

Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Биологический факультет
Кафедра микробиологии

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

_____ В.А.Прокулевич

«21» февраля 2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета

_____ В.В.Демидчик

«23» февраля 2022 г.

СОГЛАСОВАНО

Председатель

учебно-методической комиссии факультета

_____ В.Д.Поликсенова

«23» февраля 2022 г.

Методология микробиологических исследований

Электронный учебно-методический комплекс
для специальности: 1-31 80 12 «Микробиология»
профилизации «Фундаментальная и прикладная микробиология»

Регистрационный № 2.4.2-20/245

Составитель:

Мандрик М.И., доцент кафедры микробиологии, кандидат биологических наук, доцент.

Рассмотрено и утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ
18.03.2022 г., протокол № 4.

Минск 2022

УДК579.011(075.8)
М 545

Утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ
Протокол № 4 от 18.03.2022 г.

Решение о депонировании вынес:
Совет биологического факультета
Протокол № 7 от 23.02.2022 г.

С о с т а в и т е л ь:

Мандрик Мария Ивановна, доцент кафедры микробиологии, кандидат биологических наук, доцент, биологический факультет, Белорусский государственный университет.

Рецензенты:

лаборатория «Центр аналитических и генно-инженерных исследований», ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» (заведующий лабораторией Валентович Л.Н., кандидат биологических наук, доцент),

Сидоренко А.В., кандидат биологических наук, доцент, ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси».

Методология микробиологических исследований : электронный учебно-методический комплекс для специальности: 1-31 80 12 «Микробиология», профилизации «Фундаментальная и прикладная микробиология» / БГУ, Биологический фак., Каф. микробиологии ; сост. М. И. Мандрик. – Минск : БГУ, 2022. – 35 с. : ил. – Библиогр.: с. 29–30.

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) предназначен для студентов II ступени высшего образования специальности 1-31 80 12 «Микробиология» (профилизация «Фундаментальная и прикладная микробиология»). Содержание ЭУМК посвящено теоретическим и практическим основам постановки цели и задач исследования, правилам работы с литературными источниками, порядку планирования и постановки эксперимента, обработке и графическому представлению данных, оформлению квалификационных работ, научных публикаций и подготовке устных и стендовых докладов.

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА.....	4
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ.....	6
1.1. Основные принципы микробиологических исследований.....	6
1.2. Поиск, обработка и хранение информации.....	6
1.3. Коллекции микроорганизмов	7
1.4. Методы микробиологических исследований.....	9
1.5. Планирование и постановка эксперимента.....	11
1.6. Обработка и анализ экспериментальных данных.....	11
2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ.....	16
2.1. Тематика практических занятий.....	16
Занятие 1. Формирование цели и задач исследования.....	16
Занятие 2. Формирование запроса и поиск научной литературы в электронных базах данных.....	16
Занятие 3. Обработка научной информации. Правила научного цитирования.....	17
Занятие 4. Патентный поиск	17
Занятие 5. Оформление списков использованных источников.....	18
Занятие 6. Способы хранения культур микроорганизмов. Функционирование коллекций микроорганизмов.....	18
Занятие 7. Статистическая обработка данных и графическое представление результатов исследования	19
Занятие 8. Оформление магистерской диссертации	19
Занятие 9. Изложение и аргументация выводов научной работы	20
Занятие 10. Оформление и представление результатов исследования в виде устного и стендового доклада.....	21
3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ.....	25
3.1. Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся	25
3.2. Перечень рекомендуемых средств диагностики.....	25
3.3. Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы студентов	25
3.4. Темы реферативных работ	26
3.5. Примерный перечень вопросов к зачету	26
4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ.....	29
4.1. Рекомендуемая литература	29
4.2. Электронные ресурсы.....	30
Приложение 1. Пример паспорта штамма для депонирования в Белорусскую коллекцию непатогенных микроорганизмов:	31
Приложение 2. Пример оформления модульного стендового доклада.....	35

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по учебной дисциплине «Методология микробиологических исследований» создан в соответствии с ОСВО 1-31 80 12-2019 и учебного плана УВО № G 31-021/уч. 2019 г., утвержденного 11.04.2019 г.

Содержание разделов ЭУМК соответствует образовательным стандартам высшего образования данных специальностей. Учебная дисциплина относится к государственному компоненту учебного плана и входит в модуль «Научно-исследовательская работа по тематике диссертации».

Учебная дисциплина «Методология микробиологических исследований» рассматривает методы теоретического исследования, вопросы моделирования в научных исследованиях и помогает правильно выбрать направление научного исследования. При изучении курса студенты должны научиться производить поиск, накопление и обработку научной информации, а также проводить, обрабатывать и оформлять результаты экспериментальных исследований. Таким образом, учебная дисциплина «Методология микробиологических исследований» тем или иным образом связывает воедино все изучаемые на первой и второй ступени получения высшего образования дисциплины.

Цель учебной дисциплины - формирование у студентов представлений и навыков планирования и постановки научного эксперимента, обработки, анализа и представления полученных данных.

