибридологический метод, впервые разработанный Г. Менделем, является основным, так как все другие методы исследований сопровождаются гибридологическим анализом.

2. Цитологический, с помощью которого проводится изучение особенностей строения хромосом. Наиболее эффективно он используется в сочетании с гибридологическим методом, а в ряде случаев самостоятельно, например, при изучении повреждающего действия радиационных излучений. На основе этого метода при использовании новейших способов изучения хромосомных структур возникла цитогенетика.

3. Онтогенетический метод, который используется для изучения действия генов и проявления их в индивидуальном развитии организмов в разных условиях среды.

4. Статистический метод с помощью которого изучают статистические закономерности наследственности и изменчивости организмов при обработке результатов экспериментов по скрещиванию.

5. Популяционный метод – это вариант гибридологического метода, используется при изучении наследования признаков у медленно плодящихся животных путем учета

признаков родителей и потомства в стаде и математической разработке полученных данных.

6. Генеалогический метод также является вариантом гибридного метода. Наследование признаков при этом изучают путем анализа передачи его потомству в целых семьях или в родственных группах, для чего составляют родословную на несколько поколений предков отдельных особей или целых семей. Имеет большое значение при изучении наследственности человека и медленно плодящихся животных.

7. Биохимический метод в сочетании с гибридным и цитологическим используется для более детального изучения процессов, происходящих в клетках при размножении и онтогенезе.

8. Феногенетический метод в сочетании с цитологическим и гибридологическим применяется для установления степени влияния генов и факторов внешней среды на развитие признаков организмов, для чего изучается их развитие у особей с разной наследственностью или находящихся в разных условиях среды.

Вопросы для самоконтроля: 1. Дайте определение генетики как науки. Что является предметом ее изучения? 2. Охарактеризуйте основные периоды развития генетики. 3. Дайте характеристику основных методов генетики.

Практическое занятие 13, 14

Виды и периоды онтогенеза

Процесс индивидуального развития особи, т.е. всю совокупность преобразований с момента образования зиготы до прекращения существования организма, называют **онтогенезом**.

У видов, размножающихся бесполым путем, онтогенез начинается с обособления одной или группы клеток материнского организма. У видов с половым размножением он начинается с оплодотворения яйцеклетки. У прокариот и одноклеточных эукариотических организмов онтогенез представляет собой, по сути, клеточный цикл, обычно завершающийся делением или гибелью клетки. В ходе индивидуального развития многоклеточные организмы претерпевают ряд закономерных процессов: становление морфофункциональных черт, присущих определенному биологическому виду, рост организма, осуществление специфических функций, достижение половой зрелости, размножение, а также старение и смерть.

Основу процесса индивидуального развития составляет наследственная информация, получаемая потомками от родителей и представляющая собой инструкции о времени, месте и характере частных механизмов развития. Онтогенез есть процесс реализации наследственной информации особи в определенных условиях среды. Различают следующие основные типы онтогенеза: прямой и непрямой. Непрямое развитие встречается в личиночной форме, а прямое – в неличиночной и внутриутробной.

Непрямой (личиночный) тип развития характерен для многих видов беспозвоночных и некоторых позвоночных животных (рыб, земноводных). У таких организмов в процессе развития формируются одна или несколько личиночных стадий. Наличие личинки обусловлено относительно малыми запасами желтка в яйцах этих животных, а также необходимостью смены среды обитания в ходе развития либо необходимостью расселения видов, ведущих сидячий, малоподвижный или паразитический образ жизни. Личинки живут самостоятельно, активно питаются, растут, развиваются. У них имеется ряд специальных провизорных, т.е. временных, отсутствующих у взрослых форм, органов. Личиночный тип развития сопровождается превращением личинки во взрослую форму – *метаморфозом*.

Неличиночный (яйцекладный) тип развития имеет место у ряда беспозвоночных, а также у рыб, пресмыкающихся, птиц и некоторых млекопитающих, яйца которых богаты желтком. При этом зародыш длительное время развивается внутри яйца. Основные жизненные функции у таких зародышей осуществляются специальными провизорными органами - зародышевыми оболочками. Внутриутробный тип развития характерен для высших млекопитающих и человека, яйцеклетки которых почти лишены желтка. Все жизненные функции зародыша осуществляются через материнский организм. В связи с этим из тканей матери и зародыша развивается сложный провизорный орган - *плацента*. Завершается этот тип развития процессом деторождения.

Онтогенез представляет собой непрерывный процесс развития особи. Однако его этапы различаются по содержанию и механизмам происходящих процессов, в связи с чем онтогенез многоклеточных организмов подразделяют на периоды. Выделяют два периода онтогенеза: **эмбриональный и постэмбриональный**. Для плацентарных животных принято деление на пренатальный (до рождения) и постнатальный (после рождения) периоды. Нередко выделяют также проэмбриональный период, включающий процессы формирования половых клеток (сперматогенез и овогенез).

Эмбриональное развитие (эмбриогенез) начинается с момента оплодотворения и представляет собой процесс преобразования зиготы в многоклеточный сложно устроенный организм. Он включает процессы дробления, гастрюляции, гисто- и органогенеза. Завершается эмбриогенез выходом из яйцевых или зародышевых оболочек (при личиночном и неличиночном типах развития) либо рождением (при внутриутробном).

Дроблением называют процесс многократных быстро сменяющих друг друга митотических делений зиготы, приводящий к образованию многоклеточного зародыша. Деления дробления отличаются от обычных клеточных делений отсутствием постмитотического периода и роста образующихся клеток — бластомеров. В процессе дробления суммарный объем зародыша не изменяется, а размеры составляющих его клеток уменьшаются (зародыш дробится). Характер дробления у разных групп организмов различен и определяется типом яйцеклетки. Различают полное дробление, когда зигота дробится целиком, и неполное, когда дробится только часть ее. Полное дробление, в свою очередь, бывает равномерным, если образующиеся бластомеры примерно одинаковы по величине, и неравномерным, если они отличаются по размерам. Дробление бывает синхронным или асинхронным в зависимости от того, одновременно или нет происходит деление бластомеров (рис.1).

В результате дробления образуется *многоклеточный зародыш*, состоящий из группы тесно прилегающих друг к другу клеток и напоминающий тутовую ягоду. Такой зародыш называют морулой; она претерпевает процесс бластуляции. В ходе бластуляции бластомеры смещаются к периферии, образуя бластодерму; формирующаяся при этом срединная полость заполняется жидкостью и становится первичной полостью тела — бластоцелью. Такой шаровидный зародыш с однослойной стенкой и полостью внутри называют бластулой.

Зародыши всех видов животных проходят стадию бластулы. Бластулы разных животных отличаются друг от друга рядом особенностей (рис.2). После образования бластулы начинается процесс гастрюляции.

Гастрюляция — это процесс образования двух- или трехслойного зародыша — гастрюлы, основу которой составляют сложные и разнообразные перемещения клеток бластодермы. Образующиеся слои называют зародышевыми листками. Они представляют собой пласты клеток, имеющих сходное строение, занимающих определенное положение в зародыше и дающих начало определенным органам и системам органов. Различают наружный — эктодерма — и внутренний — энтодерма - листки, между которыми располагается средний зародышевый листок — мезодерма. В зависимости от типа бластулы

клетки в ходе гастрюляции перемещаются по-разному. Выделяют четыре основных способа гастрюляции: инвагинация (впячивание), эпиболия (обрастание), иммиграция (проникновение внутрь), деламинация (расслоение), которые в чистом виде почти не встречаются, что дает основание выделять пятый способ – смешанный, или комбинированный (рис. 3).

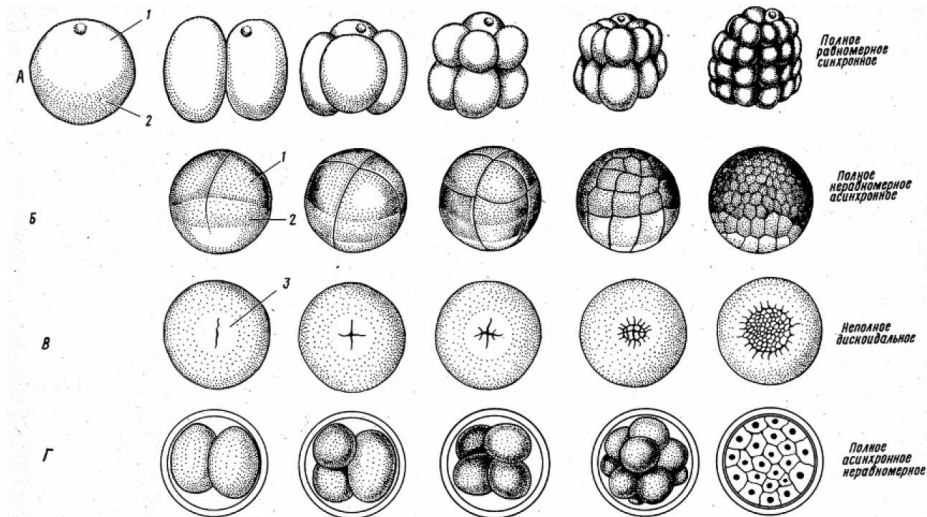


Рис.1 Дробление у хордовых животных. А – ланцетника, Б – амфибии, В – птицы, Г – млекопитающие: 1 – анимальный полюс зародыша, 2 – вегетативный полюс зародыша, 3 – зародышевый диск

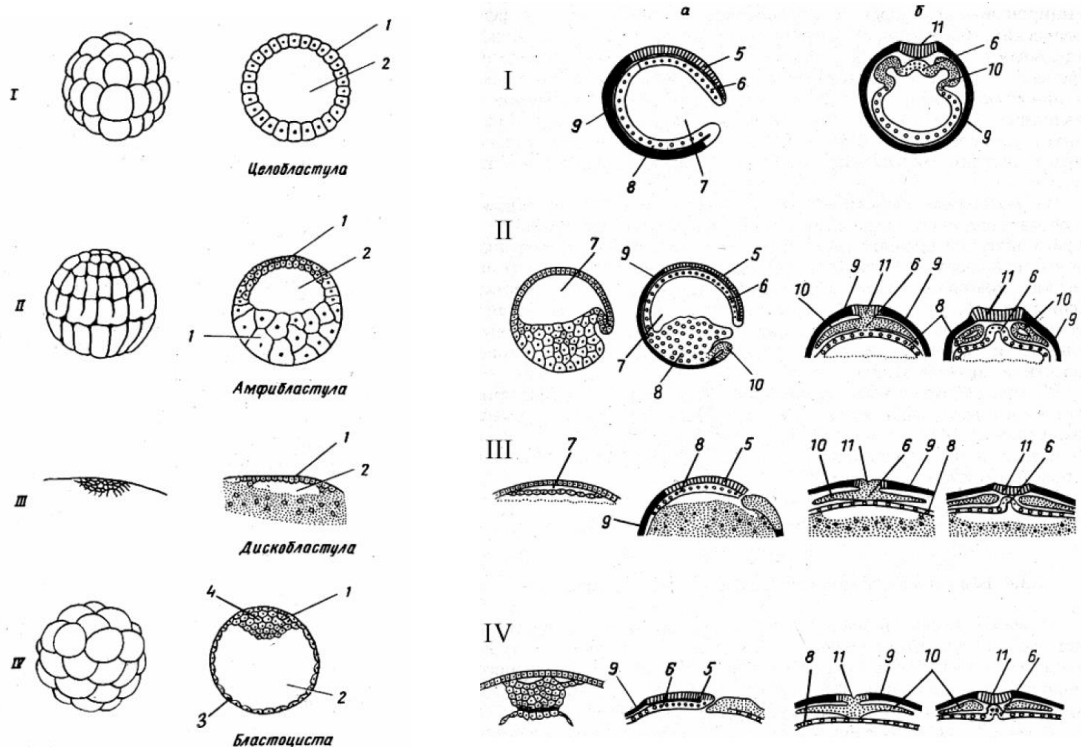


Рис. 2. Бластуляция у хордовых животных: I – ланцетник, II – амфибии, III – птицы, IV – млекопитающие.

Рис. 3. Гастрюляция у хордовых животных: I – ланцетник, II – амфибии, III – птицы, IV – млекопитающие. а и в – продольные срезы зародышей; 1 – бластодерма, 2 – бластоцель, 3 – трофобласта, 4 – внутренняя клеточная масса, 5 – нейроэктодерма, 6 – хорда, 7 – гастробласта, 8 – энтодерма, 9 – эктодерма, 10 – мезодерма, 11 – нервная пластинка

Инвагинация – впячивание одного из участков бластодермы внутрь целым пластом. У ланцетника впячиваются клетки вегетативного полюса, у земноводных инвагинация происходит на границе между анимальным и вегетативными полюсами в области серого серпа. Процесс инвагинации возможен только в яйцах с небольшим или средним количеством желтка.

Эпиболия – обрастание мелкими клетками анимального полюса более крупных, отстающих в скорости деления и менее подвижных клеток вегетативного полюса. Такой процесс ярко выражен у земноводных.

Деламинация – расслоение клеток бластодермы на два слоя, лежащих друг на другом. Деламинацию можно наблюдать в дискобластуле зародышей с частичным типом дробления, таких, как пресмыкающиеся, птицы, яйцекладущие млекопитающие.

Иммиграция – перемещения групп или отдельных клеток, не объединенных в единый пласт. Иммиграция встречается у всех зародышей, но в наибольшей степени характерна для второй фазы гастрюляции высших позвоночных. В каждом конкретном случае эмбриогенеза, как правило, сочетается несколько способов гастрюляции. Следующим за гастрюляцией процессом эмбрионального развития является формирование тканей и органов зародыша.

Гисто- и органогенез В ходе гисто- и органогенеза деление клеток и их перемещения продолжают, однако ведущую роль приобретают процессы дифференцировки клеток и зародышевых листков. Дифференцировка — это процесс появления и нарастания морфологических, биохимических и функциональных различий между отдельными клетками и частями развивающегося зародыша. Процесс дифференцировки обеспечивается дифференциальной активностью генов, т.е. активностью разных групп генов в различных типах клеток. Функционирование генов обеспечивает синтез разнообразных белков, а следовательно, метаболические характеристики многих типов клеток и формирующихся из них структур. Из материала наружного зародышевого листка – *эктодермы* – образуется нервная пластинка, дающая начало центральной и периферической нервной системе, а также ганглиозная пластинка, из которой формируются ганглии вегетативной нервной системы, клетки мозгового слоя надпочечников, пигментные клетки. Производными эктодермы являются также компоненты органов зрения, слуха, обоняния, эпидермис кожи, волосы, ногти, потовые, сальные и млечные железы, эмаль зубов, эпителий ротовой полости и прямой кишки. В ходе органогенеза происходят сложные преобразования клеточного материала *мезодермы*, приводящие к формированию хрящевого и костного скелета, соединительнотканного слоя кожи, скелетных мышц, а также органов кровеносной, выделительной и половой систем организма. Производными *энтодермы* являются кишечник и связанные с ним печень, поджелудочная железа, а также легкие.

Задания 1. Зарисуйте основные типы дробления у хордовых животных. Обозначьте бластомеры, борозды дробления, микромеры, макромеры, анимальный и вегетативный полюс зародыша. 2. Зарисуйте типы бластул у хордовых животных. Обозначьте бластодерму, бластоцель, трофобласт, эмбриобласт. 3. Зарисуйте основные этапы гастрюляции у хордовых животных. Обозначьте нейроэктодерму, хорду, гастроцель, энтодерму, мезодерму, нервную пластинку.

Вопросы для самоконтроля 1. Назовите основные типы онтогенеза. 2. Перечислите основные этапы эмбриогенеза. 3. Укажите характеристики дробления и типы бластул у хордовых животных. 4. Перечислите основные способы гастрюляции и охарактеризуйте их. 5. Перечислите основные производные экто-, эндо- и мезодермы.

Практическое занятие 15, 16

История развития теории эволюции

Эволюция (от лат. *evolutio* – развёртывание) – последовательные, необратимые изменения различных объектов и процессов материального мира во времени.

Данный термин широко применяется в различных областях науки. Можно говорить об эволюции атомов, галактик, Земли, машин, общества и т.д. Биологическая же эволюция имеет такую важную особенность как самовоспроизведение макромолекул и живых систем.

