Министерство образования Красноярского края

краевое государственное бюджетное

профессиональное образовательноеучреждение

«Красноярский аграрный техникум»

|  |  |
| --- | --- |
| РАССМОТРЕНО:на заседании цикловойкомиссии агрономических и зоотехнических дисциплинпротокол №\_\_«\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2019 г.Председатель цикловой комиссии**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_** И.В.Яворская | УТВЕРЖДАЮ:зам. директора по УРКрасноярского аграрного техникума\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Т. М. Тимофеева«\_\_\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2019 г. |

**Методическое пособие для выполнения самостоятельных работ по дисциплине: «Микробиология, санитария и гигиена»**

Курс 2

Специальность «Зоотехния»

Составил: Е.К. Шлома

Красноярск 2019

**Содержание**

Занятие 5 Физиология микроорганизмов

Занятие 6 ЛПЗ 4. Техника безопасности при работе в микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа

Занятие 7 Сущность метаболизма, энергетические процессы в клетках микроорганизмов

Занятие 8 ЛПЗ 5 Приготовление питательных сред. Правила культивирования Занятие 9 ЛПЗ 6. Техника посевов и пересевов. Методы выделения чистых культур

Занятие 10 Влияние внешних факторов на жизнеспособность микроорганизмов

Занятие 11 Распространение микробов в природе. Микрофлора тела животных

# Указания к выполнению самостоятельной работы

1. Самостоятельную работу нужно выполнять в отдельной тетради, чернилами черного или синего цвета. После каждой выполненной работы необходимо оставлять не менее половины листа для замечаний преподавателя.
2. Работу выполнять следует подробно и аккуратно, объясняя и мотивируя все действия по ходу решения и делая необходимые чертежи.
3. После получения проверенной преподавателем работы студент должен в этой же тетради исправить все отмеченные ошибки и недочеты. Вносить исправления в сам текст работы после ее проверки запрещается.
4. Оценивание индивидуальных образовательных достижений по результатам выполнения самостоятельной работы производится в соответствии с универсальной шкалой (таблица).

|  |  |
| --- | --- |
| Процент результативности (правильных ответов) | Качественная оценка  |
| балл (отметка) | вербальный аналог |
| 90 – 100 | 5 | отлично |
| 80 – 89 | 4 | хорошо |
| 70 – 79 | 3 | удовлетворительно |
| менее 70 | 2 | неудовлетворительно |

**Занятие 5 Физиология микроорганизмов**

**Цели занятия:** изучить особенности жизнедеятельности микроорганизмов и практическое использование знаний физиологии микробов в зоотехнии, ветеринарии и биотехнологической промышленности.

**Теоретический материал**

Представлен в учебнике Р.Г. Госманова «Микробиология» стр. 55-76

**Задание:**

Изучить и написать конспект:

1. Химический состав микробной клетки, классификация, значение органических и неорганических соединений : белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, минеральных веществ
2. Ферменты – значение, состав, классификация
3. Дыхание микроорганизмов

**Занятие 6 ЛПЗ 3. Техника безопасности при работе в микробиологической лаборатории. Устройство микроскопа**

**Цели занятия:** Изучить правила работы и техника безопасности в лаборатории. Ознакомить студентов с оптическим микроскопом, особенностями иммерсионной системы микроскопии. Изучить основные формы микробных клеток.

**Теоретический материал**

**Бактериологическая лаборатория** - это учреждение государственной ветеринарной службы, деятельность которой направлена на обеспечение развития животноводства, предупреждение и ликвидацию заразных болезней и падежа животных, а также на охрану населения от болезней общих для животных и человека.

Основная задача ветеринарной бактериологической лаборатории - диагностика болезней сельскохозяйственных животных, включая птиц, пушных зверей, рыб, пчел, а также проведение экспертизы молока, мяса, и других пищевых продуктов и корма. На кафедрах микробиологии в ветеринарных, медицинских, биологических, агрономических факультетах имеются учебные лаборатории. Комнаты для них отводятся светлые, просторные, хорошо вентилируемые, с окнами открывающимися наружу и обращенные на север.

**Правила работы в микробиологической лаборатории**

1. Входить в лабораторию в пальто, в головном уборе, вносить посторонние вещи не разрешается.
2. Каждый студент работает на своем рабочем месте и несет ответственность за закрепленное за ним оборудованием, включая микроскоп, чистоту рабочего места.
3. Строго соблюдать правила обращения с реактивами и красителями.
4. Запрещается работать с неисправными электроприборами. Обо всех неисправностях следует сообщить преподавателю.
5. При работе со спиртовкой необходимо перед зажиганием продуть пары спирта, накопившиеся под крышкой, приподняв фитиль. Затем осторожно поджечь спиртовку. Не бросать горящих спичек, не зажигать спиртовку от спиртовки, не переносить зажженную спиртовку с одного места на другое.
6. При работе с культурами микроорганизмов следует быть предельно аккуратными, чтобы не допустить попадания содержимого пробирки на поверхность стола, одежды и т.д. В случае нарушения целостности объема, в котором находится культура (например, при разбивании, проливании) следует поставить в известность преподавателя и принять меры к дезинфекции.
7. Поскольку некоторые микроорганизмы в чистых культурах, особенно споры грибов, являются аллергенными, нельзя допускать их распыления: ни в коем случае не оставлять открытыми чашки Петри, пробирки, колбы с культурами микроорганизмов.
8. В лаборатории запрещается принимать пищу, пить, курить, жевать.
9. Перед уходом из лаборатории дежурный проверяет рабочие места, закрывает воду, выключат свет, электроприборы. После ознакомления с техникой безопасности при работе на кафедре микробиологии студенты расписываются в журнале.

