

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ (НИ ТГУ)

Институт биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства
(Биологический институт)

УТВЕРЖДЕНО:
Директор
Д.С. Воробьев

Оценочные материалы по дисциплине

Культивирование микроорганизмов

по направлению подготовки / специальности

35.03.04 Агрономия

Направленность (профиль) подготовки/ специализация:
Агробиология

Форма обучения
Очная

Квалификация
Агроном/ Агроном по защите растений

Год приема
2024

СОГЛАСОВАНО:
Руководитель ОП
А.С. Бабенко

Председатель УМК
А.Л. Борисенко

Томск – 2024

1. Компетенции и индикаторы их достижения, проверяемые данными оценочными материалами

Целью освоения дисциплины является формирование следующих компетенций:

ПК-1 Способен разрабатывать системы мероприятий по повышению эффективности производства продукции растениеводства.

ПК-4 Способен к разработке экологически обоснованной интегрированной системы защиты растений с учетом прогноза развития вредных объектов и фактического фитосанитарного состояния посевов для предотвращения потерь урожая от болезней, вредителей и сорняков (для профессионального модуля – Защита растений).

Результатами освоения дисциплины являются следующие индикаторы достижения компетенций:

РОПК-1.1 Осуществляет сбор информации, необходимой для разработки элементов системы земледелия и технологий возделывания сельскохозяйственных культур.

РОПК-4.1 Определяет оптимальные виды, нормы и сроки использования химических и биологических средств защиты растений для эффективной борьбы с сорной растительностью, вредителями и болезнями.

2. Оценочные материалы текущего контроля и критерии оценивания

Элементы текущего контроля:

- блиц опросы;
- тесты;
- решение задач;
- аналитическая работа с литературой, и проработка списка дополнительных вопросов по темам дисциплины;

Варианты тестовых заданий (РОПК-1.1.)

– Микроорганизмы, не способные существовать без кислорода:

1. аэробы 2. анаэробы 3. облигатные аэробы 4. аэрофилы

Ответ: 3

– Питательные среды, которые дают возможность быстро отличить одни виды бактерий от других, называют:

1. натуральными 2. дифференциально-диагностическими
3. полусинтетическими 4. синтетическими

Ответ: 2

– В общем случае химическая формула элементного состава клетки и стехиометрические коэффициенты в уравнении зависят от:

1. материально-технической базы лаборатории 2. состава питательной среды
3. состава питательной среды и условий культивирования 4. условий культивирования

Ответ: 3

Критерии оценивания: тест считается пройденным, если обучающий правильно ответил, как минимум, на 60 % вопросов.

Примеры задач (РОПК-4.1):

Задача 1

– Пересчитайте количество реактивов питательной среды Чапека с 1 л на 400 мл. Для чего применяется данная питательная среда, и какие особенности ее приготовления?

Ответ: 20 г. В основном для культивирования грибов. Так как среда содержит углеводы, то условия ее стерилизации – не более 0,5 ати (112 °С).

Задача 2

– После заполнения камеры Горяева–Тома суспензией конидий *Trichoderma harzianum*, разведенной в 10 раз и подсчета клеток в 10-ти больших квадратах, получены следующие результаты (Таблица). Рассчитайте титр исходной суспензии конидий гриба.

Ответ: $2,4 \times 10^6$ КОЕ / мл

Критерии оценивания:

Результаты решения задач определяются оценками «отлично», «хорошо», «удовлетворительно», «неудовлетворительно».

Оценка «отлично» выставляется, если все задачи решены без ошибок, иллюстративный материал (рисунки, таблицы) оформлены грамотно, даны все пояснения.

Оценка «хорошо» выставляется, если все задачи решены без ошибок, иллюстративный материал (рисунки, таблицы) оформлены грамотно.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, если Студент знает теоретический материал и может рассказать ход решения задач.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется, если задачи не решены, Студент не знает теоретический материал и не хочет вникать и решать задачи.

Примерный перечень вопросов блиц опросов (РОПК-1.1, РОПК-4.1):

1. Назовите значение микроорганизмов для биосферы?
2. Назовите ключевой момент в понимании значения микроорганизмов и роли микроорганизмов.
3. В чем важность получения чистых культур микроорганизмов?
4. Дайте понятие термину “микроорганизм” и назовите примеры.
5. Назовите и поясните, по каким принципам построены современные классификации живых организмов.
6. Какой подход преобладает в систематике микроорганизмов?
7. Назовите основные принципы номенклатуры живых организмов.
8. Назовите принципы деления всех живых организмов в современной систематике.
9. Назовите основные отличия организмов по принципу клеточной организации.
10. На чем основана современная филогенетическая система классификации прокариот?
11. Дайте понятие штамму и изоляту.
12. Дайте понятие изоляту
13. Что такой клон?
14. Что такое депонирование?
15. Дайте понятие чистой культуре.
15. Дайте понятие накопительной культуре
16. В чем заключаются элективные условия, для чего и как их создают?
17. Что такое посев?
18. Что такое посев и пересев?
19. Что такое инкубация?
20. Перечислите требования к питательной среде для культивирования микроорганизмов.
21. Дайте классификацию микроорганизмов по отношению к источнику углерода.
22. Назовите основные элементы питания микроорганизмов.
23. Что такое факторы роста. Назовите их. Дайте определение микроорганизмов по требованию в среде к факторам роста.
24. Дайте классификацию микроорганизмов по требованию к количеству питательного субстрата в среде обитания.