Биологическая эволюция – необратимое и направленное историческое развитие живой природы, сопровождающееся изменением генетического состава популяций, формированием адаптаций, образованием и вымиранием видов, преобразованиями биогеоценозов и биосферы в целом. Результатом биологической эволюции всегда является соответствие развивающейся живой системы условиям её существования.

В научный оборот термин «эволюция» ввёл в 1762 году швейцарский натуралист Шарль Бонне в работе, посвященной эмбриологическим проблемам. Он использовал термин «эволюция», перенося представление о прогрессивном эмбриогенезе (у отдельных особей) на развитие видов.

Идея об изменчивости органического мира – идея эволюции – стара, как мир. Эта идея прослеживается в трудах древних философов Месопотамии, Египта, Рима, Греции, Индии и Китая.

В Греции VII-V веков до н.э. развитие торговли и ремёсел подтолкнуло к поиску естественных объяснений явлений природы, ранее приписываемых деянием богов.

Анаксимандр (611-546 г. до н.э.) считал, что животные произошли из влаги (или воды), затем, защищенные раковиной, панцирем или иными твёрдыми покровами от высыхания, проникли на сушу. Человек «произошёл от животного другого вида», а первоначально был подобен рыбе. Первые люди возникли в теле рыб и по мере созревания вышли наружу.

Эмпедокл (495-435 г. до н.э.) говорил об общности волос, перьев и чешуи рыб, т.е. правильно понимал явление гомологии. Он говорил также об общности семени растений и яйца птиц.

Аристотель является разработчиком сравнительно-анатомического метода и основателем сравнительной анатомии. Также является автором «лестницы существ», начинающаяся минералами и заканчивающаяся человеком.

С закатом античной науки и распространением христианства победило мировоззрение, в котором не было места для представлений о естественной эволюции. В дальнейшем рост средневековых городов, потребности экономики и культуры привели к основанию университетов и других форм высших школ. Появление университетов облегчило восприятие новых научных достижений, связанных уже с эпохой Возрождения.

В Новое время продолжает интенсивно развиваться описательная ботаника и зоология, а во второй половине XVII века к ним присоединяются микроскопическая анатомия и микроскопическая зоология.

XVIII век Карл Линней шведский натуралист, врач, фармаколог, этнограф. Является автором «Системы природы» (1735). В этом издании он заложил основы классификации «трёх царств природы» - растений, животных и минералов.

Линней отнёс человека к классу млекопитающих и отряду приматов. Отнесение человека к миру животных, помещение его в один ряд с обезьянами требовало от Линнея не только большой научной интуиции, но и гражданской смелости. Вполне естественно, что с 1758 по 1774 г. изложение системы Линнея было запрещено римским папой. Известно, что система Линнея была искусственной, т.е. она была построена на основе удобства

классификации и максимальной простоты определения организмов, а не по принципу их максимального сходства.

Историческое значение Линнея состоит в том, что сам он, не будучи эволюционистом, выдвинул принцип иерархичности систематических категорий (таксонов): виды объединяются в рода, роды в отряды, отряды в классы. Иерархичность системы Линнея графически близка к дихотомической схеме дивергентной эволюции, предложенной столетием позже Ч. Дарвином.

Важными событиями в истории становления эволюционной теории стали труды великого учёного XVIII века Жоржа Бюффона. Хотя сам он и не был явным сторонником эволюционных представлений, он считается, по выражению Э. Майра, «отцом эволюционизма». Бюффон обобщил огромное количество самых разнообразных данных о природе. С 1749 по 1788 год вышло 35 томов его грандиозного сочинения «Естественная история», в которой он обосновывает гипотезу о развитии Земли. Ж. Бюффон видел доказательство единства происхождения в плане строения животных и объяснял сходство близких форм их происхождением от общих предков.

Первая целостная концепция эволюции была сформулирована французским естествоиспытателем и философом Жаном Батистом де Ламарком.

В труде «Философия зоологии» (1809) Ж.Б.Ламарк даёт эволюционное обоснование «лестницы существ». По его мнению, эволюция идет на основании внутреннего стремления организмов к прогрессу (принцип градации). Второй принцип, положенный Ламарком в основу своего учения, состоит в утверждении изначальной целесообразности реакций любого организма на изменение внешней среды и признания возможности прямого приспособления. Он считал, что вслед за изменением условий тотчас следует изменение привычек, посредством упражнения соответствующие органы изменяются в нужном направлении (принцип градации) и эти изменения передаются по наследству (принцип изначальной целесообразности).

Но первым эволюционистам не удалось убедить своих современников. Несмотря на утвердившееся в естествознании мнение о том, что Земля пребывает в постоянном изменении, виды продолжали считать неизменными. Только Дарвину удалось поколебать этот последний оплот веры в творение и статическое состояние мира. Благодаря его трудам эволюция в течение всего нескольких лет была признана установленным фактом подавляющим большинством образованных людей.

Предпосылки возникновения учения Ч. Дарвина

Социально-экономические

В первой половине XIX века в Англии интенсивно развивается капитализм, который стимулирует развитие науки. Спрос промышленности на сырьё и населения растущих городов на продукты питания способствовал развитию селекции. Учёные-селекционеры выводили новые породы крупного рогатого скота, лошадей, свиней, овец, птиц и сорта сельскохозяйственных растений. Англия становится крупнейшей колониальной державой. Английские военные и торговые суда ходили по всему миру, а экипажи кораблей включали опытных натуралистов для проведения научных экспедиций, а также для сбора богатейших естественнонаучных коллекций по геологии, палеонтологии, ботанике и зоологии. Появилось экономическое учение Адама Смита (1723-1790) о свободной конкуренции и Томаса Мальтуса (1766-1834) о народонаселении. Впечатляющие успехи практической деятельности человека по преобразованию домашних растений и животных косвенно, но убедительно свидетельствовали против представлений о неизменности видов в природе.

Естественно-научные

Данные сравнительной морфологии и анатомии свидетельствовали о едином плане строения позвоночных животных: сходство в деталях скелета, мышц, сосудов.

Александр Гумбольдт (1769-1859) высказал мысль о зависимости географического распространения организмов от условий существования.

Вильгельм Гофмейстер (1824-1877) обнаружил чередование поколений растений и указал на гомологию органов размножения споровых и цветковых растений.

Роберт Оуэн (1771-1858) установил понятие о гомологичных и аналогичных органах.

Исследования сравнительной эмбриологии Карла Бэра (1792-1876) привели к мысли о единстве происхождения хордовых животных: на ранних стадиях развития зародыши животных, относящиеся к разным классам, обнаруживали поразительное сходство в строении.

Теодор Шванн (1810-1882) совместно с Маттиасом Шлейденом (1804-1881) и Рудольфом Вирховым (1821-1902) сформулировали клеточную теорию о единстве происхождения растительного и животного мира.

Иммануил Кант (1724-1804) заложил основы представлений о возможности эволюции космических тел.

Иёнс Якоб Берцелиус (1779-1848) доказал, что все животные и растения состоят из тех же элементов, которые встречаются в неживой природе.

Эти, а также выше описанные научные гипотезы и факты, никак не согласовывались с учением о неизменности органического мира и ждали научного объяснения.

Чарльз Роберт Дарвин родился 12 февраля 1809 года в Шрюсбери и закончил свой жизненный путь 19 апреля 1882 году в Дауне (похоронен в Вестминстерском аббатстве в Лондоне). Уже в ранней юности Чарльз интересовался природой и увлекался коллекционированием растений, раковин и т.д. В 1825-1827 годах он изучал медицину в Эдинбургском университете, а в 1827-1831 годах – теологию в Кембридже, где в 1831 году ему была присуждена степень бакалавра. Натуралистическое образование Дарвин получил самостоятельно под общим руководством ботаника и минералога Джона Генсло (1796-1861) и геолога Адама Седжвика (1785-1873).

Поворотным пунктом в его жизни стало кругосветное путешествие (1831-1836) на исследовательском судне «Бигль». Главной задачей экспедиции было уточнение карт побережья Южной Америки. Дарвин очень продуктивно использовал эти пять лет. Он собирал различные коллекции как ныне живущих, так и ископаемых организмов и провёл множество геологических наблюдений. Знакомство и исследование фауны Южной Америки не могло не навести на мысль о том, что этот континент в течение долгого времени был изолирован от Северной Америки и что эта изоляция существенно повлияла на протекание эволюционного процесса у разных представителей южноамериканской фауны. С эволюцией в пространстве в ещё большей степени Дарвин познакомился на Галапагосских островах, где он смог наблюдать дивергенцию, как гигантских сухопутных черепах, так и выюров.

После возвращения Дарвин начал сортировать свои коллекции и рассылать их различным специалистам. Научная обработка этого огромного материала стала основным занятием Дарвина на несколько лет. За короткое время он стал известным натуралистом. В 1838 году Дарвин знакомится с демографической работой Томаса Мальтуса «Опыт о законе народонаселения» (1798). В данном труде автор подчёркивает, что человеческое население возрастает в геометрической прогрессии, тогда как производство пищи – только в арифметической; в результате происходит перенаселение и возрастает недостаток средств существования. Из модели Мальтуса Дарвин извлёк концепцию борьбы за существование, перенёс её на биологические объекты и сделал её краеугольным камнем своей теории эволюции. Вымирание неприспособленных при выживании приспособленных лежит в основе сформулированного Дарвином принципа естественного отбора.

Дарвин развивал свою теорию начиная с 1838 года, пока Альфред Уоллес в 1858 году не прислал ему свою работу с такими же идеями. Статья Уоллеса была опубликована в том же году в одном томе трудов Линнеевского общества вместе с краткой выдержкой из работ Дарвина.

24 ноября 1959 года выходит в свет работа Чарльза Дарвина «Происхождение видов путём естественного отбора, или сохранение благоприятствуемых пород в борьбе за жизнь». Она сразу же привлекла к себе всеобщее внимание и имела редкий для научной книги коммерческий успех.

В 1871 году, когда дарвинизм был уже принят в качестве естественнонаучной концепции ведущими учёными мира, выходит книга Дарвина «Происхождение человека и половой отбор», в которой показано не только несомненное сходство, но и родство человека и человекообразных обезьян.

Несмотря на признание учения Ч. Дарвина большинством учёных, многие ведущие биологи либо не приняли, либо принимали учение об эволюции путём естественного отбора с оговорками, либо выдвигали серьёзные возражения. Этому в немалой степени способствовало то, что взгляды Дарвина встретились с рядом трудностей (например, в природе редко находились переходные формы, присутствие которых постулировал Дарвин), возникновение органов очень сложного строения и сложных форм поведения также, на первый взгляд было трудно объяснить посредством аккумуляции мелких изменений. Критика дарвинизма особенно усилилась в период возникновения генетики. Причиной указанных трудностей дарвинизма было отсутствие достаточно строгих доказательств наследственной изменчивости.

Знаменательным событием в истории развития эволюционного учения стал 1926 год – год появления работы Сергея Сергеевича Четверикова «О некоторых моментах эволюционного учения с точки зрения современной генетики», давшей начало синтеза генетики и классического дарвинизма. Ленинградский генетик Юрий Александрович Филиппченко в 1927 году предложил разделить эволюцию на два процесса – микроэволюцию, то есть дивергенцию от популяционного до видового уровня, и макроэволюцию, то есть дивергенцию на уровне выше вида.

Проведённые в 1928-1930 годах исследования Рональда Фишера (1890-1962), Сьюэла Райта (1889-1988), Николая Петровича Дубинина (1906-1998) и Дмитрия Дмитриевича Ромашова (1899-1963) показали, что в эволюции большую роль играет не только появление новых мутаций, но и изменение частоты встречаемости существующих аллелей гена благодаря случайным процессам, которые впоследствии были названы «дрейфом генов» или «генетико-автоматическими процессами».

Одной из важнейших работ стала книга «Генетика и происхождение видов» (1937) русскоамериканского генетика Ф. Г. Добржанского, в которой продемонстрирована возможность приложения популяционно-генетических данных к решению проблемы видообразования. В этом труде он сформулировал представление о системе «изолирующих механизмов эволюции» – тех барьеров, которые обеспечивают, с одной стороны, обособленность одного вида от другого, а с другой – способствуют поддержанию генетического единства вида как целого. В этой же книге было введено в широкий научный оборот полузабытое к тому времени правило Харди-Вайнберга.

В 1939-1943 годах Тимофеев-Ресовский предложил выделять элементарные эволюционные акты: элементарный эволюционный материал (мутация), элементарное эволюционное явление (изменение генотипического состава популяции), элементарную единицу эволюции (популяция). В 1942 году появились две работы, в которых также обосновывались принципы синтетического дарвинизма – «Систематика и происхождение видов» немецко-американского орнитолога Эрнста Майра (1904-2005) и «Эволюция. Современный синтез» Джулиана Хаксли (1887-1975).

Сравнительная характеристика теории Ч. Дарвина и СТЭ

<i>Критерии</i>	<i>Эволюционное учение Ч. Дарвина</i>	<i>Синтетическая теория эволюции</i>
Единица эволюции	вид	популяция
Факторы эволюции	наследственность, изменчивость, борьба за существование, естественный отбор	мутационная и комбинативная изменчивость, популяционные волны, дрейф генов, изоляция, естественный отбор
Движущий фактор	естественный отбор	
Содержание термина «естественный отбор»	выживание более приспособленных и гибель менее приспособленных форм	избирательное воспроизводство генотипов
Формы естественного отбора	движущий (половой, как разновидность движущего)	движущий, стабилизирующий, дизруптивный
Результаты эволюции	повышение приспособленности организмов к условиям среды, повышение уровня организации живых существ, многообразие видов	

Дальнейшее развитие эволюционной теории в XX веке связано с открытием структуры ДНК Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком (1953) идёт быстрое развитие молекулярной биологии. Так как скорость эволюции организма в некоторых ветвях гоминид превышает скорость эволюции белков, то было высказано предположение о большей эволюционной лабильности регуляторных генов, в отличие от структурных. Однако, мутации в каждом из этих типов генов имеют существенное значение для эволюции. Было показано, что различия между близкими видами часто основаны на дупликации генов. Было открыто явление трансдукции – переноса генов от одной бактерии к другой посредством вирусов, тем самым показано, что некоторые признаки могут передаваться в процессе эволюции у прокариот не только в чреде поколений («вертикально»), но и «горизонтально», от особи к особи. Каждая из таких находок вначале трактовалась как противоречащая дарвинизму и отвергающая его. Но во всех без исключения случаях оказывалось, что молекулярная биология (как в своё время и генетика) отлично дополняет и, ни в коей мере не отменяет дарвиновское объяснение эволюции и естественный отбор как единственный направленный фактор.

В 1968 японец Мотоо Кимура представил свою теорию молекулярной эволюции, согласно которой большинство генетических изменений несут нейтральный характер по отношению к естественному отбору, что делало дрейф генов главным фактором эволюции. Понятие «нейтральный» в данном контексте означает то, что мутировавшие формы не отличаются от первоначальных форм в отношении выживания и успеха в размножении. Теория Кимуры базировалась на популяционной генетике 1930-х годов (Фишер, Холдейн и Райт) и на данных молекулярной биологии. Впоследствии, сведения о нейтральных мутациях были также включены в синтетическую теорию эволюции.

Постулат о популяции как наименьшей эволюционирующей единице остается в силе. Однако огромное количество организмов без полового процесса остается за рамками этого определения популяции, и в этом видится значительная неполнота синтетической теории эволюции. Развитие синтетической теории эволюции будет продолжаться с появлением новых открытий.

Порядок выполнения работы: 1. Используя материалы методички и рекомендуемые источники, изучить основные события в истории развития эволюционного учения.

2. Выделить основные этапы развития эволюционного учения, заполнить таблицу.

№	Этап развития эволюционного учения	Период времени	Наиболее важные открытия и имена ученых

Контрольные вопросы

1. Открытия и ученые, которые внесли наиболее важный вклад в развитие эволюционного учения.
2. Этапы развития эволюционного учения.
3. Основные положения синтетической теории эволюции и ее отличия от теории Дарвина.