**Микробиологические методы исследования**

Микробиологический метод исследования включает:

1. Микроскопирование;
2. Выделение и изучение культуральных и биохимических свойств чистой культуры возбудителя болезни;
3. Определение патогенности микробов (биологическая проба - заражение лабораторных животных);
4. Серологическая идентификация и серологическая диагностика (постановка иммунологических реакций РА, РСК, РП, РДП, РИФ)

**Световой микроскоп**

Микроскопирование определяет морфологические особенности микробов, их тинкториальные свойства (отношение к различным красителям и методам окраски), наличие специальных структурных элементов спор, капсул, жгутиков и др. С этой целью используют оптические приборы - микроскопы (световые, люминесцентные, электронные). Для светового микроскопирования чаще всего используют приборы МБИ-1, МБИ-2, обеспечивающие увеличение изображаемого объекта в 600 раз и более.

Световые микроскопы подразделяются на студенческие, рабочие, лабораторные и исследовательские, различающиеся по конструкции и комплектации оптикой. Отечественные микроскопы (Биолам", "Бимам", "Микмед") имеют обозначения, указывающие, к какой группе они относятся (С - студенческие, Р - рабочие, Л - лабораторные, И - исследовательские), комплектация обозначается цифрой.

Световой микроскоп состоит из двух основных частей: механической и оптической.

**Механическая часть:** включает подковообразный штатив, предметный столик, трубку (тубус) с вращающимся диском в верхней части («револьвером»), макро- и микрометрическим винтом для передвижения тубуса вверх или вниз. В центре предметного столика имеется отверстие для прохождения света. Боковые винты предметного стола обеспечивают его передвижение влево, вправо, а клеммы служат для закрепления предметного стекла.

**Оптическая часть** микроскопа представлена объективами, окулярами и осветительной системой, которая в свою очередь состоит из расположенных под предметным столиком конденсора Аббе, зеркала, имеющего плоскую и вогнутую сторону, а также отдельного или встроенного осветителя. Объективы ввинчиваются в револьвер, а соответствующий окуляр, через который наблюдают изображение, устанавливают с противоположной стороны тубуса. Различают монокулярный (имеющий один окуляр) и бинокулярный (имеющий два одинаковых окуляра) тубусы.

Основную роль в получении изображения играет **объектив**. Он строит увеличенное, действительное и перевернутое изображение объекта. Затем это изображение дополнительно увеличивается при рассматривании его через окуляр, который аналогично обычной лупе дает увеличенное мнимое изображение.

**Увеличение** микроскопа ориентировочно можно определить, умножая увеличение объектива на увеличение окуляра. Однако увеличение не определяет качества изображения. Качество изображения, его четкость, определяется **разрешающей способностью микроскопа**, т. е. возможностью различать раздельно две близко расположенные точки. **Предел разрешения** - минимальное расстояние, на котором эти точки еще видны раздельно, - зависит от длины волны света, которым освещается объект, и числовой апертуры объектива.

Различают **полезное** и **бесполезное** увеличение. Полезное увеличение обычно равно числовой апертуре объектива, увеличенной в 500-1000 раз. Более высокое окулярное увеличение не выявляет новых деталей и является бесполезным.

В зависимости от среды, которая находится между объективом и препаратом, различают «сухие» объективы малого и среднего увеличения (до 40 х) и иммерсионные с максимальной апертурой и увеличением (90—100 х). «Сухой» объектив - это такой объектив, между фронтальной линзой которого и препаратом, находится воздух.

Особенностью иммерсионных объективов является то, что между фронтальной линзой такого объектива и препаратом помещают иммерсионную жидкость, имеющую показатель преломления такой же, как стекло (или близкий к нему), что обеспечивает увеличение числовой апертуры и разрешающей способности объектива. В качестве иммерсионной жидкости для объективов водной иммерсии используют дистиллированную воду, а для объективов масляной иммерсии - кедровое масло или специальное синтетическое иммерсионное масло. Использование синтетического иммерсионного масла предпочтительнее, поскольку его параметры более точно нормируются, и оно в отличие от кедрового, не засыхает на поверхности фронтальной линзы объектива. Для объективов, работающих в ультрафиолетовой области спектра, в качестве иммерсионной жидкости используют глицерин. Ни в коем случае нельзя пользоваться суррогатами иммерсионного масла и, в частности, вазелиновым маслом.

Все характеристики объектива обычно выгравированы на его оправе: собственное увеличение, апертура, тип объектива (АПО - апохромат и т. п.); объективы водной иммерсии имеют обозначение ВИ и белое кольцо вокруг оправы в нижней ее части, объективы масляной иммерсии—обозначение МИ и черное кольцо.

Все объективы рассчитаны для работы с покровным стеклом толщиной 0,17мм.

Толщина покровного стекла особенно влияет на качество изображения при работе с сильными сухими системами (40 х). При работе с иммерсионными объективами нельзя пользоваться покровными стеклами толще 0,17 мм потому, что толщина покровного стекла может оказаться больше, чем рабочее расстояние объектива, и в этом случае, при попытке сфокусировать объектив на препарат, может быть повреждена фронтальная линза объектива.