Задачи учебной дисциплины:

- 1) сформировать представления об общих принципах научных исследований;
- 2) ознакомить с принципами выбора направления исследования, обоснования актуальности и новизны;
- 3) сформировать представления об общих принципах постановки цели и формулирования задач исследования;
- 4) сформировать навыки поиска, обработки и хранения информации по теме исследования;
- 5) ознакомить с особенностями формирования и хранения коллекций микроорганизмов;
- 6) рассмотреть основные группы методов, применяющихся в микробиологических исследованиях;
- 7) ознакомить с основами планирования и постановки эксперимента;
- 8) рассмотреть подходы к обработке и анализу полученных экспериментальных данных.

Освоение учебной дисциплины «Методология микробиологических исследований» должно обеспечить формирование следующих компетенций:

УК-1. Быть способным применять методы научного познания (анализ, сопоставление, систематизация, абстрагирование, моделирование, проверка достоверности данных, принятие решений и др.) в самостоятельной

исследовательской деятельности, генерировать и реализовывать инновационные идеи.

УК-2. Быть способным к самостоятельному обучению и разработке новых методов исследования, к инновационной, научно-исследовательской и научно-образовательной деятельности, выдвижению самостоятельных гипотез, работать в условиях неопределенности.

УК-3. Быть способным анализировать актуальность научного исследования, уметь корректно ставить задачи исследований, применять научно обоснованные техники планирования, владеть методиками обработки результатов теоретических и экспериментальных исследований, корректно формулировать выводы, обладать навыками ведения аргументированных дискуссий по научной и профессиональной проблематике.

В ЭУМК существенное место отводится рассмотрению принципов выбора направления исследования, обоснованию актуальности и новизны; формулированию цели и задач исследования; основным группам методов, применяющихся в микробиологических исследованиях; планированию и моделированию эксперимента; особенностям формирования и хранения коллекций микроорганизмов; анализу результатов эксперимента; принципам изложения аргументированных выводов.

Цель ЭУМК – оказание методической помощи студентам при освоении учебной дисциплины «Методология микробиологических исследований», систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговой аттестации, а также написании и представлении магистерской диссертации.

В структуру ЭУМК входит:

1. Теоретический раздел (включает краткий обзор источников к различным разделам учебной дисциплины).

2. Практический раздел (представляет перечень практических работ и рекомендаций для их выполнения).

3. Контроль самостоятельной работы студентов (содержит перечень контрольных мероприятий управляемой самостоятельной работы студентов; методику формирования оценки; темы рефератов и вопросы для подготовки к зачету).

4. Вспомогательный раздел (включает список рекомендуемой литературы).

Работа студента с ЭУМК должна включать ознакомление с тематическим планом учебной дисциплины, представленным в учебной программе учреждения высшего образования, в которой можно получить информацию о тематике лекций, практических занятий и рекомендуемой литературы. Для подготовки к практическим занятиям рекомендуется использовать материалы, представленные в теоретическом и практическом разделах ЭУМК, а также материалы для контроля самостоятельной работы студентов. В ходе подготовки к зачету целесообразно ознакомиться с требованиями к компетенциям по учебной дисциплине, изложенными в учебной программе учреждения высшего образования, а также перечнем вопросов к зачету.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

В теоретическом разделе изложен краткий обзор источников к различным разделам учебной дисциплины в соответствии с программой.

1.1. Основные принципы микробиологических исследований

Понятие научного исследования. Основные признаки научного исследования. Этапы проведения научно-исследовательских работ. Понятие о проблеме, теме, цели, задачах, предмете и объектах исследования. Методы выбора направления и цели научного исследования. Актуальность и научная новизна исследования. Законодательная основа управления наукой и ее организационная структура. Понятие «метода» и «методологии». Основы классификация методов исследований. Информационный поиск и составление методики исследования. Предварительная разработка исследования. Типы планов, порядок планирования. Основные понятия и принципы планирования эксперимента.

Понятие и признаки научного исследования находятся вне зависимости от отрасли науки и лежат скорее в области философии. С теоретической базой методологии научных исследований можно ознакомиться в пособиях:

1. Пономарев, А.Б. Методология научных исследований: учеб. пособие / А.Б.Пономарев, Э.А.Пикулева. - Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2014. - 186 с.

В пособии изложены основы методологии научного исследования, рассмотрены различные уровни научного познания. Освещены этапы проведения научно-исследовательских работ, включая выбор направления исследования, постановку научно-технической проблемы, проведение теоретических и экспериментальных исследований, рекомендации по оформлению результатов научной работы. Также рассмотрены основы изобретательского творчества, патентный поиск.

2. Новиков А.М., Методология научного исследования / А.М.Новиков, Д.А.Новиков - М.: Либроком, 2010. - 280 с.

В книге изложены основы методологии научного исследования (методологии науки, методологии научной деятельности – синонимы) как учения об организации научной деятельности, рассмотрены основные средства и методы научных исследований и фазы научной деятельности.

1.2. Поиск, обработка и хранение информации

Документальные источники информации. Анализ документов. Поиск и накопление научной информации. Электронные формы информационных ресурсов. Патентный поиск. Обработка научной информации, ее фиксация и хранение. Принцип научного реферирования. Правила научного цитирования.