Практическое занятие 17

История развития микробиологии

Цель: изучить основные события в истории развития микробиологии, выделить основные этапы ее развития

Теоретические положения

Микробиология принадлежит к числу тех наук, которые сильно изменили жизнь человечества.

К использованию микробиологических процессов при изготовлении теста, вина, кисломолочных продуктов человечество прибегало с незапамятных времен.

Открытие микроорганизмов относится к концу XVII в. Открыл их голландский натуралист Антони ван Левенгук (1632-1723), который сконструировал простейший микроскоп, увеличивающий рассматриваемый объект в десятки и сотни раз.

В книге «Тайны природы» он впервые описал представителей основных групп микроорганизмов: одноклеточных организмов (протистов), водорослей, бактерий. Труды Антони ван Левенгука получили широкую известность при его жизни. В 1698 г. Петр I, находясь в Голландии, посетил Левенгука и привез микроскоп в Россию.

Долгое время наука о микробах носила в основном описательный характер — шел так называемый морфологический период ее развития.

Начало нового направления — физиологического периода в развитии микробиологии — приходится на XIX в., который называют «Золотым веком» и связывают с деятельностью выдающегося французского ученого Луи Пастера (1822-1895). Пастер установил, что микроорганизмы различаются не только по внешнему виду, но и по характеру жизнедеятельности: они вызывают разнообразные химические превращения в субстратах. Он доказал, что происходящее в виноградном соке спиртовое брожение

обусловлено жизнедеятельностью микроорганизмов — дрожжей. Это открытие опровергло господствующую в то время теорию Ю. Либиха о химической природе брожения. Большой цикл работ Пастера был посвящен изучению причин «болезней» вина и пива. Пастер показал, что их возбудителями являются микроорганизмы, и чтобы предотвратить порчу, предложил про-гретать напитки. Этот прием применяют и в настоящее время и называют пастеризацией. Пастер впервые обнаружил бактерии, не способные развиваться в присутствии воздуха, т. е. показал, что жизнь возможна и без кислорода.

Пастер открыл природу инфекционных болезней человека и животных, установил, что эти болезни возникают вследствие за-ражения особыми микробами и что каждое заболевание вызывается определенным микроорганизмом. Он разработал и научно обосновал метод предупреждения заразных болезней (предохраняющие прививки), изготовил вакцины против бешенства и сибирской язвы.

Значительным вкладом в микробиологию стали исследования немецкого ученого Роберта Коха (1843-1910). Им были введены в микробиологическую практику плотные питательные среды для выращивания микроорганизмов, что привело к разработке метода выделения микроорганизмов в так называемые чистые культуры, т. е. к выращиванию массы клеток каждого вида в отдельности. Этот метод открыл совершенно новые подходы для более углубленного изучения свойств микроорганизмов и вызвал бурное развитие микробиологии. Р. Кох выявил (1882) возбудителя туберкулеза, названного его именем — «палочкой Коха».

Развитие микробиологии неразрывно связано с работами русских ученых. Родоначальником русской микробиологии считается И.И. Мечников (1845-1916), классические работы которого положили начало новому этапу в развитии науки. Центральной проблемой его исследований было изучение взаимоотношений паразита и хозяина — человека. Он создал фагоцитарную теорию иммунитета, в основе которой лежит способность макроорганизма противостоять инородным телам, в том числе и болезнетворным микробам. И.И. Мечников и Л. Пастер положили начало изучению антагонизма микробов, что явилось основой науки об антибиотиках. И.И. Мечниковым в Одессе была организована первая в России бактериологическая лаборатория.

Ближайшим сотрудником И.И. Мечникова был известный русский микробиолог и эпидемиолог Н.Ф. Гамалея (1859-1949), изучавший многие вопросы медицинской микробиологии. Н.Ф. Гамалея организовал в 1886 г. в Одессе первую в России станцию по прививкам против бешенства (вторую в мире после Пастеровской станции в Париже). Вся его деятельность была направлена на решение важнейших вопросов здравоохранения в нашей стране.

Общая микробиология, изучающая микроорганизмы почвы, воды, и особенно сельскохозяйственная получила развитие в трудах С.Н. Виноградского (1856-1953). Он открыл процесс хемосинтеза — установил существование особых бактерий (хемоавтотрофов), способных ассимилировать углекислый газ из воздуха, используя в процессе синтеза органических веществ химическую энергию, освобождающуюся в результате реакции окисления неорганических соединений. Открыл явление фиксации атмосферного азота анаэробными бактериями. С.Н. Виноградским разработан оригинальный метод выращивания микроорганизмов с применением элективных (избирательных) питательных сред и условий, приближенных к естественному обитанию микроорганизмов. Этот метод получил широкое применение во всех областях микробиологии.

Учеником и сотрудником С.Н. Виноградского был В.Л. Омелянский (1867-1928), создавший первый русский учебник по микробиологии «Основы микробиологии», изданный в 1909 г. Им же составлено первое «Практическое руководство по микробиологии».

Большой вклад в развитие микробиологии внесли А.А. Имшенецкий, Е.Н. Мишустин, С.И. Кузнецов, Н. Д. Иерусалимский, М.Н. Мейсель, Е. Н. Кондратьева и другие ученые.

В развитии технической микробиологии большую роль сыграли работы С.П. Костычева, С.Л. Иванова, А. И. Лебедева, изучавших процесс спиртового брожения. На основе исследований химизма образования органических кислот грибами, проведенных С.П. Костычевым и В.С. Буткевичем, в нашей стране в 1930 г. было организовано производство лимонной кислоты.

В.Н. Шапошников (1884-1968) и А.Я. Мантейфель (1882-1960) изучили и внедрили в практику способ производства молочной кислоты с помощью бактерий. Исследования В.Н. Шапошникова и Ф.М. Чистякова (1898-1959) дали возможность еще в начале 30-х годов организовать в промышленном масштабе производство ацетона и бутилового спирта с помощью бактерий. В 1947 г. В.Н. Шапошников написал первый в СССР учебник «Техническая микробиология».

Становление пищевой микробиологии связано с трудами Я.Я. Никитинского-младшего (1878-1941). Он впервые создал курс лекций пищевой микробиологии и много лет читал его в Институте народного хозяйства им. Г.В. Плеханова. Совместно с Б.С. Алеевым Я.Я. Никитинский написал специальный курс микробиологии скоропортящихся продуктов и руководство к практическим работам по микробиологии для студентов, изучающих товароведение продовольственных товаров. Труды Я.Я. Никитинского и его учеников положили начало широкому развитию микробиологии консервного производства и холодильного хранения скоропортящихся пищевых продуктов. В теорию и практику холодильного хранения продуктов питания большой вклад внес и Ф.М. Чистяков.

В микробиологию молока и молочных продуктов фундаментальный вклад внесли школы С.А. Королева (1876-1932) в Вологодском молочном институте и А.Ф. Войткевича (1875-1950) в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева. В последующем это направление микробиологии развивалось в работах В.М. Богданова, Н.С. Королевой, А.М. Скородумовой, Л.А. Банниковой.

В настоящее время микробиология стала не только фундаментальной наукой — в стране плодотворно работают научно-исследовательские учреждения по многим разделам микробиологической науки. Заказы народного хозяйства выполняют многие промышленные производства, в технологии которых главенствуют микробиологические процессы.

Микробиологическая промышленность выпускает большое количество разнообразных, необходимых народному хозяйству страны препаратов: антибиотики, ферменты, аминокислоты, белки, органические кислоты и другие продукты.

Широкое развитие получила и пищевая микробиология. Во всех крупных отраслях пищевой промышленности есть научно-исследовательские институты, в которых имеются микробиологические лаборатории. На многих предприятиях пищевой промышленности функционируют микробиологические лаборатории, контролирующие производство, качество сырья и готовой продукции.

Порядок выполнения работы: 1. Используя материалы методички и рекомендуемые источники, изучить основные события в истории развития микробиологии.

3. Выделить основные этапы развития микробиологии, заполнить таблицу.

4.

№	Этап развития микробиологии	Период времени	Наиболее важные открытия и имена ученых

Контрольные вопросы

4. Открытия и ученые, которые внесли наиболее важный вклад в развитие микробиологии.
5. Этапы развития микробиологии.
6. Значение работ Л. Пастера для развития микробиологии.
7. Значение работ Р. Коха для развития микробиологии.
8. Значение работ И. Мечникова для развития микробиологии.

Практическое занятие 11**Методы культивирования микроорганизмов. Питательные среды**

Цель работы: изучить методы культивирования микроорганизмов, классификацию питательных сред; освоить методики приготовления питательных сред.

Теоретические положения

Культивирование (выращивание) микроорганизмов в лабораторных и производственных условиях проводят на специальных питательных средах с целью количественного и качественного анализа микрофлоры различных объектов: пищевых продуктов, биологических образцов (например, в медицине), воды, воздуха и т.д.; изучения свойств микроорганизмов и их идентификации (определение вида); выращивания полезных микроорганизмов (приготовление заквасок, получение продуктов микробиологического синтеза).

Различают три вида культивирования микроорганизмов:

1. Периодическое – используется при получении заквасок; характерны закономерности статической культуры до фазы отмирания, включает стадии выращивания, концентрирования клеток путем отделения от питательной среды сепарированием, сублимационной сушки, для которой используются специальные защитные среды.
2. Непрерывное, целью которого является продление фазы роста, для этого используют два способа – многократный пересев на новую питательную среду и непрерывное введение питательного раствора при одновременном удалении продуктов метаболизма и части бактериальной суспензии. Осуществляют в специальных аппаратах двух типов: хемостатах (рост микроорганизмов регулируется концентрацией лимитирующих веществ питательного субстрата – источников С, азота, витаминов, микроэлементами и т.п.) или в турбидостатах (процесс контролируется по изменению концентрации микроорганизмов путем измерения оптической плотности, мутности в прозрачных питательных средах).

3. Синхронное – одновременное деление клеток, применяется в научных целях для изучения циклов клеточного деления; нужны клетки одного возраста, этого добиваются путем изменения температуры, поступления кислорода, питательных веществ, использования бактериальных фильтров.

Питательные среды должны содержать все питательные вещества, макро- и микроэлементы, необходимые для развития данного вида микроорганизмов, а также иметь оптимальные значения активной кислотности и окислительно-восстановительного потенциала. К обязательным компонентам относятся: вода, биогенные элементы (С, Н, О, N, P, S), для большинства микроорганизмов необходимы также K, Ca, Fe, Mg, для некоторых требуются микроэлементы (Co, Ni, Zn), витамины и др. ростовые факторы.

Питательные среды классифицируются по происхождению, консистенции, назначению. По **происхождению** среды делятся на:

- естественные – полученные из природных объектов, чаще всего из натуральных пищевых продуктов (овощи, фрукты, мясо и мясной бульон МБ, молоко, отвары, настои и экстракты трав и т.д.);
- искусственные (полусинтетические) – полученные путем добавления в естественные среды различных добавок (например, мясо-пептонный бульон МПБ, мясо-пептонный агар МПА), а также путем специальной обработки (например, гидролизованное молоко ГМ);
- синтетические – растворы химически чистых веществ в точных концентрациях с заранее заданными свойствами (например, углеводные среды Гисса, среда Козера с цитратами).

По **консистенции** среды бывают жидкие (ГМ, МБ), полужидкие (среды для определения анаэробов) плотные (МПА, МПЖ, АГМ), а также сухие (перед приготовлением их растворяют в воде в соответствии с инструкцией, фильтруют и стерилизуют). Для уплотнения сред используют агар-агар (полисахарид из морских водорослей, не усваивается микроорганизмами, вносится в количестве от 0,1 до 3% в зависимости от желаемой консистенции) и желатин (белковое вещество животного происхождения, некоторые виды протеолитических микроорганизмов способны разжижать желатин, поэтому он используется в основном для дифференциально-диагностических сред).

По **назначению** среды делятся на 3 основные группы:

- стандартные (общеупотребительные) – для определения многих видов микроорганизмов (МПА, МПБ), применяются для количественного учета и определения

стандартных показателей, например, количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ);

- **элективные (избирательные, среды накопления)** обеспечивают преимущественное накопление одного вида или группы микроорганизмов по сравнению с другими видами или группами. Примеры: среда Кесслер (с лактозой, реагентом-индикатором синего цвета, желчью и стеклянным поплавком) для определения бактерий группы кишечной палочки, способных усваивать лактозу с выделением кислоты (изменяет цвет красителя до желтого) и газа (собирается в поплавке в виде пузырька), устойчивых к желчи (большинство других в присутствии желчи погибает); молоко, ГМ, АГМ – для преимущественного развития молочнокислых;
- **дифференциально-диагностические** – для определения вида микроорганизма путем отделения от других на основании различий в метаболизме (среда Эндо – для выявления кишечной палочки *E.coli*, которая дает на этой среде колонии красного цвета с металлическим блеском; среда Блаурока для определения бифидобактерий).

Аппаратура и материалы: образцы питательных сред (жидкие, полужидкие, плотные, сухие); посуда, инструменты и вспомогательные материалы для приготовления питательных сред.

Порядок выполнения работы: 1. Изучить цели культивирования микроорганизмов, основные требования к составу и свойствам питательных сред и их классификацию по разным признакам.

2. Заполнить в тетради табл. 1.

Таблица 1 - Классификация питательных сред

Классификационный признак	Вид питательной среды	Примеры

Содержание отчета: определение культивирования, заполненная таблица по классификации питательных сред.

Контрольные вопросы

1. Что такое культивирование микроорганизмов?
2. От чего зависит состав питательных сред?
3. Классификация питательных сред по происхождению.
4. Классификация питательных сред по консистенции.
5. Классификация питательных сред по назначению.

Практическое занятие 12

Методы и средства стерилизации в микробиологии

Цель работы: изучить методы и средства стерилизации, устройство автоклава; освоить методики подготовки посуды к стерилизации.

Теоретические положения

Необходимым условием проведения микробиологических анализов и культивирования является стерильность инструментов, посуды и питательных сред.

Стерилизация – обеспложивание, уничтожение всех микроорганизмов в вегетативной и споровой форме (в отличие от пастеризации, целью которой является уничтожение только вегетативных форм). Различают два основных вида стерилизации – термическую и холодную.

Методы термической стерилизации:

- **фламбирование** – обжиг в пламени, прокаливание, для металлических и стеклянных инструментов;
- **кипячение** в течение 10÷30 мин, для металлических инструментов в специальных плотно закрытых стерилизаторах;
- **сухим жаром** – нагревание в печах Пастера при температуре (165÷170)°С в течение 1÷2 ч; для стеклянной посуды и инструментов;
- **паром под давлением** в автоклавах – аппаратах с прочными двойными стенками и герметично закрывающейся крышкой, к обязательным элементам устройства относятся манометр, показывающий давление пара, и предохранительный клапан (рис.1); наиболее распространенный метод стерилизации; температура стерилизации зависит от давления пара: 112°С (0,5 атм), 120°С (1 атм), 134°С (2 атм); автоклавы относятся к аппаратуре повышенной опасности, для работы с ними необходим специальный допуск;

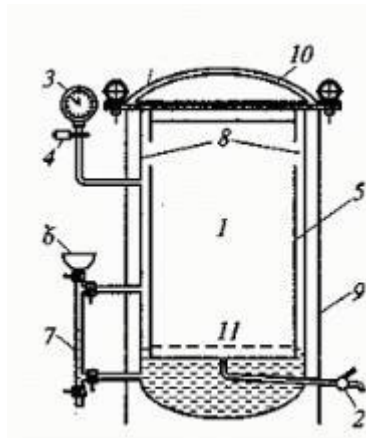


Рис. 1. Схема автоклава:

1 — стерилизационная камера; 2 — кран для выхода воздуха; 3 — манометр; 4 — предохранительный клапан; 5 — водопаровая камера; 6 — воронка для заполнения автоклава водой; 7 — водомерная трубка; 8 — отверстия для поступления пара в стерилизационную камеру; 9 — защитный кожух; 10 — крышка автоклава; 11 — подставка для размещения стерилизуемых предметов

- **текучим паром** — нагревание в аппаратах Коха, температура — до 100°C , применяют для обработки питательных сред, компоненты которых могут разрушаться при более высокой температуре; для достижения стерилизующего эффекта применяют **дробную стерилизацию**, которую проводят в несколько этапов: нагревание текучим паром в течение $20\div 30$ мин (погибает вегетативная микрофлора), охлаждение до комнатной температуры, выдержка $18\div 24$ ч (споры прорастают и превращаются в вегетативные клетки), повторное нагревание и повторение операций $3\div 6$ раз.