Окуляры состоят из двух линз и тоже бывают нескольких типов, каждый из которых применяется с определенным типом объектива, дополнительно устраняя недостатки изображения. Тип окуляра и его увеличение обозначены на его оправе.

Конденсор предназначен для того, чтобы сфокусировать на препарате свет от осветителя, направляемый зеркалом микроскопа или осветителя (в случае использования накладного или встроенного осветителя). Одной из деталей конденсора является апертурная диафрагма, которая имеет важное значения для правильного освещения препарата.

Осветитель состоит из низковольтной лампы накаливания с толстой нитью, трансформатора, коллекторной линзы и полевой диафрагмы, от раскрытия, которой зависит диаметр освещенного поля на препарате. Зеркало направляет свет от осветителя в конденсор. Для того чтобы сохранить параллельность лучей, идущих от осветителя в конденсор, необходимо использовать только плоскую сторону зеркала.

**Настройка освещения и фокусировка микроскопа**

Качество изображения в значительной мере зависит также от правильного освещения. Существует несколько различных способов освещения препарата при микроскопии. Наиболее распространенным является способ **установки света по Келеру**, который заключается в следующем:

1. устанавливают осветитель против зеркала микроскопа;
2. включают лампу осветителя и направляют свет на плоское (!) зеркало микроскопа;
3. помещают препарат на предметный столик микроскопа;
4. закрывают зеркало микроскопа листком белой бумаги и фокусируют на нем изображение нити лампы, передвигая патрон лампы в осветителе;
5. убирают лист бумаги с зеркала;
6. закрывают апертурную диафрагму конденсора. Перемещая зеркало и слегка передвигая патрон лампы, фокусируют изображение нити на апертурной диафрагме. Расстояние осветителя от микроскопа должно быть таким, чтобы изображение нити лампы было равно диаметру апертурной диафрагмы конденсора (наблюдать апертурную диафрагму можно с помощью плоского зеркала, помещенного с правой стороны основания микроскопа).
7. открывают апертурную диафрагму конденсора, уменьшают отверстие полевой диафрагмы осветителя и значительно уменьшают накал лампы;
8. при малом увеличении (10х), глядя в окуляр, получают резкое изображение препарата;
9. слегка поворачивая зеркало, переводят изображение полевой диафрагмы, которое имеет вид светлого пятна, в центр поля зрения. Опуская и поднимая конденсор, добиваются получения резкого изображения краев полевой диафрагмы в плоскости препарата (вокруг них может быть видна цветная каемка);
10. раскрывают полевую диафрагму осветителя до краев поля зрения, увеличивают накал нити лампы и слегка (на 1/3) уменьшают раскрытие апертурной диафрагмы конденсора;
11. при смене объектива необходимо проверить настройку света. После окончания настройки света по Келеру нельзя изменять положение конденсораf раскрытие полевой и апертурной диафрагмы. Освещенность препарата можно регулировать только нейтральными светофильтрами или изменением накала лампы с помощью реостата. Излишнее открытие апертурной диафрагмы конденсора может привести к значительному снижению контраста изображения, а недостаточное - к значительному ухудшению качества изображения (появлению диффракционных колец). Для проверки правильности раскрытия апертурной диафрагмы необходимо удалить окуляр и, глядя в тубус, открыть ее таким образом, чтобы она закрывала светящееся поле на одну треть. Для правильного освещения препарата при работе с объективами малого увеличения (до 10х) необходимо отвинтить и снять верхнюю линзу конденсора.

Внимание! При работе с объективами, дающими большое увеличение - с сильными сухими (40х) и иммерсионными (90х) системами, чтобы не повредить фронтальную линзу, при фокусировке пользуются следующим приемом: наблюдая сбоку, опускают объектив макровинтом почти до соприкосновения с препаратом, затем, глядя в окуляр, макровинтом очень медленно поднимают объектив до появления изображения и с помощью микровинта производят окончательную фокусировку микроскопа.

**Уход за микроскопом**

При работе с микроскопом нельзя применять большие усилия. Нельзя касаться пальцами поверхности линз, зеркал и светофильтров.

Чтобы предохранить внутренние поверхности объективов, а также призмы тубуса от попадания пыли, необходимо всегда оставлять окуляр в тубусе. При чистке внешних поверхностей линз нужно удалить с них пыль мягкой кисточкой, промытой в эфире. Если необходимо, осторожно протирают поверхности линз хорошо выстиранной, не содержащей остатков мыла, полотняной или батистовой тряпочкой, слегка смоченной чистым бензином, эфиром или специальной смесью для чистки оптики. Не рекомендуется протирать оптику объективов ксилолом, так как это может привести к их расклеиванию.

С зеркал, имеющих наружное серебрение, можно только удалять пыль, сдувая ее резиновой грушей. Протирать их нельзя. Нельзя также самостоятельно развинчивать и разбирать объективы — это приведет к их порче. По окончании работы на микроскопе необходимо тщательно удалить остатки иммерсионного масла с фронтальной линзы объектива указанным выше способом. Затем опустить предметный столик (или конденсор в микроскопах с неподвижным столиком) и накрыть микроскоп чехлом.
Для сохранения внешнего вида микроскопа необходимо периодически протирать его мягкой тряпкой, слегка пропитанной бескислотным вазелином и затем сухой мягкой чистой тряпкой.