25. Назовите способы получения твердой (плотной) питательной среды. Какой способ лучше и почему?
26. Назовите главные факторы, влияющие на стабильность питательной среды.
27. Назовите основные факторы, влияющие на рост и развитие микроорганизмов.
28. Назовите основные физические и химические факторы, влияющие на рост микроорганизмов.
29. Классификация микроорганизмов по отношению к температуре среды.
30. Значение осмотического давления для микробной клетки.
31. Что будет если поместить культуру микроорганизмов в стерильную дистиллированную воду?
32. Что такое рН среды и отношение микроорганизмов к кислотности среды?
33. Отношение микроорганизмов к кислороду.
34. Отношение микроорганизмов к влажности.
35. Дайте определение понятия «рост клетки».
36. Дайте определение понятия «размножение микроорганизмов».
37. Назовите наиболее распространенные способы размножения микроорганизмов.
38. Возможен ли бесконечный рост какой-либо популяции? Аргументируйте свой ответ.
39. Что такое время генерации и от чего оно зависит? Приведите примеры.
40. Как определяется величина популяции?
41. Опишите рост популяции в периодической культуре.
42. Опишите кривую роста культуры микроорганизмов в периодическом глубинном культивировании.
43. От чего зависит длительность лаг-фазы, и можно ли ее регулировать?
44. Назовите условия роста биомассы в процессе культивирования.
45. Какой показатель позволяет оценить физиологическое состояние роста культуры?
46. Что такое удельная скорость роста, и как ее вычислить?
45. Чему равна удельная скорость роста *Bacillus subtilis* 26 D, если прирост биомассы 25% в час?
46. Какая связь между мальтузианским параметром и периодом удвоения?
47. Приведите примеры филаментозных организмов.

Критерии оценивания: ответ засчитан, если студент четко и по существу дал ответ в течение минуты без подсказок, наводящих вопросов и использования современных цифровых источников и бумажных носителей.

Примерный перечень вопросов по темам дисциплины (РОПК-1.1, РОПК-4.1):

Тема 1. Общие вопросы курса

1. Назовите периоды развития микробиологии.
2. Назовите основные направления современной микробиологии.
3. Перечислите основные методы микробиологических исследований.
4. Перечислите основные этапы исторического развития научного культивирования микроорганизмов.
5. Перечислите основные группы микроорганизмов.
6. Назовите ключевой момент в понимании значения микроорганизмов и роли микроорганизмов.

Тема 2. Методы культивирования микроорганизмов

1. Назовите основное оборудование для лабораторного культивирования микроорганизмов. Дайте краткую характеристику каждому прибору (инструменту).

2. Назовите принципы и правила составления питательных сред для культивирования микроорганизмов
3. Перечислите факторы, влияющие на рост и развитие микроорганизмов.
4. Что такое факторы роста. Назовите их. Дайте определение микроорганизмов по требованию в среде к факторам роста
5. Назовите и охарактеризуйте способы культивирования микроорганизмов.
6. На чем основана классификация процессов ферментации, перечислите процессы ферментации.
7. Какие методы стерилизации используют в микробиологии?
8. Режимы стерилизации посуды, инструментов, материалов и питательных сред.
9. Ознакомьтесь с техникой приготовления питательных сред для культивирования микроорганизмов.

Тема 3. Методы определения концентрации микроорганизмов

1. Опишите технику определения количества клеток под микроскопом. Подсчет клеток в счетных камерах.
2. Опишите технику определения числа клеток микроорганизмов высевом на питательные среды (метод Коха).
3. Опишите технику определения количества клеток высевом в жидкие среды (метод предельных разведений).
4. Опишите технику определения биомассы взвешиванием.
5. Опишите технику определения количества клеток и биомассы нефелометрическим методом.
6. Ознакомьтесь с микроскопическими методами исследования в микробиологии.
7. Ознакомьтесь с техникой приготовления микроскопических препаратов.