К методам холодной стерилизации относятся:

- **механическая** — фильтрование через специальные бактериальные фильтры (например, свечи Шамберлена, фильтры Зейтца), применяется для сред, которые нельзя нагревать;
- **химическая** — обработка химическими реагентами, обладающими бактерицидным действием, для обеззараживания посуды и инструментов;
- **физическая** — облучением, применяется для обработки инструментов и помещений.

Аппаратура и материалы: питательные среды, посуда, инструменты и вспомогательные материалы для их подготовки к стерилизации.

Порядок выполнения работы: 1. Изучить методы и средства стерилизации и заполнить в тетради таблицу 12.1.

Таблица 12.1 - Классификация методов стерилизации

Вид стерилизации	Метод стерилизации	Параметры	Средства

2. Изучить и зарисовать устройство автоклава.

3. Подготовить посуду, пипетки, питательные среды к стерилизации в автоклаве.

Содержание отчета: заполненная таблица по классификации методов стерилизации; схема устройства автоклава.

Контрольные вопросы

1. Цель стерилизации и пастеризации.
2. Термическая стерилизация: методы, средства и назначение.
3. Сущность и режимы дробной стерилизации.
4. Холодная стерилизация: методы, средства и назначение.

Практическое занятие 13

Ультраструктура клеток бактерий

Цель работы: изучить общие и специфические структурные элементы бактериальных клеток.

Теоретические положения

Бактериальная клетка состоит из клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, цитоплазмы с включениями и ядерного аппарата, называемого нуклеоидом. Имеются другие структуры: мезосома, хроматофоры, тилакоиды, вакуоли, включения полисахаридов, жировые капельки, капсула (микрокапсула, слизь), жгутики, пили. Некоторые бактерии способны образовывать споры.

Клеточная стенка

В клеточной стенке грамположительных бактерий содержится небольшое количество полисахаридов, липидов, белков. Основным компонентом клеточной стенки этих бактерий является многослойный пептидогликан (муреин, мукопептид), составляющий 40—90% массы клеточной стенки. С пептидогликаном клеточной стенки грамположительных бактерий ковалентно связаны тейхоевые кислоты (от греч. *teichos* — стенка).

В состав клеточной стенки грамотрицательных бактерий входит наружная мембрана, связанная посредством липопротейна с подлежащим слоем пептидогликана. На ультратонких срезах бактерий наружная мембрана имеет вид волнообразной трехслойной структуры, сходной с внутренней мембраной, которую называют цитоплазматической. Основным компонентом этих мембран является бимолекулярный (двойной) слой липидов. Внутренний слой наружной мембраны представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположен липополисахарид (ЛПС). Липополисахарид наружной мембраны состоит из трех фрагментов: липида А - консервативной структуры, практически одинаковой у грамотрицательных бактерий; ядра, или стержневой, коровой части (лат. *core* — ядро), относительно консервативной олигосахаридной структуры (наиболее постоянной частью ядра ЛПС является кетодезоксиоктоновая кислота); высоковариабельной О-специфической цепи полисахарида, образованной повторяющимися идентичными олигосахаридными последовательностями (О-антиген). Белки матрикса наружной мембраны пронизывают ее таким образом, что молекулы белка, называемые поринами, окаймляют гидрофильные поры, через которые проходят вода и мелкие гидрофильные молекулы.

При нарушении синтеза клеточной стенки бактерий под влиянием лизоцима, пенициллина, защитных факторов организма образуются клетки с измененной (часто шаровидной) формой: протопласты — бактерии, полностью лишенные клеточной стенки; сферопласты - бактерии с частично сохранившейся клеточной стенкой. Бактерии сферо- или протопластного типа, утратившие способность к синтезу пептидогликана под влиянием антибиотиков или других факторов и способные размножаться, называются L-формами.

Они представляют собой осмотически чувствительные, шаровидные, колбовидные клетки различной величины, в том числе и проходящие через бактериальные фильтры.

Некоторые L-формы (нестабильные) при удалении фактора, приведшего к изменениям бактерий, могут реверсировать, «возвращаясь» в исходную бактериальную клетку.

Между наружной и цитоплазматической мембранами находится периплазматическое пространство, или периплазма, содержащая ферменты (протеазы, липазы, фосфатазы, нуклеазы, бета-лактомазы) и компоненты транспортных систем.

Цитоплазматическая мембрана

Цитоплазматическая мембрана при электронной микроскопии ультратонких срезов представляет собой трехслойную мембрану (2 темных слоя толщиной по 2,5 нм разделены светлым - промежуточным). По структуре она похожа на плазмалемму клеток животных и состоит из двойного слоя фосфолипидов с внедренными поверхностными, а также интегральными белками, как бы пронизывающими насквозь структуру мембраны. При избыточном росте (по сравнению с ростом клеточной стенки) цитоплазматическая мембрана образует инвагинаты — впячивания в виде сложно закрученных мембранных структур, называемые мезосомами. Менее сложно закрученные структуры называются внутрицитоплазматическими мембранами.

Цитоплазма состоит из растворимых белков, рибонуклеиновых кислот, включений и многочисленных мелких гранул — рибосом, ответственных за синтез (трансляцию) белков. Рибосомы бактерий имеют размер около 20 нм и коэффициент седиментации 70S, в отличие от 80S-рибосом, характерных для эукариотических клеток. Рибосомные РНК (рРНК) - консервативные элементы бактерий («молекулярные часы» эволюции). 16S рРНК входит в состав малой субъединицы рибосом, а 23S рРНК - в состав большой субъединицы рибосом. Изучение 16S рРНК является основой геносистематики, позволяя оценить степень родства организмов.

В цитоплазме имеются различные включения в виде гранул гликогена, полисахаридов, бета-оксимасляной кислоты и полифосфатов (волютин). Они являются запасными веществами для питания и энергетических потребностей бактерий. Волютин обладает сродством к основным красителям и легко выявляется с помощью специальных методов окраски (например, по Нейссеру) в виде метакроматических гранул. Характерное расположение гранул волютина выявляется у дифтерийной палочки в виде интенсивно прокрашивающихся полюсов клетки.

Нуклеоид — эквивалент ядра у бактерий. Он расположен в центральной зоне бактерий в виде двунитевой ДНК, замкнутой в кольцо и плотно уложенной наподобие клубка. Ядро бактерий, в отличие от эукариот, не имеет ядерной оболочки, ядрышка и основных белков (гистонов). Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома, представленная замкнутой в кольцо молекулой ДНК. Кроме нуклеоида, представленного одной хромосомой, в бактериальной клетке имеются внехромосомные факторы наследственности - плазмиды, представляющие собой ковалентно замкнутые кольца ДНК.

Капсула - слизистая структура толщиной более 0,2мкм, прочно связанная с клеточной стенкой бактерий и имеющая четко очерченные внешние границы. Капсула различима в мазках-отпечатках из патологического материала. В чистых культурах бактерий капсула образуется реже. Она выявляется при специальных методах окраски мазка (например, по Бурри-Гинсу), создающих негативное контрастирование веществ капсулы: тушь создает темный фон вокруг капсулы. Капсула состоит из полисахаридов (экзопалисахаридов), иногда из полипептидов, например, у сибиреязвенной бациллы она состоит из полимеров D-глутаминовой кислоты. Капсула гидрофильна, препятствует фагоцитозу бактерий. Капсула антигенна: антитела против капсулы вызывают ее увеличение (реакция набухания капсулы).

Многие бактерии образуют микрокапсулу - слизистое образование толщиной менее 0,2 мкм, выявляемое лишь при электронной микроскопии. От капсулы следует отличать слизь - мукоидные экзополисахариды, не имеющие четких границ. Слизь растворима в воде.

Бактериальные экзополисахариды участвуют в адгезии (прилипанию к субстратам), их еще называют гликокаликсом. Кроме синтеза экзополисахаридов бактериями, существует и другой механизм их образования: путем действия внеклеточных ферментов бактерий на дисахариды. В результате этого образуются декстраны и леваны.

Жгутики бактерий определяют подвижность бактериальной клетки. Жгутики представляют собой тонкие нити, берущие начало от цитоплазматической мембраны, имеют большую длину, чем сама клетка. Толщина жгутиков 12-20 нм, длина 3-15 мкм. Они состоят из 3 частей: спиралевидной нити, крюка и базального тельца, содержащего стержень со специальными дисками (1 пара дисков - у грамположительных и 2 пары дисков - у грамотрицательных бактерий). Дисками жгутики прикреплены к цитоплазматической мембране и клеточной стенке. При этом создается эффект электромотора со стержнем-мотором, вращающим жгутик. Жгутики состоят из белка - флагеллина (от *flagellum* - жгутик); является Н-антигеном. Субъединицы флагеллина закручены в виде спирали.

Число жгутиков у бактерий различных видов варьирует от одного (монотрих) у холерного вибриона до десятка и сотен жгутиков, отходящих по периметру бактерии (перитрих) у кишечной палочки, протей и др. Лофотрихи имеют пучок жгутиков на одном из концов клетки. Амфитрихи имеют по одному жгутику или пучку жгутиков на противоположных концах клетки.

Пили (фимбрии, ворсинки) - нитевидные образования, более тонкие и короткие (3-10 нм x 0,3-10 мкм), чем жгутики. Пили отходят от поверхности клетки и состоят из белка пилина, обладающего антигенной активностью. Различают пили, ответственные за адгезию, то есть за прикрепление бактерий к поражаемой клетке, а также пили, ответственные за питание, водносолевой обмен и половые (F-пили), или конъюгационные пили. Пили многочисленны - несколько сотен на клетку. Однако, половых пилей обычно бывает 1-3 на клетку: они образуются так называемыми "мужскими" клетками-донорами, содержащими трансмиссивные плазмиды (F-, R-, Col-плазмиды). Отличительной особенностью половых пилей является взаимодействие с особыми "мужскими" сферическими бактериофагами, которые интенсивно адсорбируются на половых пиях.

Споры - своеобразная форма покоящихся фирмикутных бактерий, т.е. бактерий с грамположительным типом строения клеточной стенки. Споры образуются при неблагоприятных условиях существования бактерий (высушивание, дефицит питательных веществ и др.). Внутри бактериальной клетки образуется одна спора (эндоспора). Образование спор способствует сохранению вида и не является способом размножения, как у грибов. Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* имеют споры, не превышающие диаметр клетки. Бактерии, у которых размер споры превышает диаметр клетки, называются клостридиями, например, бактерии рода *Clostridium* (лат. *Clostridium* - веретено). Споры кислотоустойчивы, поэтому окрашиваются по методу Ауески или по методу Циля-Нильсена в красный, а вегетативная клетка в синий цвет.

Форма спор может быть овальной, шаровидной; расположение в клетке - терминальное, т.е. на конце палочки (у возбудителя столбняка), субтерминальное - ближе к концу палочки (у возбудителей ботулизма, газовой гангрены) и центральное (у сибиреязвенной бациллы). Спора долго сохраняется из-за наличия многослойной оболочки, дипиколината кальция, низкого содержания воды и вялых процессов метаболизма. В

благоприятных условиях споры прорастают, проходя три последовательные стадии: активация, инициация, прорастание.

Основные структурные элементы бактериальной клетки показаны на рисунке 1., строение клеточной стенки – на рисунке 2, строение жгутиков и типы жгутикования – на рисунке 3.