Помимо обычной световой микроскопии существуют методы микроскопии, позволяющие изучать неокрашенные микроорганизмы: **фазово-контрастная**, **темнопольная** и **люминесцентная** микроскопия. Для изучения микроорганизмов и их структур, размер которых меньше разрешающей способности светового микроскопа используют **электронную микроскопию**.

**Особенности иммерсионной системы микроскопа**

1. Поставить микроскоп в наиболее удобное для работы положение и установить освещение по методу Келлера (если используется осветитель).
2. Положить на предметный столик микроскопа готовый окрашенный мазок, закрепить его зажимами.
3. Просмотреть препарат под малым увеличением и выбрать место для детального исследования.
4. Поднять тубус микроскопа, установить с помощью револьвера иммерсионный объектив.
5. Нанести палочкой каплю кедрового масла на препарат.
6. Погрузить в кедровое масло фронтальную линзу иммерсионного объектива до легкого соприкосновения со стеклом препарата.
7. Наблюдая в окуляр, медленно поднять тубус микрометрическим винтом до появления в поле зрения микроскопа изучаемого объекта.
8. Уточнить фокус микроскопическим винтом и изучать препарат.

**После работы:**

1. Поднять тубус
2. Снять препарат
3. Осторожно салфеткой, смоченной спирт эфиром, протереть объектив
4. Зафиксировать револьвер на малом увеличении, положить на столик салфетку, опустить тубус
5. Закрыть микроскоп чехлом.

В учебных лабораториях наиболее распространены биологические микроскопы МБР-1 (МБИ-1) и М-11 (М-9), приведенные на рисунке 1. Они дают увеличение от 56 до 1350 раз.
Рис.1. **Общий вид биологических микроскопов**:
А – **микроскоп М-11**; Б – **микроскоп МБР-1**; 1-окуляр; 2-тубус; 8 – тубусодержатель; 4 – кремальера грубой наводки; 5 – микрометрический винт; 6 – основание штатива; 7 – зеркало; 8 – конденсор и ирисовая диафрагма; 9 – подвижный предметный столик; 10 – револьвер с объективами.



**Задание:**

Изучить и написать конспект:

1. Правила работы в бактериологической лаборатории
2. Микробиологические методы исследования
3. Устройство микроскопа и уход за ним

**Занятие 7 Сущность метаболизма, энергетические процессы в клетках микроорганизмов**

**Цель занятия:** изучить процессы обмена веществ микробной клетки

**Теоретический материал**

Образ жизни прокариот состоит в постоянном воспроизводстве своей биомассы. Совокупность протекающих в клетке процессов, обеспечивающих воспроизводство биомассы называется обменом веществ, или метаболизмом. Клеточный метаболизм складывается из двух потоков реакций, имеющих разную направленность: энергетического и конструктивного метаболизма. Энергетический метаболизм - это поток реакций, сопровождающихся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую или химическую (АТФ) форму, которая затем может использоваться во всех энергозависимых процессах. Конструктивный метаболизм (биосинтезы) - поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ строится вещество клеток; это процесс, связанный с потреблением свободной энергии, запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений. Для обозначения энергетических и конструктивных процессов используются термины «катаболизм и анаболизм», означающие распад и синтез органических молекул, происходящий соответственно с выделением или потреблением свободной энергии. Однако, у прокариот с фотолито- и хемолитотрофным типом энергетического обмена энергетический метаболизм не связан с превращением органических соединений. У них функционирует только один поток превращений органических соединений углерода - анаболический, поэтому термин «катаболизм» для них неприменим.

Метаболические пути конструктивной и энергетической направленности состоят из множества последовательных ферментативных реакций и могут быть разделены на три этапа. На начальном - воздействию подвергаются молекулы, служащие исходными субстратами. Иногда эту часть метаболического пути называют периферическим метаболизмом, а ферменты, катализирующие первые этапы превращения субстрата - периферическими. Последующие превращения включают ряд ферментативных реакций и приводят к образованию промежуточных продуктов или метаболитов, а сама цепь превращений объединяется под названием промежуточного метаболизма. Образующиеся на последних этапах конечные продукты конструктивных путей используются для построения вещества клеток, а энергетических - выделяются в окружающую среду.

Конструктивные и энергетические процессы протекают в клетке одновременно. У большинства прокариот они тесно связаны между собой. Однако у некоторых прокариотных организмов можно выделить последовательности реакций, служащих только для получения энергии или только для биосинтеза. Связь между конструктивными и энергетическими процессами прокариот осуществляется по нескольким каналам. Основной из них - энергетический. Определенные реакции поставляют энергию, необходимую для биосинтезов и других клеточных энергозависимых функций. Биосинтетические реакции кроме энергии нуждаются часто в поступлении извне восстановителя в виде водорода (электронов), источником которого служат также реакции энергетического метаболизма. И наконец, тесная связь между энергетическими и конструктивными процессами проявляется в том, что определенные промежуточные этапы или метаболиты обоих путей могут быть одинаковыми (хотя направленность потоков реакций, относящихся к каждому из путей, различна). Это создает возможности для использования общих промежуточных продуктов в каждом из метаболических путей. Промежуточные соединения такой природы называются амфиболитами, а промежуточные реакции, одинаковые для обоих потоков - амфиболическими. Метаболизм прокариот, как энергетический, так и конструктивный представляет собой результат способности этих микроорганизмов использовать в качестве источников энергии и исходных субстратов для построения веществ тела самый широкий набор органических и неорганических соединений. Такая способность обусловлена различиями в наборе клеточных периферических ферментов, воздействующих на исходные субстраты и видоизменяющих их молекулы в направлении, позволяющем им далее метаболизироваться по каналам промежуточного метаболизма. В отличие от периферического промежуточный метаболизм прокариот не отличается разнообразием.