Тема 4. Рост и размножение микроорганизмов

1. Дайте определение понятия «рост клетки».
2. Дайте определение понятия «размножение микроорганизмов».
3. Назовите наиболее распространенные способы размножения микроорганизмов.
4. Опишите кривую роста и перечислите фазы роста культуры в периодическом режиме.
5. Опишите деление клеток в нелимитированных условиях.
6. Что такое удельная скорость роста и как она рассчитывается?
7. Что такое время удвоения и время генерации?
8. Приведите модификацию кривых роста микроорганизмов и объясните почему это явление может быть.
9. Охарактеризуйте и опишите рост филаментозных микроорганизмов.

Тема 5. Лимитирование роста микроорганизмов. Принцип Либиха. Уравнение Моно

1. Поясните что такое лимитирование роста микроорганизмов?
2. На чем основан принцип Либиха в аспекте клеточного роста?
3. Поясните зависимость удельной скорости роста клеток от концентрации лимитирующего субстрата.
4. Распишите ход эксперимента по нахождению параметров уравнения Моно.

Тема 6. Траты субстрата на клеточный рост. Экономический коэффициент

1. Что такое экономический коэффициент и его значимость?
2. Что такое метаболический коэффициент?
3. Что такое траты на поддержание и всегда ли они бывают?

Тема 7. Основные принципы стехиометрии периодического роста микроорганизмов

1. Дайте понятие биомолю.
2. Использование биомоля и экономического коэффициента при расчетах потребности клеток в кислороде и в минеральных компонентах, примеры расчетов.
3. Как проводится расчет питательных сред для культивирования клеток?

Тема 8. Кинетика ингибирования роста микроорганизмов

1. Дайте понятие ингибированию роста микроорганизмов.
2. Перечислите и охарактеризуйте типы ингибирования.
3. Что такое константа ингибирования и ее значение?
4. Что такое коэффициент нелинейности, его возможные значения и понимание
5. Приведите график ингибирования избытком субстрата.
6. Приведите график ингибирования продуктом метаболизма.
7. Влияние ингибирования на экономический коэффициент.

Тема 9. Непрерывное культивирование клеток микроорганизмов

1. Чем отличается периодическое от непрерывного (проточного) культивирования клеток?
2. Приведите примеры систем непрерывного культивирования микроорганизмов
3. Опишите турбидостат
4. Опишите хемостат
5. Система уравнений Моно для хемостата
6. Анализ стационарного состояния хемостата.
7. Явление аутостабилизации концентрации субстрата.
8. Зависимость стационарной концентрации клеток от величины протока.
9. Влияние условий культивирования на генетическую гетерогенность популяции микроорганизмов.

Тема 10. Промышленное культивирование микроорганизмов

1. Что такое ферментер и его назначение?
2. Перечислите типы ферментеров и охарактеризуйте для чего каждый тип.
3. Расскажите устройство лабораторного биореактора.
4. Основные требования к биореактору.

Критерии оценивания: оценка задания проводится путем собеседования. Оценка «зачтено» ставится в случае, если отвечающий формулирует корректный ответ, опираясь на источники литературы, используя адекватную терминологию, логично выстраивает ответ. Если ответ неверный, не сформулирован четко, приводимые аргументы не опираются на литературные данные, не используется адекватная терминология, ответ не засчитывается.

3. Оценочные материалы итогового контроля (промежуточной аттестации) и критерии оценивания

Промежуточная аттестация в форме зачета проводится в виде тестирования студентов по всему пройденному материалу и решения задач при учете оценки за текущий контроль. Общая продолжительность зачета 45 мин.

Примеры тестов (РОПК-1.1.):

– Время, в течение которого происходит деление клетки -:

1. время генерации 2. максимальная скорость размножения 3. рост

– Период между посевом микроорганизмов (клеток) и началом размножения называется:

1. фазой экспоненциального роста 2. фазой отмирания 3. лаг-фазой 4. фазой стационарного роста

– Поддержание концентрации питательных субстратов для экспоненциального роста культуры происходит в:

1. турбидостате 2. хемостате 3. рН-стате

Примеры задач (РОПК-4.1):

– В результате посева на МПА (мясопептонный агар-агар) из 6-го и 7-го разведений (1:1000000 и 1:10000000) при объеме капли 200 мкл на поверхности питательной среды выросло (в среднем):

– в чашках, засеянных из 6-го разведения – 135 колоний;

– в чашках, засеянных из 7-го разведения – 27 колоний.

Рассчитайте количество микроорганизмов в образце

– После культивирования штамма бактерий *Bacillus subtilis* 26Д в колбе Эрленмейера со 100 мл МПБ и 180 об/мин в течение 48 ч проведен высев на плотную питательную среду и получены следующие результаты:

в разведении 10^{-3} – газон в трех параллельных чашках Петри;

в разведении 10^{-4} – газон в трех параллельных чашках Петри;

в разведении 10^{-5} – 341, 280 и 390 колоний;

в разведении 10^{-6} – 180, 120 и 100 колоний;

в разведении 10^{-7} – 51, 70 и 35 колоний;

Объем капли 50 мкл.