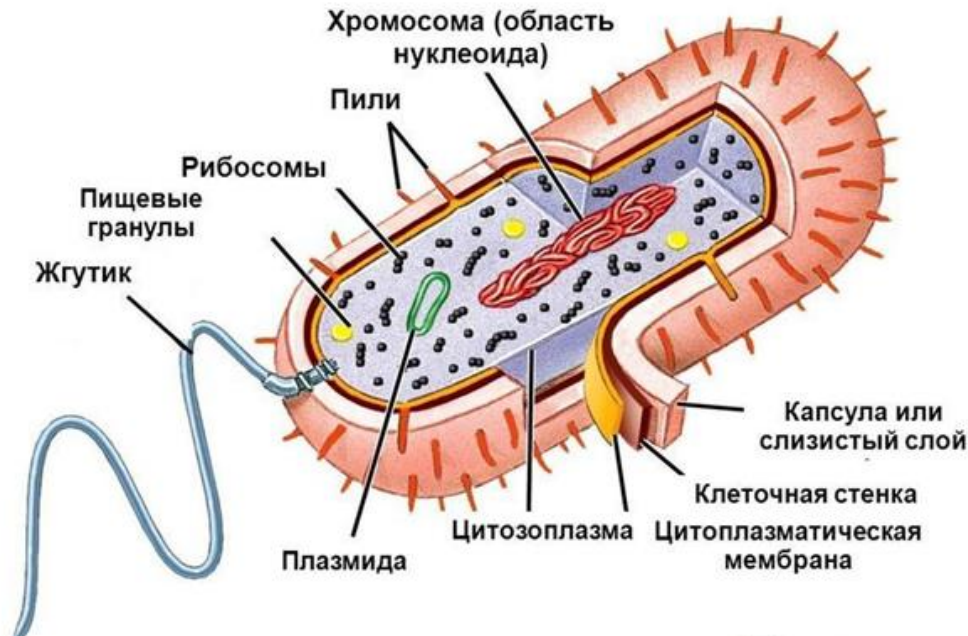


Рисунок 1 – Структура бактериальной клетки

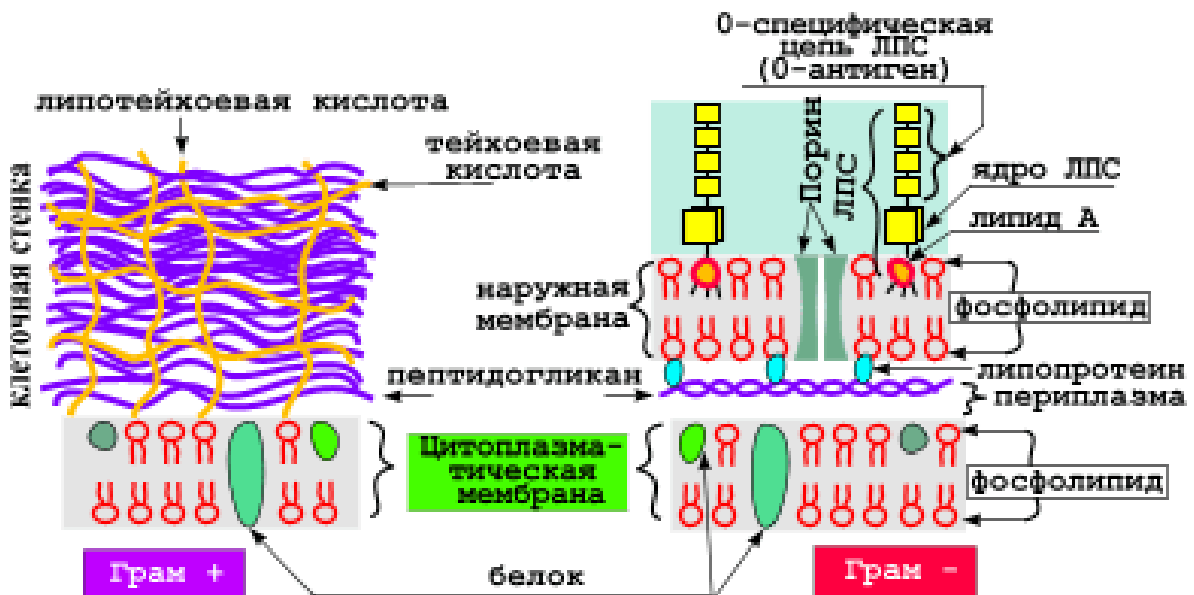


Рисунок 1 – Структура клеточной стенки бактериальной клетки

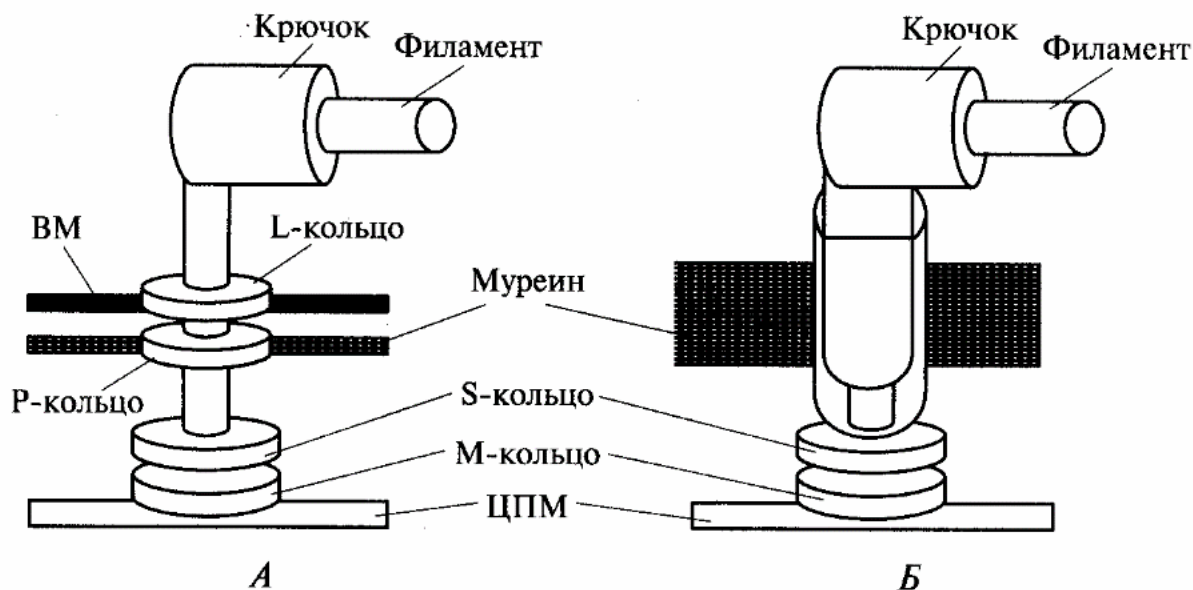


Рис. 40. Строение жгутика грамтрицательных (А) и грамположительных (Б) бактерий

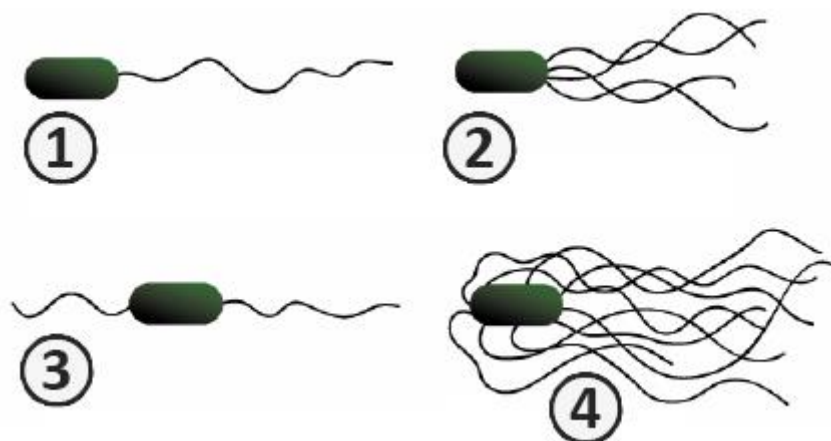


Рисунок 3 – Строение жгутиков бактериальной клетки (А и Б) и типы жгутикования

Порядок выполнения работы:

1. Изучить общие и специфические структурные элементы бактериальных клеток по материалам методички, атласам и рекомендуемым источникам.
2. Зарисовать схему строения бактериальной клетки определенного типа по заданию преподавателя. Подписать названия структур и их функции.

Содержание отчета: 1. Подробная схема строения бактерии определенного типа с подписью всех структурных элементов и их функций.

Контрольные вопросы

1. Общие структурные элементы бактериальных клеток
2. Специфические структурные элементы бактериальных клеток
3. Строение клеточной стенки и жгутиков грам+ и грам- бактерий.

Практическое занятие 14, 15**Классификация бактерий. Определители бактерий Берджи**

Цель работы: изучить современные классификации бактерий.

Теоретические положения

В современной систематике бактерий сложилась ситуация, характерная и для классификации других организмов: достигнуты успехи в создании филогенетической системы классификации, отражающей основные направления эволюционного развития и родство представителей определенных таксонов, однако сохраняют свое значение искусственные классификации, более удобные для идентификации микроорганизмов.

Традиционно таксономисты использовали морфологию, биохимию, физиологию, культуральные признаки, серологию, экологический и фенотипические методы для классификации бактерий. Сравнение генома состоит из сравнения белков, нуклеиновокислотного основного состава, гибридизации нуклеиновых кислот, а также их секвенирования и т. д.

Бактерий можно классифицировать на основе строения клетки, метаболизма, а также различий в химическом составе клеток (наличия или отсутствия некоторых жирных кислот, пигментов, антигенов, хинонов). В то время как перечисленные характеристики подходят для выделения штаммов, непонятно, можно ли их использовать для разделения видов бактерий. Дело в том, что у большинства бактерий нет отличительных структур, а из-за широко распространенного горизонтального переноса генов родственные виды могут сильно отличаться по морфологии и метаболизму. В связи с этим в настоящее время современная классификация базируется на молекулярной филогенетике. К числу её методов относят определение GC-состава генома, гибридизация геномов, а также секвенирование генов, которые не подверглись интенсивному горизонтальному переносу, такие как гены рРНК. Релевантная классификация бактерий публикуется «Международным журналом систематической бактериологии» (англ. *International Journal of Systematic Bacteriology*)[138] и руководством по систематической бактериологии Берджи (англ. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*). Международный комитет систематики прокариот[en] (англ. *International Committee on Systematics of Prokaryotes*) регулирует международные правила именования таксонов бактерий и определение их рангов согласно правилам Международного кодекса номенклатуры прокариот[en] (англ. *International Code of Nomenclature of Prokaryotes*).

Термин «бактерии» традиционно применяли по отношению к микроскопическим одноклеточным прокариотам. Однако данные молекулярной филогенетики свидетельствуют о том, что в действительности прокариоты подразделяются на два независимых домена, которые первоначально получили названия эубактерии (лат. *Eubacteria*) и архебактерии (лат. *Archaeobacteria*), но в настоящее время называются бактерии и археи. Эти два домена, наряду с доменом эукариоты, составляют основу трёхдоменной системы, которая является наиболее популярной системой классификации живых организмов. Археи и эукариоты состоят в более близком родстве, чем каждый из этих доменов к бактериям. Впрочем, высказывается мнение, что археи и эукариоты произошли от грамположительных бактерий. Поскольку количество отсекументированных последовательностей бактериальных геномов очень быстро растёт, классификация бактерий постоянно меняется.

Определитель бактерий Берджи является справочным материалом для работников практических лабораторий, используемым для идентификации бактерий по характерным

для них фенотипическим признакам (окраска по Граму, форма и размер клетки, химический состав клеточной стенки, подвижность, наличие капсулы, спор, тип дыхания, биохимическая активность и др.), что позволяет сравнительно быстро определить вид выделенной бактериологом из исследуемого материала культуры бактерий. Создание «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» отражает первое направление в систематизации микроорганизмов – их каталогизацию на основе ограниченного числа признаков. Определитель делит царство прокариот на четыре отдела и 35 групп:

1. Gracilicutes – тонкостенные, грамотрицательные (1–16 группы);
2. Firmicutes – толстостенные, грамположительные (бактерии – 17–21 группы и актиномицеты – группы 22–29);
3. Tenericutes – лишены клеточной стенки (30-ая группа);
4. Mendosicutes – архебактерии – стенки лишены пептидогликана, имеются особенности строения рибосом, мембраны и РНК – 31–35 группы.

С 1980 года началась переработка справочника, был значительно увеличен объём сведений, добавлены разделы об отношениях с другими организмами и прочая расширенная информация. Издание стало четырёхтомным, первый том выпущен в 1984 году. Том 1 включал информацию обо всех грамотрицательных бактериях, имеющих «медицинское и промышленное значение». Том 2 содержал сведения обо всех типах грамположительных бактерий. Том 3 содержал информацию об остальных, не описанных в первом томе, грамотрицательных бактериях и археях. Том 4 был посвящён способным к филаментации актиномицетам и другим похожим бактериям.

Последние тома принципиально отличаются от первых, так как опираются при классификации высших таксонов не на фенотипические признаки, а исключительно на полигению 16S, как в случае с классами протеобактерий.

Последнее издание справочника состоит из 5 томов:

Том I (2001): «The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria»

Том II (2005): «The Proteobacteria» — в трёх книгах:

ПА: «Введение»

ПВ: «The Gammaproteobacteria»

ПС: Другие классы Proteobacteria

Том III (2009): «The Firmicutes»

Том IV (2010): «The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae (англ.)рус., Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes»

Том V (2011): «The Actinobacteria».

Порядок выполнения работы:

1. Изучить современные классификации бактерий по материалам методички и рекомендуемым источникам.
2. Ознакомиться с определителем бактерий Берджи. Зарисовать схему классификации бактерий по Берджи.
3. Описать свойства бактерий определенной группы по заданию преподавателя.

Содержание отчета: схема классификации бактерий по Берджи, описание свойств бактерий определенной группы.

Контрольные вопросы

1. Признаки классификации бактерий.
2. Домены, к которым относятся бактерии.
3. Краткая характеристика фирмикутов, грациликутов, мендозикотов и тенерикутов.

Практическое занятие 16 **Классификация грибов**

Цель работы: изучить классификацию и характеристику отдельных групп грибов.

Теоретические положения

Классификация грибов, как и классификация бактерий, предназначена в основном для практического применения, но она также имеет некоторое отношение к филогенетической систематике. Номенклатура биномиальная, с общим и специфическим названием (например: *Aspergillus niger*). Все виды собраны в рода, рода в семейства семейства в отряды и отряды в классы.

В царство *Mycota* входят слизевики, или миксомицеты (отдел *Mухомycota*), и собственно грибы, или истинные грибы (отдел *Еumycota*).

Миксомицеты - отдел *Мухомycota*. Это группа своеобразных организмов, напоминающих по некоторым свойствам грибы, но в определенные периоды цикла развития сходных с амебами. Встречаются миксомицеты в виде слизистой массы, передвигаются, подобно амебам, выпуская псевдоподии. Тело этих микроорганизмов не разделено на клетки, в нем много ядер. Миксомицеты могут размножаться простым делением, но на определенной стадии развития две слизистые массы соединяются, образуя плодовое тело, в котором возникают споры. Последние, попадая в благоприятную среду, прорастают, затем начинают делиться, образуя амебоидные клетки. Некоторые из таких клеток — гамет сливаются друг с другом с образованием зиготы, которая делится и разрастается до многоядерной слизистой массы.

Истинные грибы - отдел *Еumycota*. Эту группу делят на ряд классов, краткая характеристика которых приведена ниже.

Класс *Chytridiomycetes* характеризуется полным отсутствием мицелия или ценоцитным (неклеточным) мицелием. Представители данного отдела размножаются бесполым (зооспорами) или половым путем. Зооспоры и гаметы (планогаметы) имеют один задний жгутик, построенный по типу кнута. Многие хитридиомицеты — типичные водные

организмы, однако есть среди них и обитатели почвы, паразиты растений, а также виды, живущие на отмерших растительных остатках.

Класс *Zygomycetes* - группа организмов, полностью утративших подвижные стадии развития. У его представителей наиболее часто отмечается половое размножение. Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиеспорами, образующимися внутри спорангиев.

К описываемому классу в числе прочих относят представителей мукоровых грибов, широко распространенных в почвах. Мукоровые имеют хорошо развитый разветвленный одноклеточный мицелий, над которым возвышаются плодоносящие гифы — спорангиеносцы. Размножение бесполом путем происходит при помощи неподвижных спорангиеспор, образующихся внутри спорангиев. Среди часто встречающихся в почве мукоровых грибов можно отметить роды *Mucor*, *Thamnidium*, *Rhizopus* и др.

Класс *Ascomycetes* представляет самую обширную группу грибов с разветвленным многоклеточным мицелием. Размножение у аскомицетов происходит обычно при помощи конидий. Они размножаются и половым путем — аскоспорами, которые образуются после слияния ядер половых клеток — гамет в сумке — аске. В аске могут развиваться две, четыре, шесть или восемь аскоспор. Аски располагаются в образованиях различной формы — в аскокарпиях, или клейстотеках, — вместилищах без отверстий, перитециях — вместилищах с отверстием или апотециях, имеющих форму чаши или куба.

К представителям класса *Ascomycetes*, часто встречающимся в почве, относят виды родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Chaetomium*. Этим грибам свойственно размножение при помощи конидий, но иногда у них образуются сумки. Один из широко известных представителей отдела — спорынья.

Класс *Basidiomycetes* - мицелий этих грибов состоит из многоклеточных гиф. Ядро базидиомицетов дифференцированное. Половое размножение осуществляется базидиями — образованиями, сходными по функциям с сумками аскомицетов. Каждая базидия образуется после слияния ядер — гамет и представляет собой цилиндрическую клетку, на конце которой формируются четыре базидиоспоры. Последние отделяются и, попадая в благоприятные условия, развиваются в новый мицелий.

К базидиомицетам относят многих вредителей сельскохозяйственных растений, например возбудителей ржавчины и головни, вредителя древесины — домового гриба *Serpula lacrymans*, множество высших, в том числе съедобных, грибов, а также разнообразных сапротрофов, активно участвующих в разложении органических остатков.

Класс *Deuteromycetes* - сборная группа, включающая так называемые несовершенные грибы. Их тело состоит из расчлененных прозрачных или окрашенных многоклеточных гиф. Размножаются исключительно бесполым путем, при котором образование конидий происходит на изолированных или расположенных группами конидиеносцах или в специальных образованиях, называемых пикнидами.

К дейтеромицетам относят грибы порядка *Sphaeropsidales*, *Melanconiales* и *Hyphomycetales*, или *Moniliales*, представители которых широко распространены в почве.

Грибы порядка *Sphaeropsidales* характеризуются конидиями, которые образуются в пикнидах, остающихся закрытыми или открывающихся наружу порами или трещинами. К данному классу относят среди других и род *Phoma*, виды которого образуют микоризу с корнями некоторых растений. Порядок *Melanconiales* включает организмы, не имеющие пикнид. Конидии меланкониевых грибов расположены на конидиеносцах, соединенных в особые образования — ацервулы. Грибы порядка *Hyphomycetales* имеют расчлененные разветвленные прозрачные или темноокрашенные гифы. Разнообразные по форме конидии грибов этой группы находятся на конидиеносцах, расположенных по одному или группами. В почве обитают виды многих родов, относящихся к данному классу: *Cephalosporium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium* и др.

Несовершенные грибы подразделяются на семейства в соответствии с типом мицелия и формой конидиеносцев. К несовершенным грибам относят также группу грибов с неустановленным способом полового и бесполого размножения — *Mycelia sterilia*, или грибы со стерильным мицелием, сюда входит ряд грибов (*Sclerotium*, *Rhizoctonia* и др.), имеющих значение в почвенных процессах.

Дрожжи и дрожжеподобные грибы относятся к классам *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes*. Так, в класс *Ascomycetes* входит порядок *Endomycetales* — дрожжеподобные сумчатые грибы, образующие эндоспоры. К упомянутому классу относят семейство *Saccharomycetaceae*, представители которого почти лишены мицелия. Это одноклеточные организмы овальной формы, размножающиеся почкованием или делением. В данное семейство входит хорошо изученный род *Saccharomyces*, многие виды которого, например *Saccharomyces cerevisiae* имеют большое значение в пищевой промышленности. Эти дрожжи размножаются почкованием.