Ферменты прокариотной клетки. Ферменты прокариот функционально являются биокатализаторами и отличаются от других катализаторов исключительной активностью и уникальной специфичностью в отношении структуры субстрата и природы катализируемой реакции. Из клеток прокариотных организмов выделены ферменты, относящиеся согласно международной классификации ко всем известным классам: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы. Состав ферментов определяется геномом клетки и является относительно постоянным. Помимо обычных эндоферментов, функционирующих внутри клетки, у прокариот имеются экзоферменты, выделяемые ими в окружающую среду. К экзоферментам относятся гидрлазы, разрушающие крупномолекулярные соединения субстрата и играющие важную роль в питании прокариот.

По времени образования ферменты прокариотной клетки подразделяются на 2 группы:

Конститутивные ферменты, синтез которых идет с постоянной скоростью независимо от веществ субстрата; в клетке они находятся в более или менее постоянной концентрации. Примером конститутивных ферментов могут служить гликолитические ферменты.

Индуцибельные ферменты, скорость синтеза которых в клетке резко возрастает в ответ на появление в среде субстрата-индуктора. К индуцибельным ферментам относится большинство гидролаз.

Ключевые позиции в процессах метаболизма занимают аллостерические ферменты, которые чутко реагируют на потребности клетки в конечных продуктах метаболизма. Избыточное количество конечного продукта тотчас ингибирует активность первого фермента в системе собственного биосинтетического пути.

Таким образом, маленькая по размерам прокариотная клетка проявляет максимальную экономичность, синтезируя только те ферменты, которые необходимы ей в данных условиях. Поэтому количество одного и того же фермента в клетке в разное время может минимальным - не более одной-двух молекул и максимальным - несколько процентов от массы клетки.

Ферменты цепи переноса электронов. Отщепление и перенос водорода или электронов от окисляемого субстрата на конечный акцептор осуществляется через последовательную цепь дыхательных ферментов, получившую название цепи переноса электронов (ЦПЭ) или дыхательной цепи. В клетках аэробных и анаэробных прокариот наиболее обширную группу дыхательных ферментов составляют дегидрогеназы, катализирующие дегидрирование субстратов. Коферментами дегидрогеназ выступают пиридиннуклеотиды - никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и флавопротеиды (ФП) - флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавинмононуклеотид (ФМН). Вторую группу дыхательных ферментов составляют цитохромы b,c,a, и a3, коферменты которых представлены железопорфиринами. Звено цитохромов осуществляет перенос электронов по дыхательной цепи от дегидрогеназ на конечный акцептор - молекулярный кислород либо на нитраты или сульфаты. Цитохромы имеются в клетках большинства прокариот, лишены их только некоторые облигатные анаэробы, например маслянокислые бактерии и молочнокислые стрептококки.

Помимо указанных групп дыхательных ферментов в мембранной системе прокариот обнаружены хиноны типа убихинона и менахинона. Хиноны функционируют в дыхательной цепи между флавопротеидами и цитохромами.

Расположение ферментов в дыхательной цепи определяется их окислительно-восстановительным потенциалом. Чем ниже окислительно-восстановительный потенциал фермента, тем в большей степени он является восстановителем и тем ближе он расположен к субстрату. Разные группы прокариотных организмов характеризуются разным уровнем организации дыхательной цепи. Так, в клетках первично анаэробных хемоорганотрофных микроорганизмов, ведущих процессы брожения, обнаружены только НАД-зависимые дегидрогеназы. Наиболее полно дыхательная цепь сформирована у фотосинтезирующих прокариот. Все аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы имеют более или менее полную систему ферментов электронного транспорта. Однако, у разных физиологических групп микроорганизмов дыхательные цепи отличаются по составу промежуточных ферментов-переносчиков и терминальным цитохромам (цитохромоксидаза или редуктаза).

**Контрольные вопросы**

1. Что такое метаболизм?

2. Характеристика конструктивного (анаболизм) и энергетического (катаболизм) метаболизма.

3. Ферменты прокариотных организмов, их функции.

4. Дыхательные ферменты прокариотных микроорганизмов, их функции.

5. Три способа получения энергии у прокариот: дыхание, фотосинтез, виды брожения.