Подробно и с примерами правила научного цитирования приводятся в источнике:

Куликович, Т.О. Основы научного цитирования : метод. пособие для студентов и магистрантов, обучающихся по спец. 1–23 01 04 «Психология» / Т. О. Куликович. – Минск : БГУ, 2010. – 58 с. – Режим доступа: <http://elib.bsu.by/handle/123456789/28742>. – Дата доступа: 10.01.2022.

В методическом пособии содержатся правила оформления ссылок и цитат в научном тексте. Отдельное внимание уделяется особым случаям цитирования (самоцитированию, цитированию по цитате, цитированию старопечатных изданий, цитированию из личной беседы и т.д.). Правила цитирования проиллюстрированы примерами из научных журналов и монографий.

1.3. Коллекции микроорганизмов

Особенности микроорганизмов как объектов исследования. Формирование коллекций микроорганизмов. Способы хранения культур микроорганизмов. Принципы классификации микроорганизмов. Депонирование микроорганизмов. Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов. Всемирная федерация коллекций культур (WFCC).

Всемирная федерация коллекций культур (ВФКК, WFCC, официальный сайт - Режим доступа: <http://www.wfcc.info/>. – Дата доступа: 10.01.2022) – это мультидисциплинарная комиссия Международного союза биологических наук (МСБН, IUBS).

История Федерации началась в 1962 г. с создания Секции коллекций культур (СКК, SCC) Международной ассоциацией микробиологических сообществ. В 1966 г. в СКК было принято решение провести исследование с целью подготовки Всемирного справочника коллекций культур микроорганизмов, который бы включал все коллекции, независимо от размера, из всех частей мира, для того чтобы охватить интересные, уникальные, важные штаммы в небольших коллекциях; чтобы зафиксировать уровень микробиологической науки в разных странах. Наконец, в 1970 г. Секция коллекций культур была преобразована во Всемирную федерацию коллекций культур.

В настоящее время 768 коллекций культур из 76 стран зарегистрированы во Всемирном центре данных о микроорганизмах, а 131 из этих коллекций из 49 стран зарегистрирована в ВФКК в качестве аффилированных членов.

На базе Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» функционирует Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов – БКМ (Режим доступа: <http://mbio.bas-net.by/ob-institute/struktura-instituta/kollekciya-mikroorganizmo/katalog-mikroorganizmov/>. – Дата доступа: 10.01.2022). Она является центральным депозитарием типовых и промышленно ценных штаммов микроорганизмов в

Республике Беларусь. Коллекция включена в реестр объектов, составляющих национальное достояние страны (Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 11.06.2002 № 758), и входит в состав Всемирной федерации коллекций культур (акроним коллекции – ВІМ, номер – 909). В настоящее время коллекционный фонд насчитывает свыше 2 900 культур микроорганизмов различных таксономических групп.

Коллекция осуществляет депонирование бактерий, бактериофагов, дрожжей, мицелиальных грибов, а также генетических конструкций (в клетках штаммов-хозяев) по форме «хранение», «гарантийное хранение», «национальное патентное депонирование».

Приказом № 15 от 30.07.2013 по ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» организациям ГНПО предписано осуществлять депонирование в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов по формам «Национальное патентное депонирование», «Гарантийное хранение», «Хранение» культур микроорганизмов, полученных в ходе выполнения заданий в рамках межгосударственных программ, государственных, региональных, отраслевых и комплексных целевых научно-технических программ, государственных программ комплексных, ориентированных фундаментальных и прикладных исследований - ГКПНИ, ГПФИ, ГПОФИ, ГППИ, ГПНИ, проектов БРФФИ, межгосударственных и государственных контрактов.

В обязательном порядке депонирование в БКМ осуществляется, если на штамм, применение штамма или способ с его использованием планируется подать заявку на выдачу патента на изобретение в патентное ведомство Республики Беларусь (Национальный центр интеллектуальной собственности). После проверки чистоты и жизнеспособности поступающего штамма, депозитору выдается справка (свидетельство) о депонировании культуры установленного образца.

Помимо Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов, включенной в ВФКК, в нашей республике функционирует Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека, государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» (Режим доступа: <https://www.belriem.by/otsentre/spetsializirovannaya-kollektsiya-virusov-i-bakteriy-patogennykh-dlya-cheloveka/>. – Дата доступа: 10.01.2022). Коллекция создана в 1995 г. для сохранения и поддержания штаммов микроорганизмов, выделенных в результате научных исследований, проводимых РНПЦ, начиная с 1960-х гг. Постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 14 декабря 2012 г. № 1152 «Об объявлении коллекций генетических ресурсов растений, штаммов грибов, вирусов и бактерий, которые составляют национальное достояние» Специализированная коллекция РНПЦ эпидемиологии и микробиологии объявлена научным объектом, который составляет национальное достояние Республики Беларусь.