Рассчитайте численность культуры в колбе. На какую питательную среду проведен высев для учета численности культуры?

– Какой биопрепарат для борьбы с болезнями пшеницы в течение вегетационного сезона Вы будете применять, если у вас имеется Битоксибациллин (ББ, д.в. *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*) и Псевдобактерин-2 (Пс-2, д.в. *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393). Определите исходный титр биопрепарата, если известно, что, при высеве на плотную питательную среду из каждого образца получены следующие результаты:

в разведении 10^{-3} – газон в трех параллельных чашках Петри в обоих образцах;

в разведении 10^{-4} – газон в трех параллельных чашках Петри в обоих образцах;

в разведении 10^{-5} – 341, 280 и 390 колоний в образце с Пс-2; и газон в образце с ББ;

в разведении 10^{-6} – 180, 120 и 100 колоний в образце с Пс-2; и 390, 450, 586 колоний в образце с ББ;

в разведении 10^{-7} – 51, 70 и 35 колоний в образце с Пс-2; и 190, 250, 186 колоний в образце с ББ

в разведении 10^{-8} – 15, 25 и 40 колоний в образце с Пс-2; и 50, 63, 36 колоний в образце с ББ. Объем капли 100 мкл.

Какую плотную питательную среду вы будут использовать для учета численности микроорганизмов? Как называется метод учета на плотных питательных средах? Какое разведение возьмете для расчета титра биопрепарата и почему? Разведение десятикратное, почему отличия КОЕ не в 10 раз – это корректно? Как снизить ошибку при определении титра?

Оценка за текущий контроль учитывается при выставлении итоговой оценки. По каждому из видов заданий текущего контроля выставляется оценка «зачтено», если учащийся выполнил или отразил в работе не менее 60 % от планируемого объема

материала. Планируемый объем оглашается заранее и выражается в 100 % (максимально возможное количество правильных ответов (вопросы, задачи и тест)).

Оценка за текущий контроль максимально может достигать 60 баллов (20 баллов тестирование, 20 баллов за решение задач, 20 баллов за блиц-опрос).

При тестировании и решении задач во время сдачи зачета обучающимся необходимо продемонстрировать знания, полученные как во время лекционной части курса, так и во время практических занятий и при самостоятельном проработке тем курса, представленных в ответах на вопросы текущего контроля.

Максимальная оценка за тестирование – 20 баллов, за решение задач – 20 баллов.

Результаты зачета определяются оценками «зачтено» и «не зачтено». Критериями оценки результатов изучения курса на зачете являются следующие показатели: оценка «зачтено» выставляется студенту, набравшему более 80 баллов; оценка «не зачтено» выставляется студенту, набравшему менее 80 баллов.

4. Оценочные материалы для проверки остаточных знаний (сформированности компетенций)

Примеры тестов (РОПК-1.1.):

– Микроорганизмы – мезофилы, если они растут при температуре, °С:

1. от 15 до 40 2. от 0 и до 10 3. от 37 до 50 4. от -50 до 0

Ответ: 1

– Процесс синтеза сложных веществ из простых, протекающий с затратой энергии –

1. метаболизм 2. анаболизм 3. катаболизм

Ответ: 2

– Стерилизация насыщенным паром под давлением –

1. пастеризация 2. тиндализация 3. фламбирование 4. автоклавирование

Ответ: 4

– Полное уничтожение всех форм жизни на поверхности и внутри питательных сред, материалов и оборудования:

1. пастеризация 2. тиндализация 3. стерилизация 4. фламбирование

Ответ: 3

– Как называется биореактор для выращивания посевного материала микроорганизмов?

1. ферментер 2. фитатрей 3. инокулятор

Ответ: 3

– Скорость потребления субстрата культурой в данный момент времени – это

1. удельная скорость роста 2. метаболический коэффициент 3. период удвоения 4. экономический коэффициент

– Укажите правильное написание микроорганизма:

1. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Z-52

2. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

3. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Z-52

4. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Z-52

Ответ: 4

Примеры тестов (РОПК-4.1.)

– Укажите биопрепарат д.в. которого микроорганизм-антагонист к возбудителям болезней растений:

1. *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* Z-52
2. *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393
3. *Chlorella vulgaris*

Ответ: 2

– Какую препаративную форму вы порекомендуете для длительного хранения и транспортировки биопрепарата на основе *Bacillus subtilis*?

1. Жидкая
2. Паста
3. Порошок
4. Суспендиальный концентрат

Ответ: 3

Информация о разработчиках

Акимова Елена Евгеньевна, канд. биол. наук, доцент кафедры сельскохозяйственной биологии БИ ТГУ.