**Занятие 8 ЛПЗ 5. Приготовление питательных сред. Правила культивирования**

**Цель занятия:**  изучить виды и способы приготовления питательных сред, ознакомиться с методами культивирования микроорганизмов

**Теоретический материал и задания**

Материал и задание по теме « приготовление питательных сред» представлен в электронном учебнике Р.Г. Госманова «Микробиология» стр.354-367

**Занятие 9 ЛПЗ 6. Техника посевов и пересевов. Методы выделения чистых культур**

**Цель занятия:** овладеть техникой посева бактерий и плотные и жидкие питательные среды, освоить методы выделения чистых культур

**Теоретический материал и задание:**

Материал и задание по теме представлен в электронном учебнике Р.Г. Госманова «Микробиология» стр.375-380

**Занятие 10 Влияние внешних факторов на жизнеспособность микроорганизмов**

**Цель занятия:** изучить влияние факторов внешней среды на жизнеспособность микроорганизмов и способы их использования

**Теоретический материал**

Материал по теме «Влияние внешних факторов на жизнеспособность микробов» представлен в электронном учебнике Р.Г. Госманова «Микробиология» стр.76-94

**Задание:**

изучить и законспектировать устойчивость микроорганизмов к действию температуры, давления, излучения, химических и биологических факторов

# Занятие 11 Распространение микробов в природе. Микрофлора тела животных

**Цель занятия:** Рассмотреть распространение микробов в природе. Изучить микрофлору тела животных

**Теоретический материал**

**Распространение микробов в природе**

Естественными средами обитания большей части организмов являются вода, почва и воздух. В зонах обитания микроорганизмы образуют **микроценозы** – сообщества со специфическими и часто необычными взаимоотношениями. Каждое микробное сообщество в конкретном ценозе образуют специфичные **аутохтонные микроорганизмы**, обычно в них встречающиеся. В природных биоценозах (почва, вода, воздух) выживают и размножаются лишь те микроорганизмы, которым благоприятствует окружающая среда; их рост прекращается, как только условия окружающей среды меняются.

**Микрофлора почвы**

Почва состоит из неорганических веществ и органических соединений, образующихся в результате гибели и разложения живых организмов. Почвенные живые организмы в совокупности составляют **почвенный биоценоз**. Содержащиеся в почве живые организмы (в том числе микроорганизмы) составляют **живую фазу почвы.** В нее входят макроорганизмы и микроорганизмы, как животного, так и растительного происхождения.

**Макроорганизмы** живой фазы почвы включают:

- **макрофауну** (грызуны, насекомые, клещи, брюхоногие моллюски, многоножки, пауки и кольчатые черви);

- **макрофлору** (корни растений).

**Микроорганизмы** живой фазы почвы включают:

* **микрофауну** (нематоды, простейшие, коловратки);
* **микрофлору** (водоросли, грибы, бактерии).
Находящиеся в почве микроорганизмы подразделяются на две группы:
* **аутохтонные микроорганизмы (резидентные микроорганизмы,
резидентная микрофлора),** то есть микробы, которые присущи только конкретному типу почвы;
* **аллохтонные микроорганизмы (транзиторная микрофлора),** то есть те микроорганизмы, которые в обычных условиях в почве не встречаются.

Микроорганизмы в почве развиваются в водных и коллоидных пленках, покрывающих твердые частицы, и особенно в капиллярной и гравитационной воде, заполняющей поры между минеральными частицами почвы и содержащей растворенные органические и неорганические вещества.

**В почве обитают:**

**1. Водоросли** (зеленые, сине-зеленые и диатомовые). Они
распространены повсеместно, особенно в поверхностных слоях почвы.

Наиболее важным экологическим фактором, регулирующим распространение водорослей, является влажность, хотя они способны выдерживать длительные периоды засухи. Морфологическое разнообразие водорослей очень велико, но все они имеют микроскопические размеры, нитевидную форму и состоят из одной клетки. Наиболее многочисленные сине-зеленые и зеленые водоросли. Количество их в 1 г почвы может достигать 100 тыс.

**2. Грибы.** Из микроскопических грибов в почве обитают, в основном, дрожжевые и дрожжеподобные грибы.

**3.** **Бактерии** (актиномицеты, спорообразующие бактерии, спирохеты, микобактерии, псевдомонады, азотфиксирующие и нитрифицирующие бактерии, архебактерии). В окультуренных почвах бактерии превосходят все другие группы микроорганизмов, как по численности, так и по своему разнообразию. В плодородной почве общая биомасса бактерий достигает 500 кг/га и более.

Наибольшее значение для плодородия почв имеют азотфиксирующие бактерии, способные усваивать молекулярный азот (*Azotobacter*, *Nitrobacter,* *Mycobacterium* и другие). К типичным почвенным бактериям относятся актиномицеты и спорообразующие палочки родов *Bacillus* и *Clostridium*.

**4. Простейшие.** Во влажных почвах обитают амебы.

Почвенные микроорганизмы принимают участие в процессах почвообразования, самоочищения почвы, кругооборота в природе азота, углерода и других элементов. В почве имеются все условия для развития микроорганизмов: достаточное количество органических и минеральных веществ для их питания, подходящие влажность и реакция среды, защита от прямых солнечных лучей.

**Количественный и видовой состав** микроорганизмов в почве обусловлен содержанием в ней органических ве­ществ, влаги, рН, температурой, климатическими усло­виями, способом обработки и т. д.

Наиболее богаты микро­организмами черноземные, каштановые почвы, сероземы и специально обработанные почвы. Бедны микрофлорой песчаные, горные и ли­шенные растительности почвы.

Наиболее многочисленны микроорганизмы в верхнем 5-15-сантиметровом слое, меньше их на глубине 20-30 см и минимальное количество на глубине 30-40 см. Однако бактерии были найдены в почве даже на глубине 5 м.

Численность микроорганизмов в почве увеличивается по направлению с севера на юг, причем весной количество их значительно возрастает, достигая максимума к началу лета, осени; зимой — резко уменьшается.