1.4. Методы микробиологических исследований

Принципы отбора образцов из различных (почвенной, водной, воздушной) сред, биологических образцов. Пробоподготовка. Выделение микроорганизмов из окружающей среды. Накопительные культуры. Понятие о некультивируемых видах и формах бактерий. Выделение чистых культур. Микроскопические методы исследования микроорганизмов. Способы окраски микроорганизмов. Световая микроскопия. Флюоресцентно-микроскопические методы исследования микроорганизмов. Фазово-контрастная микроскопия. Электронная микроскопия. Микробиологические (культуральные) методы. Типы сред. Способы культивирования. Подходы к определению оптимальных условий культивирования микроорганизмов. Дифференциально-диагностические тесты. Генетические методы. Конъюгация. Трансформация. Направленный и ненаправленный мутагенез. Молекулярно-генетические методы. Выделение нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из чистых культур микроорганизмов и природных образцов. Использование различных типов ПЦР. Молекулярное клонирование. Гель-электрофорез. Градиентный (температурный и денатурирующий) гель-электрофорез. Электрофорез в импульсном поле. Секвенирование. Рестрикционный анализ. Гибридизационный анализ. Метагеномное секвенирование (принцип метода, назначение). Иммунологические методы. Реакция агглютинации и преципитации. Реакции с участием комплемента. Иммуноферментный анализ (ИФА). Радиоиммунный анализ (РИА). Методы учета численности микроорганизмов. Прямой подсчет клеток микроорганизмов с использованием микроскопических методов. Использование камер Тома-Горяева, Петрова-Хаузера. Непрямой учет живых клеток путем высева и подращивания. Использование селективных сред для количественного учета различных групп микроорганизмов. Методы изучения микроорганизмов в естественных условиях обитания. Микроэлектродный метод. Применение радиоизотопов и стабильных изотопов для измерения активности микроорганизмов. Определение активности специфических ферментов. Биологические методы исследования. Оценка патогенных и вирулентных свойств микроорганизмов. Оценка фитопатогенных свойств микроорганизмов. Методы качественного и количественного анализа микробных метаболитов. Определение антибиотикоустойчивости и устойчивости микроорганизмов к неблагоприятным факторам внешней среды.

При написании магистерской диссертации в главе «Материалы и методы» в обязательном порядке должны быть описаны все среды, реактивы и методы, применявшиеся в исследовании. При этом после описания должна следовать ссылка на источник, в котором описан состав среды или метод, в том числе биоинформатические программы (на сайтах разработчиков, как правило, указываются библиографические данные статьи, на которую они рекомендуют ссылаться). Методы в магистерской диссертации описываются подробно, тогда

как в научных публикациях может использоваться лишь краткое описание метода со ссылкой на источник.

Источником может служить экспериментальная статья, справочное или учебное пособие. Однако, стоит обратить внимание, что в случае использования учебного пособия в качестве источника, рекомендуется, чтобы оно в соответствовало ступени получения образования (**не подходят** учебные пособия для студентов I степени получения высшего образования или ниже).

При использовании модифицированного метода необходимо в обязательном порядке указывать, кем и какие были сделаны модификации.

Методы могут описываться в главе «Результаты и их обсуждение» только в том случае, если они были самостоятельно разработаны или значительно модифицированы, оптимизированы автором диссертации.

Описания базовых микробиологических и молекулярно-биологических методов можно найти в следующих справочных пособиях:

1. Методы общей бактериологии: Пер. с англ. В 3 т. / Под ред. Ф. Герхарда и др. – М.: Мир, 1984.

В первый том вошли методы световой и электронной микроскопии, фракционирования бактериальных клеток, приготовления сред для выращивания микроорганизмов, измерения роста микроорганизмов.

Второй том посвящен генетическим методам и методам изучения обмена веществ бактерий.

В третьем томе рассматриваются систематика и идентификация микроорганизмов, приемы, обеспечивающие безопасность работы в лаборатории, а также методы разведения клеточных суспензий и определения количества биомассы.

2. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии: молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук; пер. с англ. под ред.: А. А. Баева, К. Г. Скрыбина. – М.: Мир, 1984.

Методическое руководство посвящено описанию методов молекулярного клонирования ДНК. Детально изложена техника получения и культивирования штаммов бактерий и вирусов, выделение ДНК бактериофагов и плазмидной ДНК: даны характеристики ферментов, употребляемых при молекулярном клонировании. Рассмотрены также методы выделения, очистки и анализа мРНК, идентификации и анализа клонов, содержащих рекомбинантные ДНК, векторы экспрессии клонированной ДНК в *E. coli*. Безусловно, некоторые методы к настоящему времени уже устарели, однако в монографии можно найти прописи сред и некоторые полезные для микробиолога советы.

Описание большинства современных методов находятся в публикациях, в том числе в специализированных изданиях:

3. *Methods in Microbiology* - периодическое издание [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/methods-in-microbiology>. – Дата доступа: 10.01.2022.

4. Journal of Microbiological Methods - периодическое издание [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-microbiological-methods>. – Дата доступа: 10.01.2022.