Виды рода *Schizosaccharomyces*, также относящегося к сахаромицетам, размножаются делением. Среди этих микроорганизмов есть возбудители спиртового брожения и дрожжи, вызывающие порчу вин, к ним относят и многие другие роды дрожжей, например *Nadsonia*, виды которого обуславливают порчу пищевых продуктов.

Класс Basidiomycetes представлен дрожжами, у которых образуются половые структуры базидиального типа — базидиоспоры. Большая часть этих дрожжей родственна головневым грибам. Среди них красные дрожжи рода *Rhodospordium* и розовые рода *Sporobolomyces*, обитающие на поверхности листьев растений, в бесполой стадии размножающиеся баллистоспорами.

К классу Deuteromycetes относят дрожжеподобные организмы, не имеющие эндоспор. Они размножаются почкованием. Некоторые виды рода *Torula* вызывают спиртовое брожение. У дрожжей рода *Rhodotorula* синтезируется розовый пигмент, они вызывают порчу пищевых продуктов. Существуют и болезнетворные дрожжи, например некоторые виды *Candida*.

Порядок выполнения работы: 1. Изучить принципы классификации грибов по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе.

3. Заполнить таблицу «Классификация грибов» по приведенной ниже форме.

Таблица «Классификация грибов»

Отдел	Класс	Отличительные свойства	Примеры, значение, применение биотехнологии

Содержание отчета: заполненная таблица «Классификация грибов»

Контрольные вопросы

1. Основные признаки классификации грибов.
2. Характеристика класса Chytridiomycetes.
3. Характеристика класса Zygomycetes
4. Характеристика класса Ascomycetes
5. Характеристика класса Deuteromycetes

Практическое занятие 17

Строение и классификация вирусов

Цель работы: изучить строение и современные классификации вирусов.

Теоретические положения

Открытие вирусов Д.И.Ивановским в 1892г. положило начало развитию науки вирусологии. Более быстрому ее развитию способствовали: изобретение электронного микроскопа, разработка метода культивирования микроорганизмов в культурах клеток.

Слово “вирус” в переводе с латинского- яд (животного происхождения). Этот термин применяют для обозначения уникальных представителей живой природы, не имеющих клеточного (эукариотического или прокариотического) строения и обладающих облигатным внутриклеточным паразитизмом, т.е. которые не могут жить без клетки.

Основные свойства вирусов (и плазмид), по которым они отличаются от остального живого мира.

1.Ультрамикроскопические размеры (измеряются в нанометрах). Крупные вирусы (вирус оспы) могут достигать размеров 300 нм, мелкие- от 20 до 40 нм. $1\text{мм}=1000\text{мкм}$, $1\text{мкм}=1000\text{нм}$.

2.Вирусы содержат нуклеиновую кислоту только одного типа- или ДНК (ДНК-вирусы) или РНК (РНК- вирусы). У всех остальных организмов геном представлен ДНК, в них содержится как ДНК, так и РНК.

3.Вирусы не способны к росту и бинарному делению.

4.Вирусы размножаются путем воспроизводства себя в инфицированной клетке хозяина за счет собственной геномной нуклеиновой кислоты.

5.У вирусов нет собственных систем мобилизации энергии и белок-синтезирующих систем, в связи с чем вирусы являются абсолютными внутриклеточными паразитами.

6.Средой обитания вирусов являются живые клетки- бактерии (это вирусы бактерий или бактериофаги), клетки растений, животных и человека.

Все вирусы существуют в двух качественно разных формах: внеклеточной- вирион и внутриклеточной- вирус. Таксономия этих представителей микромира основана на характеристике вирионов- конечной фазы развития вирусов.

Строение (морфология) вирусов.

1.Геном вирусов образуют нуклеиновые кислоты, представленные одноцепочечными молекулами РНК (у большинства РНК- вирусов) или двухцепочечными молекулами ДНК (у большинства ДНК- вирусов).

2.Капсид - белковая оболочка, в которую упакована геномная нуклеиновая кислота. Капсид состоит из идентичных белковых субъединиц- капсомеров. Существуют два способа упаковки капсомеров в капсид- спиральный (спиральные вирусы) и кубический (сферические вирусы).

При спиральной симметрии белковые субъединицы располагаются по спирали, а между ними, также по спирали, уложена геномная нуклеиновая кислота (нитевидные вирусы). При кубическом типе симметрии вирионы могут быть в виде многогранников, чаще всего- двадцатигранники - икосаэдры.

3. Просто устроенные вирусы имеют только нуклеокапсид, т.е. комплекс генома с капсидом.

4. У других вирусов поверх капсида есть дополнительная мембраноподобная оболочка, приобретаемая вирусом в момент выхода из клетки хозяина- суперкапсид.

Классификация ICTV

Международный комитет по таксономии вирусов разработал современную классификацию вирусов и выделил основные свойства вирусов, имеющие больший вес для классификации с сохранением единообразия семейств. Была разработана объединённая таксономия (универсальная система для классификации вирусов). Допустимыми таксономическими единицами являются следующие ранги, которым соответствуют определённые суффиксы в научных названиях таксонов:

- Реалм (-*viria*) и субреалм (-*vira*)
- Царство (-*virae*) и подцарство (-*virites*)
- Тип (-*viricota*) и подтип (-*viricotina*)
- Класс (-*viricetes*) и подкласс (-*viricetidae*)
- Порядок (-*virales*) и подпорядок (-*virineae*)
- Семейство (-*viridae*) и подсемейство (-*virinae*)
- Род (-*virus*) и подрод (-*virus*)
- Вид (-*virus*).

По состоянию на апрель 2021 года выделяют 6 реалмов, 10 царств, 17 типов, 2 подтипа, 39 классов, 59 порядков, 8 подпорядков, 189 семейств, 136 подсемейств, 2224 рода, 70 подродов и 9110 видов вирусов, вироидов и сателлитов. Ещё свыше 3000 вирусов не классифицировано.

Лауреат Нобелевской премии биолог Дейвид Балтимор разработал классификацию вирусов, названную его именем. Классификация ICTV в настоящее время объединяется с классификацией по Балтимору, составляя современную систему классификации вирусов.

Классификация вирусов по Балтимору основывается на механизме образования мРНК. Вирусы синтезируют мРНК из собственного генома для образования белков и репликации своей нуклеиновой кислоты, однако каждое семейство вирусов имеет

собственный механизм этого процесса. Вирусные геномы могут быть одноцепочечные (оц) или двухцепочечные (дц), ДНК- или РНК-содержащие, могут использовать или не использовать обратную транскриптазу. Кроме того, одноцепочечные РНК-вирусы в составе своего генома могут иметь положительную (+) или отрицательную (-) цепь РНК.

Эта система включает в себя семь основных групп:

(I) Вирусы, содержащие двуцепочечную ДНК и не имеющие РНК-стадии (например, герпесвирусы, поксвирусы, паповавирусы, мимивирус).

(II) Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу ДНК (например, парвовирусы). В этом случае ДНК всегда положительной полярности.

(III) Вирусы, содержащие двуцепочечную РНК (например, ротавирусы).

(IV) Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу РНК положительной полярности (например, пикорнавирусы, флавивирусы).

(V) Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу РНК негативной или двойной полярности (например, ортомиксовирусы, филовirus).

(VI) Вирусы, содержащие одноцепочечную молекулу РНК положительной полярности и имеющие в своем жизненном цикле стадию синтеза ДНК на матрице РНК, ретровирусы (например, ВИЧ).

(VII) Вирусы, содержащие частично двуцепочечную, частично одноцепочечную ДНК и имеющие в своём жизненном цикле стадию синтеза ДНК на матрице РНК, ретроидные вирусы (например, вирус гепатита В).

Дальнейшее деление производится на основе таких признаков, как структура генома (наличие сегментов, кольцевая или линейная молекула), генетическое сходство с другими вирусами, наличие липидной оболочки, таксономическая принадлежность организма-хозяина и других.

Порядок выполнения работы: 1. Изучить свойства и строение вирусов по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе, кратко описать их в тетради.

3. Изучить современные классификации вирусов по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе, разработать схемы классификации вирусов.

Содержание отчета: описание свойств и строения вирусов, схемы классификаций вирусов.

Контрольные вопросы

1. Основные свойства вирусов
2. Основные элементы строения вирусов.
3. Основные принципы классификации вирусов.

Практическое занятие 18

Экология микроорганизмов

Цель работы: изучить методы и средства стерилизации, устройство автоклава; освоить методики подготовки посуды к стерилизации.

Теоретические положения

Микроорганизмы – это мельчайшие одноклеточные существа, видимые только в микроскоп, характеризующиеся огромным разнообразием видов, способные существовать в различных условиях. Существуют различные среды, в которых можно обнаружить определенные микроорганизмы. Как и другие живые организмы, они живут в составе экосистем, и мы рассмотрим три основных типа экосистем – наземные, пресноводные и морские

Микроорганизмы могут получать и использовать энергию из различных источников. Все организмы могут быть отнесены к одной из трех категорий по отношению к их роли в глобальном потоке энергии:

(Первичные) продуценты: автотрофы, получающие энергию от солнца или химических источников (например, зеленые растения, фотосинтетические бактерии, хемолитотрофные бактерии). Они используют энергию для синтеза органического материала из углекислого газа и воды.

Потребители: гетеротрофы, которые получают энергию за счет потребления других организмов (производителей или других потребителей). Они могут служить связующим звеном между первичными продуцентами и редуцентами.

Редуценты: организмы, которые расщепляют остатки и отходы производителей и потребителей, получая энергию и высвобождая питательные вещества, включая CO₂, которые могут быть повторно использованы производителями.

Микроорганизмы отвечают за большинство этих реакций, окисляя и восстанавливая элементы в соответствии с их метаболическими потребностями. Таким образом, продолжение жизни на Земле зависит от круговорота ограниченных ресурсов.

1. Углеродный цикл

Углеродный цикл-это ряд процессов, посредством которых углерод из окружающей среды включается в живые организмы и возвращается в атмосферу в виде углекислого газа.

В цикле участвуют как аэробные, так и анаэробные реакции. Атмосферный CO₂ фиксируется в органические соединения растениями вместе с фототрофными и хемоавтотрофными микроорганизмами. Синтезированные органические соединения подвергаются клеточному дыханию, а CO₂ возвращается в атмосферу. Углекислый газ

также образуется при разложении мертвого растительного, животного и микробного материала гетеротрофными бактериями и грибами. Метаногенные бактерии производят метан из органического углерода или CO_2 . Это окисляется метанотрофными бактериями; углерод может быть включен в органический материал или потерян в виде CO_2 .

2. Азотный цикл

Азот необходим всем живым существам как компонент белков и нуклеиновых кислот. Хотя элементарный азот составляет три четверти земной атмосферы, лишь немногие формы жизни способны использовать его для метаболических целей. Они называются азотфиксирующими бактериями и включают азот в аммиачный комплекс фермента нитрогеназы, ответственный за реакцию, очень чувствительную к кислороду. Многие азотфиксирующие бактерии являются анаэробами; те, которые не являются таковыми, изобрели способы поддержания внутренней аноксии клетки. Азотобактерии используют кислород с высокой скоростью, так что он никогда не накапливается в клетке, инактивируя нитрогеназу. Многие цианобактерии (сине-зеленые) осуществляют фиксацию азота в толстостенных гетероцистах, которые помогают поддерживать аноксические условия.

Некоторые азотфиксирующие бактерии, такие как Ризобий, заражают корни бобовых растений, таких как горох, бобы и Клевер, где они образуют клубеньки и образуют взаимовыгодную ассоциацию. Аммиак, полученный в результате фиксации азота, усваивается в виде аминокислот, которые затем могут образовывать белки и поступать в пути синтеза нуклеотидов. Органический азот в виде мертвого растительного и животного материала преимущественно экскременты вновь проникают в окружающую среду, где он подвергается минерализации со стороны ряда микроорганизмов, включая дезаминирование аминокислот до соответствующей им органической кислоты. Этот процесс минерализации может происходить аэробно или анаэробно, в широком диапазоне микроорганизмов.

Процесс нитрификации, при котором аммиак постепенно окисляется сначала до нитрита, а затем до нитрата, включает в себя две различные группы бактерий. Образовавшийся таким образом нитрат может постигнуть множество судеб. Он может действовать как акцептор электронов в анаэробном дыхании, восстанавливаясь до азота через ряд промежуточных соединений, включая нитрит. Этот процесс денитрификации происходит в анаэробных условиях, таких как заболоченные почвы. В качестве альтернативы он может быть снова восстановлен до аммиака, а затем преобразован в органический азот. Конечный путь азотного цикла осуществляется группами грамотрицательных бактерий, называемых Планктомицетами.

3. Цикл серы

Сера содержится в живых организмах в виде таких соединений, как аминокислоты, коферменты и витамины. Он может быть использован различными типами организмов в нескольких формах. В своей элементарной форме сера недоступна большинству организмов; однако некоторые бактерии, такие как ацидофильные облигатные автотрофы, способны окислять ее до сульфата, форма которого может быть использована гораздо более широким кругом организмов.

Измельченную серу часто добавляют в щелочные почвы, чтобы стимулировать реакцию и тем самым снизить pH.

Сульфатредуцирующие бактерии превращают сульфат в газообразный сероводород, используя в качестве донора электронов либо органическое соединение, либо газообразный водород. Эти бактерии являются облигатными анаэробами, и этот процесс называется диссимиляционным восстановлением сульфатов.

Растения также способны утилизировать сульфат, включая его в состав клеточных компонентов, таких как аминокислоты метионин и цистеин. Когда растения погибают, эти соединения разрушаются, опять же с выделением сероводорода. Зеленые и фиолетовые фотосинтетические бактерии и некоторые хемоавтотрофы используют сероводород в качестве донора электронов при восстановлении углекислого газа, производя элементарную серу и таким образом завершая цикл.

4. Фосфор

Фосфор существует в природе как фосфат. Это циклически происходит между растворимыми и нерастворимыми формами. Это превращение зависит от pH, и если фосфат присутствует только в нерастворимой форме, он будет действовать как ограничивающее питательное вещество. Это объясняет внезапный всплеск роста растений, водорослей и цианобактерий, когда источник растворимого фосфата попадает в водоем. В отличие от рассмотренных выше элементов, фосфор практически не существует в газообразной форме, поэтому его основной "резервуар" находится в море, а не в атмосфере.

5. Микробиология почвы

Органическое содержание почвы происходит из остатков мертвых растений и животных. Они расщепляются в почве комбинацией беспозвоночных и микроорганизмов (бактерий и грибов), известных как редуценты. Их действие приводит к высвобождению веществ, которые могут быть использованы растениями и другими микроорганизмами. Большая часть органического материала легко разлагается, есть более устойчивая фракция, называемая гумусом, и содержит лигнин вместе с различными другими макромолекулами.

Содержание гумуса в почве является отражением того, насколько благоприятны условия для ее разложения. Неорганическая фракция почвы образуется в результате выветривания минералов. Микроорганизмы могут присутствовать в почвах в огромном количестве. Оно зависит от наличия подходящих питательных веществ. Большинство почвенных микроорганизмов являются аэробными гетеротрофами, участвующими в разложении органических субстратов. Таким образом, численность микроорганизмов значительно уменьшается по мере того, как мы углубляемся в почву, удаляясь от органического вещества и кислорода. Доля анаэробов увеличивается с глубиной, но если почва не мокрая, они вряд ли будут преобладать.

Факторы, влияющие на микробную популяцию, включают 1) Влажность почвы, 2) температуру, 3) pH

Влажность почвы: для вегетативного роста и размножения необходимо достаточное количество воды, так как избыток воды ограничивает газообмен и уменьшает поступление кислорода, создавая анаэробную среду, размножение микробов подавляется. Влага присутствует в виде пленки в порах почвы. Количество воды увеличивается с увеличением пористости почвы. На влажность почвы влияет орошение, осушение.

Температура: Температура управляет всеми биологическими процессами. Каждый микроорганизм имеет оптимальную температуру для роста. Большинство микроорганизмов являются мезофильными, которые могут расти в диапазоне 25-35°C. Некоторые виды лучше всего развиваются при температуре ниже 20°C, и их называют психрофилами. Термофильные микроорганизмы, которые легко растут при температуре от 45°C до 65°C.

pH: нейтральный pH благоприятен для многих типов микроорганизмов. Сильнокислые или щелочные условия, как правило, подавляют действие многих обычных микробов. Чем больше концентрация ионов водорода, тем меньше размер микробного сообщества. Почвенные грибы чувствительны к высокому pH.