Почва населенных мест загрязняется твердыми и жид­кими отбросами, выделениями людей и животных, остатками растений, хозяйственно-бытовыми и промышленными сточными водами. Вместе с органичес­кими загрязнениями в почву попадает большое количество микроорганизмов. Особенно опасны в эпидемиологи­ческом отношении сточные воды боен, мясокомбинатов, предприятий по переработке кожи, шерсти, которые мо­гут содержать патогенных бактерий.

В связи с этим почва может служить фактором передачи возбудителей инфекционных заболеваний. Через почву может происходить обсеменение сапрофитными и болезнетворными микробами сырья, пи­щевых продуктов, кормов. Поэтому отбросы, поступающие в почву, должны подвергаться очистке и обезврежи­ванию. Длительность выживаемости в почве патогенных бактерий зависит от биологических свойств и условий среды обитания. Наиболее длительно живут спорообразующие микробы – возбудители столбняка, ботулизма; споры бацилл сибирской язвы могут сохраняться на протяжении десятилетий. При благоприятных условиях микроорганизмы в почве не только выживают, но и долго (недели, месяцы и даже годы) сохраняют вирулентные свойства.

**Классификация почвенных патогенных микроорганизмов:**

- патогенные микроорганизмы, постоянно обитающие в почве (например, возбудитель ботулизма). Бактерии попадают в почву с испражнениями человека и животных, их споры сохраняются в ней неопределенно долго.

- патогенные спорообразующие микроорганизмы, для которых почва
является вторичным резервуаром (например, возбудитель сибирской язвы). Бактерии попадают в почву с фекалиями и прочими выделениями больных животных, а также с трупами погибших животных.

- патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями
человека и животных и сохраняющиеся в течение нескольких недель или
месяцев. В эту группу входят различные не образующие споры
микроорганизмы. Основные факторы, приводящие к быстрой гибели
микроорганизмов, - неспособность к спорообразованию и антагонистические
свойства микрофлоры почвы (конкуренция за источники энергии и питания).

Продолжительность выживания патогенных микроор­ганизмов в почве зависит от биологии возбудителя, со­держания влаги и соответствующих питательных веществ, рН, температуры, наличия микробов-антагонистов, бакте­риофагов. Во влажных почвах их выживаемость в 2-4 раза длительнее, чем в сухих.

Неспорообразующие микроорганизмы погибают быстрее, чем спорообразующие. Патогенные неспорообразующие микробы выживают в почве незначительное время: возбудители дизен­терии - от 10 дней до 9 месяцев; холерные вибрионы - от 10 дней до 4 месяцев; бактерии брюшного тифа - от 14 дней до 10 месяцев; бактерии туляремии - от 10 дней до 2,5 месяцев; микобактерии тубер­кулеза - от 3 до 7 месяцев и более; бруцеллы - от 2 до 3 месяцев. Выживаемости в почве неспорообразующих микробов способствует попадание вместе с возбудителем достаточ­ного количества питательных веществ (кал, мокрота, гной и т. д.), наличие благоприятных физико-химических условий среды, отсутствие микробов-антагонистов.

Наиболее опасной является почва, загрязненная фе­калиями больных кишечными инфекциями. Возбудители дизентерии, холеры, брюшного тифа, сальмонеллезов, энтеровирусных заболеваний попадают в организм чело­века с загрязненными землей овощами, фруктами и дру­гими пищевыми продуктами. Установлена прямая зави­симость между уровнем заболеваемости населения ки­шечными инфекциями и неудовлетворительным санитар­ным состоянием почвы.

Описан ряд водных вспышек кишечных инфекций, причиной которых были загрязненная почва и стоки не­чистот.

В почве обитает много плесневых грибов. Некоторые из них, например грибы из рода *Fusarium*, попадая на злаковые и другие растения, в процессе своего развития, вырабатывают токсические вещества. При употреблении хлеба, выпеченного из зерна позднего обмолота и пора­женного грибом *Fusarium sporotrichiella*, у человека воз­никает токсикоз, известный под названием отравления “пьяным хлебом”. Грибы из рода *Aspergillus* (*Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*), паразитирующие на земля­ных орехах, зерновых культурах и кормах, могут также образовывать токсическое вещество - афлатоксин. При употреблении в пищу продуктов заражённых афлатоксинов возникает тяжелое отравление, которое характери­зуется некротическим поражением печени, почек, гемор­рагическим воспалением пищеварительного тракта.

**Микрофлора воды**

В морях, реках, озерах и других водоемах, а также в грунтовых водах содержится значительное число видов микроорганизмов. Совокупность всех микроорганизмов, заселяющих водоёмы, обозначают термином «**микробиальный планктон**».

Микрофлора природных вод в значительной степени зависит от их происхождения. Различают **пресные** и **морские** воды. Пресные воды разделяют на **поверхностные**, включая **проточные** (реки, ручьи) и **стоячие** (озёра, пруды, водохранилища), **подземные** (почвенные, грунтовые, артезианские) и **атмосферные** (дождь, снег).

 Изучением водных сообществ занимается гидробиология. Возрастающий дефицит пресной воды на Земле заставляет обратить серьезное внимание на процессы формирования экосистемы в водоеме и переработку водными микроорганизмами поступающих в водоем загрязнений. Вода – естественная среда обитания микробов, основная масса которых поступает из почвы, воздуха с оседающей пылью, с отходами, стоками промышленных и животноводческих объектов и др. Особенно много микроорганизмов в открытых водоемах и реках, нередко встречаются они в илистых отложениях океанов, морей, болот, минеральных водах. Их находят как в поверхностных слоях, так и на глубине до 10 тыс. метров. Обитают микроорганизмы и в горячих источниках. Процесс фотосинтеза у них происходит при температуре 75ОС, а в щелочных водах бактерии выживают при температуре 100ОС.