1.5. Планирование и постановка эксперимента

Общие сведения об экспериментальных исследованиях. Основные виды эксперимента. Выдвижение рабочей гипотезы. Методика и планирование эксперимента. Моделирование экспериментов в микробиологических исследованиях. Метрологическое обеспечение экспериментальных исследований. Организация рабочего места и правила работы в микробиологической лаборатории. Выбор методов исследования. Положительный и отрицательный контроли в эксперименте. Фиксация результатов. Рабочая документация при проведении эксперимента.

Основные теоретические сведения о планировании эксперимента изложены в пособиях:

1. Пономарев, А.Б. Методология научных исследований: учеб. пособие / А.Б.Пономарев, Э.А.Пикулева. - Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2014. - 186 с.

2. Новиков, А.М., Новиков Д.А. Методология научного исследования / А.М.Новиков, Д.А.Новиков - М.: Либроком, 2010. - 280 с.

Организация рабочего места в микробиологической лаборатории, безусловно, зависит от объектов исследования и специфики работы. При работе с пищевыми объектами, патогенными микроорганизмами к организации рабочих мест применяются повышенные требования безопасности, изложенные в нормативной документации, например:

3. ГОСТ ISO 7218-2015 Межгосударственный стандарт. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200124386>. – Дата доступа: 10.01.2022.

4. Залуцкая О.М., Сагальчик Е.Р., Суркова Л.К. Руководство по лабораторной диагностике туберкулеза. Утв. постановлением Совета Министров РБ от 28.10.2011 г. № 1446.

1.6. Обработка и анализ экспериментальных данных

Статистическая обработка данных. Методы оценки погрешности измерений. Методы графической обработки результатов измерений. Формы графического представления экспериментальных данных. Обсуждение результатов исследования.

Полученные в ходе исследования данные в обязательном порядке подвергаются статистической обработке. Для статистической обработки данных можно использовать программы:

- Пакет анализа Microsoft Excel,
- Calc (LibreOffice),
- Gnumeric,
- SPSS,
- R.

Как правильно сформировать выборку, оформить массив данных, подобрать инструменты для статистического анализа, можно ознакомиться в следующих источниках:

1. Максимов С.И. Excel 2013 и SPSS 21 в решении задач прикладной статистики : учеб.-метод. пособие (с электронным приложением) / С.И.Максимов, Е.М.Зайцева. – 2-е изд., испр. – Минск: РИВШ, 2016. – 132 с. – (серия «Современные информационные технологии»).
2. Савельев В. Статистика и котики. – Москва : Изд-во АСТ, 2018. – 192 с.
3. Наглядная статистика. Используем R! / А. Б. Шипунов [и др.]. - 2014. – 296 с.

Иллюстрации и таблицы следует располагать в работе непосредственно на странице с текстом (**в тексте перед рисунком или таблицей ОБЯЗАТЕЛЬНО должна быть ссылка на них**) после абзаца, в котором они упоминаются впервые, или отдельно на следующей странице. Иллюстрации и таблицы должны быть расположены так, чтобы их удобно было рассматривать без поворота работы или с поворотом по часовой стрелке. Иллюстрации и таблицы, которые расположены на отдельных листах работы, включают в общую нумерацию страниц.

Иллюстрации и таблицы обозначают соответственно словами «рисунок» и «таблица». На все таблицы и иллюстрации должны быть ссылки в тексте работы (см. примеры далее). Слова «рисунок» и «таблица» в подписях и в ссылках на них не сокращают.

Рисунки и таблицы нумеруют **последовательно в пределах всей работы** в целом (сквозная нумерация).

Каждая таблица должна иметь краткий заголовок, который состоит из слова «Таблица», ее порядкового номера и названия, отделенного от номера знаком тире (см. пример ниже). Заголовок следует помещать над таблицей слева, без абзацного отступа. Точка в конце заголовка не ставится.

Названия граф таблицы должны точно отражать значение их содержимого. Если названия в графах слишком громоздки, то можно прибегнуть к обозначениям и сокращениям. В таком случае внизу таблицы необходимо разместить примечания с расшифровкой сокращений и обозначений либо пояснения должны быть даны в предшествующем таблице тексте.

В таблицах допускается использование шрифта на 1-2 пункта меньше, чем основной текст.

Каждый рисунок должен иметь название, которое состоит из слова «Рисунок», его порядкового номера и названия, отделенного от номера знаком тире (см. пример ниже). Название следует помещать под рисунком в центре

строки, **точка в конце не ставится**. Пояснения к рисунку могут быть даны перед названием и выполнены шрифтом на 1-2 пункта меньше, чем основной текст. Если используется схема из англоязычного источника, то все надписи на ней должны быть переведены на язык вашей работы.

НЕ ДОПУСКАЕТСЯ одни и те же результаты представлять в виде рисунка и таблицы.

Текст, предшествующий таблицам и рисункам, должен отражать результат, а не процесс его получения. Необходимо выделить самые основные моменты, на которых должен сосредоточить свое внимание потенциальный читатель.

Количество повторов в эксперименте должно позволять достоверно определить среднее значение и вычислить отклонение. Представление данных должно отражать наличие повторов в эксперименте (отклонения). Отсутствие значений погрешности (отклонений) может говорить:

- о том, что эксперимент был проведен единожды и не может считаться достоверным,

- значения отклонений слишком велики, и экспериментатор намеренно их скрывает,

- экспериментатор не владеет навыками статистической обработки данных.