6. Микробиология воды

Микробная популяция пресной воды сильно зависит от наличия или отсутствия кислорода и света. Наличие кислорода в озерах и прудах тесно связано с кислородным фотосинтезом и проницаемостью света. Фототрофы, такие как сине-зеленые водоросли, ограничены теми областями, куда способен проникать свет. Кислород отсутствует или очень ограничен в глубокой зоне, где встречаются анаэробные формы, такие как метаногенные бактерии.

Еще одним фактором, влияющим на микробные популяции, является органическое содержание воды; если оно высокое, то будет происходить рост редуцентов, которые будут

истощать кислород. Это в меньшей степени относится к рекам и ручьям, где физическое перемешивание воды обычно обеспечивает ее непрерывное насыщение кислородом.

Температура пресноводных экосистем колеблется между крайними значениями (0-90 ° C), и микроорганизмы могут быть найдены во всем этом диапазоне.

Глубина, на которую может проникать свет, различна, но ограничена первыми 100 метрами. Несмотря на отсутствие фотосинтеза, кислород все еще присутствует. Это связано с тем, что обычно низкие уровни минеральных питательных веществ в морской воде ограничивают количество первичной продукции, следовательно, и гетеротрофную активность. На экстремальных глубинах преобладают анаэробные условия.

Морские экосистемы демонстрируют меньшую изменчивость температуры и pH. Из-за высокой концентрации соли в морской воде бактерии, которые обычно встречаются в таких средах, отличаются от бактерий в пресной воде. Ультрамикробактерии были обнаружены в морских экосистемах при относительно высокой плотности; они составляют около одной десятой размера 'нормальных' бактерий. Анаэробные разлагающиеся бактерии населяют донную зону, осуществляя реакции, сходные с теми, которые происходят в пресноводных отложениях, в то время как глубинная зона в значительной степени свободна от микробной жизни.

Очистка сточных вод имеет основополагающее значение для любого развитого общества и значительно снижает частоту передаваемых через воду заболеваний, таких как холера. Очистка сточных вод обычно происходит поэтапно, первая из которых (первичная очистка) является чисто физической и включает удаление плавающих объектов с последующим осаждением-процессом, который удаляет до трети биохимической потребности в кислороде (БПК). Вторичная обработка включает микробное окисление, приводящее к существенному дальнейшему снижению БПК. Это может принимать одну из двух форм, обе из которых являются аэробными. В первом случае сточные воды медленно пропускают через слои камней или куски формованного пластика. При этом образуется биопленка, состоящая из бактерий, простейших, грибов и водорослей, и в результате очищенная вода имеет свой БПК, уменьшенный примерно на 80-85%. Часть органического содержимого воды не сразу окисляется, но включается в состав хлопьев. После нескольких часов пребывания в резервуаре осадку дают отстояться, и очищенная вода выходит из системы. Перед сбросом в водоток его обрабатывают хлором для удаления любых патогенных микроорганизмов, которые могут остаться.

Процессы очистки приводят к некоторому избытку осадка, который подвергается анаэробному сбраживанию, что приводит к образованию метана и CO₂. Метан может быть

использован в качестве топлива для питания станции, а любой оставшийся осадок обезвоживается и используется в качестве формирования почвы. Однако следует позаботиться о том, чтобы осадок не содержал большого количества тяжелых металлов.

Биологическая очистка относится к использованию естественных или преднамеренно введенных микроорганизмов для поглощения и разложения загрязнителей окружающей среды с целью очистки загрязненного участка. Это процесс, в котором используются в основном микроорганизмы, но также растения или микробные или растительные ферменты для детоксикации загрязнителей в почве и других средах.

Порядок выполнения работы:

1. Изучить принципы участия микроорганизмов в круговоротах основных элементов по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе, разработать схемы круговоротов углерода и азота.
2. Изучить состав микрофлоры почвы по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе, разработать схему «Микрофлора почвы».
3. Изучить состав микрофлоры воды по материалам методических указаний и рекомендуемой литературе, разработать схему «Микрофлора воды».

Содержание отчета: схемы круговоротов углерода и азота, «Микрофлора почвы», «Микрофлора воды»

Контрольные вопросы

1. Участие микроорганизмов в круговоротах основных элементов.
2. Микрофлора почвы.
3. Микрофлора воды.

Рекомендуемая литература

1. Перечень основной литературы:
 1. Рябцева С.А. Общая биология и микробиология. Часть 1. Общая биология [Электронный ресурс] : учебное пособие / С.А. Рябцева. — Электрон.текстовые данные. — Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет, 2016. — 149 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/66069.html>
 2. Богомолова, А. Ю. Биология в современном мире [Электронный ресурс] : учебное пособие / А. Ю. Богомолова, О. В. Кабанова. — Электрон. текстовые данные. — Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. — 130 с. — 978-5-7410-1822-4. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/78766.html>
 3. Тюменцева, Е. Ю. Основы микробиологии : учебное пособие / Е. Ю. Тюменцева. — Омск : Омский государственный институт сервиса, Омский государственный технический университет, 2015. — 123 с. — ISBN 978-5-93252-357-5. — Текст : электронный // Электроннобиблиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. — URL: <http://www.iprbookshop.ru/32788.html>
 4. Красникова Л.В. Общая и пищевая микробиология. Часть I [Электронный ресурс] : учебное пособие / Л.В. Красникова, П.И. Гунькова. — Электрон.текстовые данные. — СПб. : Университет ИТМО, 2016. — 135 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/67411.html>
 2. Перечень дополнительной литературы:

1. Мышалова О.М. Биология [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Мышалова О.М.— Электрон. текстовые данные.— Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2014.— 107 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/61261.html>.— ЭБС «IPRbooks»

2. Тулякова О.В. Биология [Электронный ресурс]: учебник/ Тулякова О.В.— Электрон. текстовые данные.— Саратов: Вузовское образование, 2014.— 448 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/21902.html>.— ЭБС «IPRbooks»

3. Емцев, Всеволод Тихонович. Микробиология : учебник для бакалавров : [для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям и специальностям агрономического образования] / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. - 8-е изд., испр. и доп. - Москва : Юрайт, 2016. -446 с.

4. Гусев, Михаил Викторович. Микробиология : учебник для студ.вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева.- 9-е изд., стер. - Моск Академия, 2010. - 461, [1] с.

5. Нетрусов, Александр Иванович. Микробиология : Университетский курс : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. - 4-е изд., перераб. и доп. - Москва. : Академия, 2012. - 384 с.

8.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине (модулю)

Общая биология и микробиология : методические указания к лабораторным работа для студентов специальности «Биотехнология» / сост. С. А. Рябцева - 71 с.

Градова, Н. Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии / Н. Б. Градова, Е. С. Бабусенко, И. Б. Горнова. - [2-е изд., перераб. и доп.]. - М. : ДеЛи принт, 2004. - 144 с. - Библиогр.: с. 138. - ISBN 5-94343-060-1

3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://mediaterra.ru/project/biology> - интерактивный учебник по биологии. Темы по зоологии, ботанике, микробиологии, истории науки

<http://microbiology.ucoz.org/> - справочная информация по микробиологии

<http://www.biology.ru> - содержание учебного компакт-диска "Открытая биология", обзор сетевых ресурсов по биологии; отдельные интерактивные демонстрации моделей;

<http://www.e-cell.org/> - информация о разработках в области компьютерной биологии: моделирование процессов, происходящих в клетке и органеллах, изучение биохимических путей и биоритмов;

<http://www.informika.ru/text/database/biology/> - теоретические основы цитологии, генетики, экологии, теории эволюции

<http://www.microbiologyinpictures.com>- атлас по микробиологии

Рекомендуемые дополнительные электронные источники

<http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B8%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BA%D0%BE%D0%BF> – общая информация о микроскопии

<http://www.microscopes-review.ru/> - классификация микроскопов, фотографии увеличенных изображений

MicroWorld Resources and News (<http://www.mwrn.com>)- подробный путеводитель по Интернет-источникам в области световой и электронной микроскопии, есть алфавитный указатель

World Wide Web Virtual Library - Microscopy (<http://www.ou.edu/research/electron/www-vl/medical.shtml>)- свыше 850 ссылок на WWW-страницы по гистологии, электронной микроскопии, обработке цифрового изображения и другим вопросам, представляющим интерес для микроскопистов

Microscopes and Microscopy (<http://www.lars.bbsrc.ac.uk/micro/>) - микроскопические сайты по рубрикам: организации, географический и предметный указатель, FTP-сайты с микроскопическими файлами, ньюзгруппы, учебные курсы и др.

Microscopy and Imaging on the WWW (http://www.pharm.arizona.edu/centers/tox_center/swehsc/exp_path/m-i_onw3.html) – содержит информацию по различным аспектам световой и электронной микроскопии (словарь терминов, история микроскопии, вопросы обучения, список дискуссионных групп в Интернет, касающихся микроскопической техники, свободные публикации и т.д.)

Microscopy Vendors Database (<http://www.kaker.com/mvd/colv2.html>) -большая база данных по микроскопии с возможностью поиска по ключевым словам

Electron Microscopy Related Links (http://www.dac.neu.edu/biology/d.scheirer/EM_Links.html) – WWW-источники применения электронного микроскопа в биологии и медицине по разделам: микробиология и одноклеточные организмы, вирусы, биология животных, медицина, разное

Приложение 1

ВАЖНЕЙШИЕ ДАТЫ В РАЗВИТИИ БИОЛОГИИ	
1500 г.	Установлена невозможность выживания животных в атмосфере, в которой не происходит горение (Леонардо да Винчи)
1600 г.	Изготовлен первый микроскоп (Г. Галилей)
1628 г.	Открыто кровообращение (В. Гарвей)
1651 г.	Сформулировано положение «Все живое из яйца» (В. Гарвей)
1661 г.	Открыты капилляры (М. Мальпиги)
1665 г.	Обнаружена клеточная структура пробки (Р. Гук)
1668 г.	Экспериментально доказано развитие личинок мух из отложенных яиц (Ф. Реди)
1674 г.	Открыты бактерии и простейшие (А. Левенгук)
1677 г.	Впервые увиден сперматозоид человека (А. Левенгук)
1688 г.	Введено понятие о виде как систематической единице (Д. Рей)
1694 г.	Экспериментально доказано наличие пола у растений (Р. Камерариус)
1727 г.	Установлено воздушное питание растений (С. Гейлс)
1753 г.	Разработаны принципы систематики организмов и бинарная номенклатура (К. Линней)
1754 г.	Открыт углекислый газ (Дж. Блэк)
1766 г.	Открыт водород (Г. Кавендиш)
1772 г.	Открыто выделение кислорода растениями (Дж. Пристли)
1779 г.	Показана связь между светом и зеленой окраской растений (Ян Ингенхауз)
1809 г.	Привлечено внимание к влиянию среды на изменчивость организмов (Ж.-Б. Ламарк)
1814 г.	Установлена способность экстрактов ячменя превращать крахмал в сахар (Г. Кирхгоф)
1823 г.	Отмечены доминантность и рецессивность признаков садового гороха (Т.Э. Найт)
1831 г.	Открыто клеточное ядро (Р. Броун)
1839 г.	Сформулирована клеточная теория (Т. Шванн, М. Шлейден)
1839 г.	Сформулировано положение о «неживой» природе ферментов (Ю. Либих)
1845 г.	Впервые синтезировано органическое соединение (уксусная кислота) из неорганических предшественников
1858 г.	Сформулировано положение «Каждая клетка из клетки» (Р. Вирхов)
1859 г.	Опубликована книга Ч. Дарвина «Происхождение видов путем естественного отбора, или сохранение благоприятствующих пород в борьбе за жизнь»

- 1862 г. Опровергнута теория самопроизвольного зарождения (Л. Пастер)
- 1862 г. Показано фотосинтетическое происхождение крахмала (Ю. Сакс)
- 1862 г. Открыты явления торможения в ЦНС (М. Сеченов)
- 1866 г. Опубликованы законы наследственности (Г. Мендель)
- Доказано, что способность ферментировать сахар (превращать его в спирт)
- 1871 г. принадлежит не дрожжевым клеткам, а содержащимся в них ферментам (М.М. Манассеина)
- 1871 г. Открыты нуклеиновые кислоты (Ф. Мишер)
- 1875 г. Доказано, что процессы окисления происходят в тканях, а не в крови (Е. Пфлюгер)
- 1875 г. Дано первое описание хромосом (Э. Страсбургер)
- 1878 г. Предложен термин «энзим» для обозначения ферментов (Ф.В. Кюне)
- 1883 г. Сформулирована биологическая (фагоцитарная) теория иммунитета (И.И. Мечников)
- 1892 г. Открыты вирусы (Д.И. Ивановский)
- 1893 г. Открыты нитрифицирующие бактерии и объяснена их роль в круговороте азота (С.Н. Виноградский)
- Показано, что брожение может происходить вне живых клеток, т.е. начато исследование гликолиза (Г. и Э. Бухнер)
- 1897 г.
- 1898 г. Открыто двойное оплодотворение у цветковых растений (О. Г. Навашин)
- Вторичное открытие законов наследственности (К. Корренс, К. Чермак и Г. де Фриз)
- 1900 г.
- 1900 г. Открыты группы крови у человека (К. Ландштейнер)
- Сформулировано представление об условно-рефлекторной деятельности (И.П. Павлов)
- 1901 г.
- 1903 г. Привлечено внимание к роли зеленых растений в космическом круговороте энергии и веществ (К.А. Тимирязев)
- Начато использование дрозофилы в качестве экспериментальной генетической модели (Т. Морган)
- 1906 г.
- 1910 г. Доказано сцепление генов в хромосомах (Т. Морган)
- 1910 г. Доказано единство брожения и дыхания (СП. Костычев)
- 1910 г. Сформулирована теория филэмбриогенеза (А.Н. Северцов)
- 1920 г. Открыта нейросекретция (О. Леви)
- 1920 г. Сформулирован закон гомологических рядов наследственности (Н. И. Вавилов)
- 1921 г. Открыто влияние одной части зародыша на другую и выяснена роль этого явления в детерминации частей развивающегося зародыша (Г. Шпеман)
- 1922 г. Открыт лизоцин (А. Флеминг)
- 1923 г. Охарактеризован фотосинтез в качестве окислительно-восстановительной реакции (Т. Тунберг)
- 1924 г. Опубликована естественно-научная теория происхождения жизни на Земле (А.И. Опарин)
- 1926 г. Объяснена роль мутаций в естественном отборе (С.С. Четвериков)
- 1926 г. Опубликован труд В.И. Вернадского «Биосфера»
- 1931 г. Открыто дыхательное фосфорилирование на уровне клеток (В.А. Энгельгардт)
- 1932 г. Появление первого электронного микроскопа просвечивающего типа (М. Кноль, Э. Руска)
- 1933 г. Выделены и охарактеризованы ауксины растений (Ф. Кегль)
- 1934 г. Обоснована центровая теория гена (Н.П. Дубинин, А.С. Сребровский и др.)
- 1937 г. Открыт цикл трикарбоновых кислот (Г.А. Кребс)
- 1939 г. Сформулирована теория природной очаговости трансмиссивных болезней (Е.Н. Павловский)