Качественный состав обитающих в воде микроорганизмов зависит в основном от свойств самой воды, поступления в нее сточных и промышленных отходов. К постоянно живущим в воде микроорганизмам относятся *Azotobacter*, *Nitrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Spirillum* и др.

Глубокие почвенные воды, ключевая, артезианская вода почти свободны от микроорганизмов.

**Характер микрофлоры** водоемов определяется особенностями конкретной водной среды. Микрофлору водоемов образуют две группы: аутохтонные (собственно водные) и аллохтонные (попадающие извне при загрязнении) микроорганизмы.

**Аутохтонная микрофлора** – совокупность микроорганизмов, постоянно живущих и размножающихся в воде. Микробный состав воды напоминает микрофлору почвы, с которой вода соприкасается (придонные и прибрежные почвы).

**Аллохтонная микрофлора** – совокупность микроорганизмов, случайно попавших в воду и сохраняющихся в ней сравнительно короткое время.

Количественные соотношения микроорганизмов в открытых водоемах варьируют в широких пределах, что зависит от типа водоема, степени его загрязнения, смены метеорологических условий, времени года.

Микроорганизмы воды играют значительную роль в круговороте веществ, расщепляя органические продукты животного и растительного происхождения и обеспечивая питательными веществами другие организмы, живущие в воде.

Источником загрязнения воды в реках чаще всего служат бытовые и промышленные стоки. В открытые водоемы большая часть микробов попадает из почвы. Поэтому в озерах, прудах, реках наивысшее содержание микрофлоры отмечается в прибрежной зоне.

В воде обитают все известные группы микроорганизмов, но наиболее существенный компонент населения водоемов – бактерии. Как известно, цитоплазматическая мембрана бактерий обладает способностью активного переноса через клеточную стенку питательных веществ. Благодаря этому бактерии способны потреблять питательный субстрат, присутствующий в ничтожно малых концентрациях (1-5 мг/г).

Микробы окисляют до минеральных соединений органические вещества, в огромных количествах попадающие в водоемы. Степень загрязнения, в том числе болезнетворными микробами, может быть препятствием для использования воды. Поэтому любой водный источник необходимо подвергать санитарно-микробиологической оценке.

**Микрофлора воздуха**

Микрофлора воздуха зависит от микрофлоры почвы и воды, откуда микробы вместе с пылью и капельками влаги увлекаются в атмосферу. Воздух – неблагоприятная среда для размножения микроорганизмов. Отсутствие питательных веществ, солнечные лучи, и высушивание обусловливают быструю гибель микроорганизмов. Вследствие этого в атмосферном воздухе постоянно происходят процессы самоочищения.

Состав микрофлоры воздуха весьма разнообразен – это пигментные сапрофитные бактерии (микрококки, сарцины), актиномицеты, плесневые, дрожжевые грибы и др.

Наибольшее количество микроорганизмов содержит воздух крупных промышленных городов. Воздух же полей, лесов, лугов, а также над водными пространствами, в удалении от населенных пунктов отличается сравнительной чистотой. Значительные изменения претерпевает микрофлора воздуха в зависимости от времени года. Максимальное количество микробов обнаруживают в летнее время, а минимальное – в зимнее время.

**Микрофлора воздуха закрытых помещений** более разнообразна и относительна стабильна. Среди микроорганизмов доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе и патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре. Основной источник загрязнения воздуха патогенными видами – бактерионосители. Уровень микробного загрязнения зависит от плотности населения, активности движения людей, санитарного состояния помещения, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещенности и т. д.

Микроорганизмы в воздухе находятся в состоянии аэрозоля**. Аэрозоль** – коллоидная система, состоящая из воздуха, капелек жидкости или твердых частиц, и включающая различные микроорганизмы. Размер аэрозольных частиц варьируется от 10 до 2000 нм. При чихании может образовываться до 40000 капель.

 Выделяют три основные фазы бактериального аэрозоля:

* **Капельная фаза** состоит из бактериальных клеток, окруженных водно-солевой оболочкой. Диаметр частиц около 0,1мм. Длительность пребывания в воздухе составляет несколько секунд.
* **Мелкоядерная фаза** образуется при высыхании частиц первой фазы. В этой фазе частицы имеют наименьшие размеры, легко перемещаются потоками воздуха, длительно находятся во взвешенном состоянии. Именно так распространяются большинство возбудителей воздушно-капельных инфекций.
* **Фаза «бактериальной пыли»** состоит изкрупных, быстро оседающих частиц, образующие пыль, способную подниматься в воздух.

Материал по теме «Микрофлора тела животных» представлен в электронном учебнике Р.Г. Госманова «Микробиология» стр. 135-139

# Задание:

Изучить и написать конспект:

1. Микрофлора почвы
2. Микрофлора воды
3. Микрофлора воздуха
4. Микрофлора тела животного

# Список литературы

1. Микробиология: Учебное пособие. — 2е изд., стер. —СПб.: Издательство «Лань», 2017. — 496 с. — (Учебники для вузов. Специальная литература).