Если предполагается сравнение, насколько среднее значение одной выборки отличается от другой, то необходим соответствующий статистический анализ, например, определение t-критерия Стьюдента. Чаще всего за достоверные принимаются различия в случае, если $p < 0,05$.

При представлении материала в виде графика/диаграммы область их построения не должна быть перегружена надписями.

Названия осей должны соответствовать изображаемым показателям, указываются единицы измерения.

Пример 1:

Для оценки эффективности биodeградации бактерии культивировали в жидкой минеральной среде М9 с добавлением нефти в качестве единственного источника углерода в концентрации 4 %. Концентрацию остаточных нефтепродуктов оценивали методом флюоресцентной спектроскопии. Как видно из таблицы 1, бактерии *R. pyridinivorans* 5Ar наиболее эффективно деградировали нефть как при умеренной (эффективность биodeградации составляла $(59,79 \pm 8,20)$ % за 14 сут), так и при повышенной (эффективность биodeградации составляла $(55,56 \pm 3,11)$ % за 14 сут) температуре. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования данных микроорганизмов для очистки от нефтяных загрязнений в регионах с умеренным, и жарким климатом.

Таблица 1 - Эффективность деградации нефти бактериями-деструкторами.

Штамм	Эффективность деградации нефти (%) при температуре	
	28 °C	37 °C
<i>R. pyridinivorans</i> AL18	26,85±0,07	2,90±0,70
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap	59,79±8,20	55,56±3,11
<i>R. pyridinivorans</i> 7A-3A-2	35,54±0,29	1,30±0,13

Пример 2:

Природа восстанавливающего агента и механизм синтеза наночастиц биологическим методом не всегда понятен. Описан гипотетический механизм восстановления ионов золота и серебра бактериями *Rhodospseudomonas capsulate* и *Bacillus licheniformis* соответственно [8, 9]. Роль восстанавливающего агента играет экзоклеточная НАД-зависимая нитратредуктаза, восстанавливающая ионы металла. Сходным образом происходит восстановление ионов серебра при использовании культуральной жидкости сумчатого гриба *Fusarium oxysporum* 07SD. Показано, что процесс восстановления включает в себя сопряженные окислительно-восстановительные реакции с участием антрахинонов как электронных переносчиков и НАДФ-зависимой нитратредуктазы [18]. Упрощенный химизм реакции проиллюстрирован на рисунке 1.

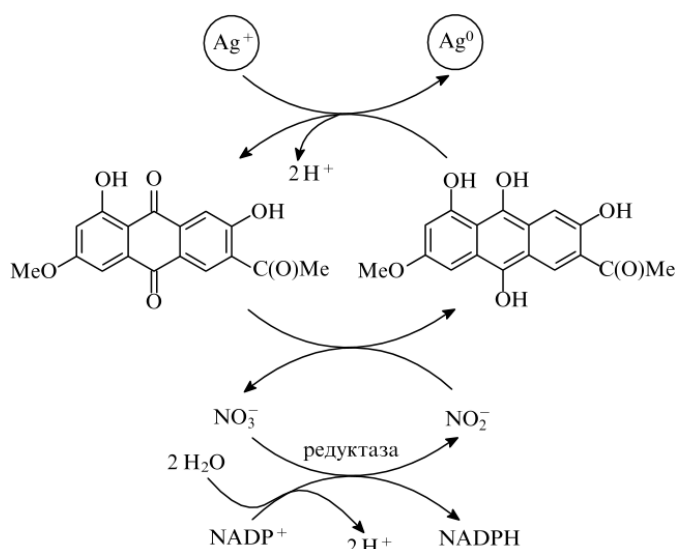
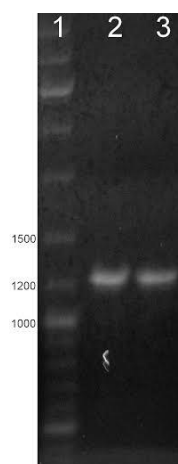


Рисунок 1 – Механизм внеклеточного восстановления ионов серебра штаммом гриба *Fusarium oxysporum* 07SD [18].

Пример 3:

Для более точной идентификации бактерий штамма A2-h2, а также штамма A29-k1 (характеризовался сходными со штаммом A2-h2 физиолого-биохимическими и морфологическими свойствами) был осуществлен сиквенс-анализ гена *rpoC*, который применяется в качестве молекулярного маркера для определения таксономического статуса бактерий. Для этого использовали

праймеры, обеспечивающие амплификацию данной детерминанты у бактерий рода *Rhodococcus*. Как видно на рисунке 2, искомый продукт амплификации был получен при использовании в качестве матрицы тотальной ДНК штаммов A2-h2 и A29-k1.



Номера дорожек соответствуют продуктам амплификации генов *rpoC* при использовании в качестве матрицы тотальной ДНК штаммов:

2 – *Rhodococcus erythropolis* A2-h2; 3 – *R. qingshengii* A29-k1.