1940 г.	Получен пенициллин (Г. Флори и Э. Чейн)
1940 г.	Сформулирована теория биогеоценозов (В.Н. Сукачев)
1941 г.	Экспериментально доказано, что синтез бактериальными клетками факторов роста контролируется генами (Д. Билд и Э. Татум)
1943 г.	Доказано существование спонтанных мутаций (С. Лурия и М. Дельбрюк)
1944 г.	Доказана генетическая роль ДНК (О. Эвери, С. Маклеод и М. Маккарти)
1944 г.	Сформулировано учение о девастации гельминтов (К.И. Скрябин)
1946 г.	Открыта система рекомбинации у бактерий (Д. Ледсрберг и Э. Татум)
1948 г.	Обосновано единство принципов управления в технических системах и живых организмах (Н. Винер)
1951 г.	Сформулировано представление о вторичной структуре белков и открыта α -спираль (Л. Полинг)
1952 г.	Открыты мигрирующие (транспозитируемые) генетические элементы растений (В. Макклينتок)
1953 г.	Сформулированы представления о структуре ДНК (Д. Уотсон и Ф. Крик)
1957 г.	Запущен второй искусственный спутник Земли с лайкой на борту (СССР)
1960 г.	Синтезирован хлорофилл (Р. Вудворд)
1960 г.	Установлена гибридизация культивируемых соматических клеток (Г. Барский)
1961 г.	Определены тип и общая природа генетического кода (Ф. Крик, Л. Барнет, С. Бреннер, Р. Уотс-Тобин)
1961 г.	Начато клонирование животных (Дж. Гердон)
1962 г.	Сформулированы представления о регуляции активности генов (Ф. Жакоб и Ж. Моно)
1966 г.	Расшифрован генетический код (М. Ниренберг, М. Очоа, Х. Корана)
1968 г.	Осуществлен химический синтез гена (Х. Корана)
1968 г.	Открыты рестрикционные эндонуклеазы (М. Месельсон, Р. Юан, С. Ланн, В. Арбер)
1970 г.	Открыта обратная транскрипция (Х. Темин, Д. Балтиморе)
1973 г.	Опубликованы результаты первых экспериментов по молекулярному клонированию (С. Коэн, А. Чанг)
1975 г.	Открыты гибридомы и способ получения моноклеточных антител (Ц. Мильштейн)
1982 г.	Показана возможность изменения фенотипа млекопитающих (получения трансгенных мышей) с помощью рекомбинантных молекул ДНК (Р. Полмитер и Р. Бринстер)
1982 г.	Открыта каталитическая активность РНК (Т. Чек)
1988 г.	Установлен фактор, «лицензирующий» и позволяющий один раунд репликации ДНК на клетку (Д. Блау, Р. Лаун)
1993 г.	Осуществлены первые эксперименты по индукции монозиготных близнецов человека (П. Стилман и Д. Холл)
	Установлена возможность получения (клонирования) потомства млекопитающих
1997 г.	путем оплодотворения яйцеклеток, лишенных ядер, ядрами соматических клеток (И. Вилмут, К. Кэмпбелл и др.)
2001 г.	Секвенирован геном человека (Интернациональный коллектив ученых)

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические рекомендации
по организации самостоятельной работы обучающихся
по дисциплине «**Общая биология и микробиология**»
для студентов направления подготовки /специальности
19.03.01 - Биотехнология
Направленность (профиль) Промышленная биотехнология

1. Цель и задачи освоения дисциплины

Цель освоения дисциплины - формирование набора общепрофессиональных (ОПК-1) компетенций будущего бакалавра по направлению подготовки 19.03.01 – Биотехнология.

В задачи освоения дисциплины входит изучение вопросов общей биологии, выявляющих единые физико-химические основы жизни и единство в организации, превращении веществ и энергии, функциях и развитии всех организмов, принципах воспроизводства и развития живых систем, о применении биологических знаний в биотехнологии; систематики, морфологии, физиологии, генетики микроорганизмов, действия на них факторов внешней среды, принципов промышленного культивирования, методов идентификации и учета микроорганизмов.

2. Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина «Общая биология и микробиология» относится к дисциплинам обязательной части.

3. Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесённых с планируемыми результатами освоения образовательной программы

Код, формулировка компетенции	Код, формулировка индикатора	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), характеризующие этапы формирования компетенций, индикаторов
ОПК-1. Способен изучать, анализировать, использовать биологические объекты и процессы, основываясь на законах и закономерностях математических, физических, химических и биологических наук и их взаимосвязях	ИД-1 ОПК-1. Понимает сущность физических, химических, биохимических, биотехнологических, микробиологических, теплофизических процессов, происходящих при производстве биотехнологической продукции для пищевой промышленности	Понимает сущность микробиологических процессов, происходящих при производстве биотехнологической продукции для пищевой промышленности
	ИД-2 ОПК-1. Способен изучать, анализировать и использовать конкретные виды биологических объектов в реальных процессах и превращениях; использовать для анализа знания математических, физических, химических, биологических законов, закономерностей и их взаимосвязей	Способен изучать, анализировать и использовать конкретные виды биологических объектов в реальных процессах и превращениях; использовать для анализа знания биологических законов, закономерностей и их взаимосвязей

	ИД-3 ОПК-1. Может изучать и анализировать основные типы биологических объектов, использовать их в отдельных процессах и превращениях; владеет методиками и методами, основанными на математических, физических, химических, биологических законах и закономерностях как для изучения самих биологических объектов, так и для процессов с их участием	Может изучать и анализировать основные типы биологических объектов; владеет методиками и методами, основанными на биологических законах и закономерностях как для изучения самих биологических объектов, так и для процессов с их участием

5.5 Технологическая карта самостоятельной работы обучающегося

Коды реализуемых компетенций, индикатора(ов)	Вид деятельности студентов	Средства и технологии оценки	Объем часов, в том числе		
			СРС	Контактная работа с преподавателем	Всего
4 семестр					
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к лекциям и лабораторным работам	Собеседование	3,5	0,5	4,00
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к тестированию	Тестирование	3,25	0,5	3,75
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к экзамену	Экзамен	16,2	4,05	20,25
Итого за 4 семестр					27
5 семестр					
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к лекциям и лабораторным работам	Собеседование	5,5	1,75	6,75
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к тестированию	Тестирование	5,5	1,75	6,75
ОПК-1 ИД-1 ИД-2 ИД-3	Подготовка к экзамену	Экзамен	36,45	4,05	40,5
Итого за 5 семестр					54
Итого					81

6. Фонд оценочных средств для проведения текущего контроля успеваемости и

промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине (модулю)

Фонд оценочных средств (ФОС) для проведения текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации обучающихся по дисциплине *Общая биология и микробиология* базируется на перечне осваиваемых компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения дисциплины (модуля). ФОС обеспечивает объективный контроль достижения запланированных результатов обучения. ФОС включает в себя:

- описание показателей и критериев оценивания компетенций на различных этапах их формирования, описание шкал оценивания;
- методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений, навыков и (или) опыта деятельности, характеризующих этапы формирования компетенций;
- типовые контрольные задания и иные материалы, необходимые для оценки знаний, умений и уровня овладения формируемыми компетенциями в процессе освоения дисциплины (модуля).

ФОС является приложением к данной программе дисциплины (модуля).

7. Методические указания для обучающихся по освоению дисциплины

Приступая к работе, каждый студент должен принимать во внимание следующие положения.

Дисциплина (модуль) построена по тематическому принципу, каждая тема представляет собой логически завершённый раздел.

Лекционный материал посвящён рассмотрению ключевых, базовых положений курсов и разъяснению учебных заданий, выносимых на самостоятельную работу студентов *(включается при наличии соответствующих занятий)*.

Практические занятия проводятся с целью закрепления усвоенной информации, приобретения навыков ее применения при решении практических задач в соответствующей предметной области *(включается при наличии соответствующих занятий)*.

Лабораторные работы направлены на приобретение опыта практической работы в соответствующей предметной области *(включается при наличии соответствующих занятий)*.

Самостоятельная работа студентов направлена на самостоятельное изучение дополнительного материала, подготовку к практическим и лабораторным занятиям, а также выполнения всех видов самостоятельной работы.

Для успешного освоения дисциплины, необходимо выполнить все виды самостоятельной работы, используя рекомендуемые источники информации.

8. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

8.1. Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины (модуля)

8.1.1. Перечень основной литературы:

1. Рябцева С.А. *Общая биология и микробиология. Часть 1. Общая биология [Электронный ресурс] : учебное пособие* / С.А. Рябцева. — Электрон.текстовые данные. — Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет, 2016. — 149 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/66069.html>

2. Богомолова, А. Ю. *Биология в современном мире [Электронный ресурс] : учебное пособие* / А. Ю. Богомолова, О. В. Кабанова. — Электрон. текстовые данные. — Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. — 130 с. — 978-5-7410-1822-4. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/78766.html>

3. Тюменцева, Е. Ю. *Основы микробиологии : учебное пособие* / Е. Ю. Тюменцева. — Омск : Омский государственный институт сервиса, Омский государственный

технический университет, 2015. — 123 с. — ISBN 978-5-93252-357-5. — Текст : электронный // Электроннобиблиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. — URL: <http://www.iprbookshop.ru/32788.html>

4. Красникова Л.В. Общая и пищевая микробиология. Часть I [Электронный ресурс] : учебное пособие / Л.В. Красникова, П.И. Гунькова. — Электрон.текстовые данные. — СПб. : Университет ИТМО, 2016. — 135 с. — 2227-8397. — Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/67411.html>

8.1.2. Перечень дополнительной литературы:

1. Мышалова О.М. Биология [Электронный ресурс]: учебное пособие/ Мышалова О.М.— Электрон. текстовые данные.— Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2014.— 107 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/61261.html>.— ЭБС «IPRbooks»

2. Тулякова О.В. Биология [Электронный ресурс]: учебник/ Тулякова О.В.— Электрон. текстовые данные.— Саратов: Вузовское образование, 2014.— 448 с.— Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/21902.html>.— ЭБС «IPRbooks»

3. Емцев, Всеволод Тихонович. Микробиология : учебник для бакалавров : [для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям и специальностям агрономического образования] / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. - 8-е изд., испр. и доп. - Москва : Юрайт, 2016. -446 с.

4. Гусев, Михаил Викторович. Микробиология : учебник для студ.вузов / М. В. Гусев, Л. А. Минеева.- 9-е изд., стер. - Моск Академия, 2010. - 461, [1] с.

5. Нетрусов, Александр Иванович. Микробиология : Университетский курс : учебник для вузов / А. И. Нетрусов, И. Б. Котова. - 4-е изд., перераб. и доп. - Москва. : Академия, 2012. - 384 с.

8.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине (модулю)

Общая биология и микробиология : методические указания к лабораторным работа для студентов специальности «Биотехнология» / сост. С. А. Рябцева - 71 с.

Градова, Н. Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии / Н. Б. Градова, Е. С. Бабусенко, И. Б. Горнова. - [2-е изд., перераб. и доп.]. - М. : ДеЛи принт, 2004. - 144 с. - Библиогр.: с. 138. - ISBN 5-94343-060-1

8.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины (модуля)

<http://mediaterra.ru/project/biology> - интерактивный учебник по биологии. Темы по зоологии, ботанике, микробиологии, истории науки

<http://microbiology.ucoz.org/> - справочная информация по микробиологии

<http://www.biology.ru> - содержание учебного компакт-диска "Открытая биология", обзор сетевых ресурсов по биологии; отдельные интерактивные демонстрации моделей;

<http://www.e-cell.org/> - информация о разработках в области компьютерной биологии: моделирование процессов, происходящих в клетке и органеллах, изучение биохимических путей и биоритмов;

<http://www.informika.ru/text/database/biology/> - теоретические основы цитологии, генетики, экологии, теории эволюции

<http://www.microbiologyinpictures.com>- атлас по микробиологии

9. Перечень информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса по дисциплине (модулю), включая перечень программного обеспечения и информационных справочных систем

При чтении лекций используется компьютерная техника, демонстрации презентационных мультимедийных материалов. На семинарских и практических занятиях студенты представляют презентации, подготовленные ими в часы самостоятельной работы.

Информационные справочные системы:

Информационно-справочные и информационно-правовые системы, используемые при изучении дисциплины:

1	http://biblioclub.ru - ЭБС «Университетская библиотека ОНЛАЙН»
2	http://www.iprbookshop.ru - ЭБС IPRbooks

Программное обеспечение:

1	- Операционная система: Microsoft Windows 8 (версия 8.1.) договор 01-эа/13 от 25.02.2013, срок действия лицензии: бессрочный.
2	- Офисные приложения: Microsoft Office Standard 2013, договор 01-эа/13 от 25.02.2013, срок действия лицензии: бессрочный.

10. Описание материально-технической базы, необходимой для осуществления образовательного процесса по дисциплине (модулю)

Лекционные занятия		Учебная аудитория для проведения занятий лекционного типа, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации: компьютер (переносной ноутбук), проектор (переносной проектор), доска магнитно-маркерная. Учебно-наглядные пособия в виде тематических презентаций, соответствующих рабочим программам дисциплин.
		Фонды и ресурсы Научной библиотеки СКФУ
Лабораторные занятия		Учебная аудитория для проведения занятий лабораторного типа, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации: компьютер (переносной ноутбук), проектор (переносной проектор), доска магнитно-маркерная.
		Фонды и ресурсы Научной библиотеки СКФУ
Практические занятия		Учебная аудитория для проведения занятий семинарского типа, укомплектованная специализированной мебелью и техническими средствами обучения, служащими для представления учебной информации: компьютер (переносной ноутбук), проектор (переносной проектор), доска магнитно-маркерная.
		Фонды и ресурсы Научной библиотеки СКФУ
Самостоятельная работа		Помещения для самостоятельной работы, оснащенные компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду организации.
		Фонды и ресурсы Научной библиотеки СКФУ

Учебные аудитории для проведения учебных занятий, оснащены оборудованием и техническими средствами обучения. Помещения для самостоятельной работы обучающихся, оснащенные компьютерной техникой с возможностью подключения к сети

"Интернет" и обеспечением доступа к электронной информационно-образовательной среде. Специализированная мебель и технические средства обучения, служащие для представления учебной информации.

Материально-техническая база обеспечивает проведение всех видов дисциплинарной и междисциплинарной подготовки, лабораторной, научно-исследовательской работы обучающихся (переносной ноутбук, переносной проектор, компьютеры с необходимым программным обеспечением и выходом в интернет).

Помещения для самостоятельной работы обучающихся оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду образовательной организации.

11. Особенности освоения дисциплины (модуля) лицами с ограниченными возможностями здоровья

Обучающимся с ограниченными возможностями здоровья предоставляются специальные учебники, учебные пособия и дидактические материалы, специальные технические средства обучения коллективного и индивидуального пользования, услуги ассистента (помощника), оказывающего обучающимся необходимую техническую помощь, а также услуги сурдопереводчиков и тифлосурдопереводчиков.

Освоение дисциплины (модуля) обучающимися с ограниченными возможностями здоровья может быть организовано совместно с другими обучающимися, а также в отдельных группах.

Освоение дисциплины (модуля) обучающимися с ограниченными возможностями здоровья осуществляется с учетом особенностей психофизического развития, индивидуальных возможностей и состояния здоровья.

В целях доступности получения высшего образования по образовательной программе лицами с ограниченными возможностями здоровья при освоении дисциплины (модуля) обеспечивается:

1) для лиц с ограниченными возможностями здоровья по зрению:

- присутствие ассистента, оказывающий студенту необходимую техническую помощь с учетом индивидуальных особенностей (помогает занять рабочее место, передвигаться, прочесть и оформить задание, в том числе, записывая под диктовку),
- письменные задания, а также инструкции о порядке их выполнения оформляются увеличенным шрифтом,
- специальные учебники, учебные пособия и дидактические материалы (имеющие крупный шрифт или аудиофайлы),
- индивидуальное равномерное освещение не менее 300 люкс,
- при необходимости студенту для выполнения задания предоставляется увеличивающее устройство;

2) для лиц с ограниченными возможностями здоровья по слуху:

- присутствие ассистента, оказывающий студенту необходимую техническую помощь с учетом индивидуальных особенностей (помогает занять рабочее место, передвигаться, прочесть и оформить задание, в том числе, записывая под диктовку),
- обеспечивается наличие звукоусиливающей аппаратуры коллективного пользования, при необходимости обучающемуся предоставляется звукоусиливающая аппаратура индивидуального пользования;

- обеспечивается надлежащими звуковыми средствами воспроизведения информации;

3) для лиц с ограниченными возможностями здоровья, имеющих нарушения опорно-двигательного аппарата (в том числе с тяжелыми нарушениями двигательных функций верхних конечностей или отсутствием верхних конечностей):

- письменные задания выполняются на компьютере со специализированным программным обеспечением или надиктовываются ассистенту;
- по желанию студента задания могут выполняться в устной форме.