Дорожка 1 соответствует маркеру Gene Ruller DNA Ladder Mix (Thermoscientific, EC).

Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов амплификации генов *rpoC* бактерий *Rhodococcus erythropolis* A2-h2 и *R. qingshengii* A29-k1.

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

2.1. Тематика практических занятий

Занятие 1. Формирование цели и задач исследования

Исходя из темы магистерской диссертации, выданной научным руководителем, сформулируйте цель исследования, а также отдельные задачи, которые необходимо решить для достижения этой цели.

Важно! Цель не должна повторять темы магистерской диссертации.

Пример:

Тема магистерской диссертации: СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ РАЗЛИЧНЫХ КЛИМАТИЧЕСКИХ ЗОН

Цель - отобрать эффективные углеводородокисляющие штаммы бактерий, пригодные для биоремедиации загрязненных территорий в экстремальных условиях внешней среды.

Задачи:

1) Отобрать и идентифицировать углеводородокисляющие бактерии различных климатических зон (Беларусь, Ливия, Ирак, Антарктида), оценить их деградативный потенциал;

2) Охарактеризовать сообщества бактерий, изолированные из отдельных загрязненных образцов почвы и грунта;

3) Провести молекулярно-генетический анализ детерминант, определяющих биodeградацию отдельных углеводов нефти;

4) Оценить деградативный потенциал и особенности генетической организации наиболее эффективного штамма-деструктора путем анализа его генома, нуклеотидная последовательность которого определена с помощью полногеномного секвенирования.

Занятие 2. Формирование запроса и поиск научной литературы в электронных базах данных

Используя базы данных и инструменты поиска научной литературы, осуществите подбор источников литературы по теме магистерской диссертации. Общее количество источников должно составлять не менее 20, включая:

- 1-2 обзорные статьи - не старше 5 лет,
- экспериментальные статьи - не старше 10 лет,
- книги и монографии – не старше 10 лет.

Для эффективного поиска используйте ключевые слова по теме вашего исследования.

Для поиска научной литературы могут быть использованы различные инструменты. Глобальный поиск полнотекстовых статей и аннотаций можно осуществить с помощью поисковой системы Google Академия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://scholar.google.com/>. – Дата доступа: 10.01.2022.

Поиск научной литературы, по ключевым словам, можно выполнить в Электронном каталоге научно-технической литературы ВИНТИ РАН

[Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://catalog.viniti.ru/Default.aspx>. – Дата доступа: 10.01.2022. Этот каталог удобен тем, что при вводе ключевых слов на русском языке осуществляется поиск также и англоязычных статей. В каталоге можно ознакомиться с аннотацией статьи и затем при необходимости найти ее полнотекстовый вариант.

PubMed [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. – Дата доступа: 10.01.2022. – крупнейшая база данных биологической и медицинской англоязычной литературы.

Занятие 3. Обработка научной информации. Правила научного цитирования

Задача 1. Ознакомьтесь с правилами научного цитирования.

Подробно с правилами научного цитирования можно ознакомиться в методическом пособии «Основы научного цитирования» Т.О. Кулинкович. Основные пункты, на которые следует обратить внимание:

1) Отличие в оформлении **цитаты** (дословного заимствования фрагмента текста) и **парафразы** (пересказа информации, полученной из одного источника, или обобщения данных, полученных из нескольких источников, с сохранением смысла);

2) Цитирование по вторичным источникам, в случае отсутствия доступа к оригиналу или невозможности его прочтения, если он написан на иностранном языке,

3) Особые случаи цитирования: самоцитирование, цитирование неопубликованных документов, цитирование из личной беседы, цитирование законодательных и ведомственных актов, цитирование закрытых документов;

4) Цитирование источников, написанных на иностранном языке.

Задача 2. Подготовьте обзор литературы, на основе подобранных и изученных на практическом занятии 2 источников. При написании обзора помните о правилах научного цитирования.

Занятие 4. Патентный поиск

Задача 1. Проведите поиск патентов (5-6) по теме магистерского исследования или близкой области.

Для поиска патентов по заданной тематике можно использовать базы данных:

1) ESPACENET [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://worldwide.espacenet.com/patent/>. – Дата доступа: 10.01.2022. – система поиска патентных документов более чем 90 стран мира и международных организаций (включая российские патентные документы);

2) PATENTSCOPE [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://patentscope.wipo.int/search/ru/search.jsf>. – Дата доступа: 10.01.2022. – бесплатная поисковая система, предоставляемая Всемирной организацией

интеллектуальной собственности (ВОИС), которая позволяет получить доступ к миллионам патентных документов;

3) Findpatent.ru [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://findpatent.ru/>. – Дата доступа: 10.01.2022. – патентный поиск, поиск патентов и изобретений РФ и СССР.

Можно также использовать любые другие ресурсы для поиска патентов.

Задача 2. Проведите сравнительный анализ патентных разработок, сформулируйте, в чем заключаются их достоинства и недостатки.

Таблица – Сравнительный анализ патентных разработок.

Название и № патента	Основные характеристики разработки	Преимущества перед аналогами	Недостатки по сравнению с аналогами

Задача 3. Сформулируйте 2-3 задачи, которые еще требуют исследования в данной области, исходя из проанализированных патентов.

Занятие 5. Оформление списков использованных источников

Задача 1. Сформируйте обзор литературы на основании выполненных задач практических занятий 2-5 и во время самостоятельной работы.

Задача 2. Сформируйте список использованных источников с использованием соответствующего программного обеспечения, например, программы Zotero [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.zotero.org>. – Дата доступа: 10.01.2022. Для оформления библиографических ссылок используйте правила, представленные в ГОСТ 7.32–2017 (или в более поздней редакции, актуальной на момент написания работы). Дополнения для правильного оформления списка использованных источников можно найти на форуме биологического факультета [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://bio.bsu.by/freak/viewtopic.php?t=574>. – Дата доступа: 10.01.2022.

Занятие 6. Способы хранения культур микроорганизмов. Функционирование коллекций микроорганизмов

Задача 1. Подготовьте пакет документов для депонирования в Белорусскую коллекцию непатогенных микроорганизмов ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mbio.bas-net.by/ob-institute/struktura-instituta/kollekciya-mikroorganizmo/katalog-mikroorganizmov/>. – Дата доступа: 10.01.2022. - одного из видов продукции:

- ассоциации микроорганизмов,

- штамма бактерии / дрожжевых грибов / мицелиальных грибов,
- штамма генно-инженерно-модифицированного микроорганизма,
- бактериофага.

Пример паспорта штамма бактерии приведен в приложении А.

*Задача 2**. В рамках данного занятия может быть организована ознакомительная экскурсия в лабораторию «Коллекция микроорганизмов» ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси», предусматривающая:

- знакомство с процессом формирования коллекционного фонда микроорганизмов, представляющих интерес для различных областей микробиологии и биотехнологии;

- рассмотрение методов селекции и генно-инженерного конструирования высокоактивных микроорганизмов – продуцентов для создания биопрепаратов нового поколения, которые применяются в лаборатории;

- ознакомление с методами молекулярно-генетической идентификации бактерий, бактериофагов, мицелиальных и дрожжевых грибов, исследованиями в области физиологии и генетики микроорганизмов различных таксономических групп;

- формирование представлений об оптимизации способов длительной консервации микроорганизмов коллекционного фонда;

- рассмотрение процедуры депонирования штаммов микроорганизмов по формам «хранение», «гарантийное хранение», «национальное патентное депонирование»;

- ознакомление с процедурой выдачи культур микроорганизмов по запросам научно-исследовательских учреждений, высших учебных заведений и промышленных предприятий микробиологического профиля.

Занятие 7. Статистическая обработка данных и графическое представление результатов исследования

Оформите результаты своих экспериментов в виде таблицы или графика. Приведите их описание, согласно с приведенными рекомендациями и примерами из раздела 1.6.

Занятие 8. Оформление магистерской диссертации

Оформите макет магистерской диссертации в соответствии с требованиями, предъявляемыми к магистерским диссертациям, изложенными в «Положении об организации итоговой аттестации при освоении содержания образовательных программ высшего образования II ступени в Белорусском государственном университете» от 25.03.2020 № 171–ОД (или более поздней его редакции).

Макет должен содержать все структурные части, характерные для магистерской диссертации:

- титульный лист,
- реферат на русском, белорусском и иностранном (английском / немецком или др.) языке,

- содержание,
- введение,
- обзор литературы,
- материалы и методы исследования,
- результаты и их обсуждение,
- выводы (будут сформулированы на Практическом занятии 9),
- список использованных источников.

Главы «Материалы и методы исследования» и «Результаты и их обсуждение» предоставляются в объеме, выполненном ко времени проведения занятия.

Занятие 9. Изложение и аргументация выводов научной работы

На основании полученных при выполнении магистерского исследования данных необходимо сформулировать 1-2 обоснованных вывода.

Выводы должны содержать конкретные фактические данные, полученные в ходе исследования.

Выводы НЕ должны быть краткой констатацией проведения эксперимента. Характерной ошибкой при написании выводов является перечисление того, что сделано в работе, вместо формулировки результатов исследования.

Выводы должны касаться только того материала, который изложен в работе. Не должно приводиться новой информации, которая не была изложена в работе. Следует соблюдать главный принцип: в выводах нужно идти от частных к более общим и важным положениям.

Пример:

Таким образом, в ходе выполнения работы были охарактеризованы нефтеокисляющие бактерии различных климатических зон (Беларусь, Ливия, Ирак и Антарктида), пригодные для биоремедиации загрязненных территорий в стрессовых условиях. На основании полученных результатов можно сделать следующие **выводы**:

1. Из 51 образца почвы и грунта, изолированных на территории Ливии, Ирака и Антарктиды, с использованием метода накопительных культур отобрано 15 изолятов бактерий - деструкторов нефти и 2 изолята облигатных алканотрофов. Среди 110 углеводородутилизирующих бактерий (выделены ранее из почв Беларуси) выявлено 2 изолята, способных утилизировать нефть (ПЛОХОЙ ВАРИАНТ: ~~Из образцов почвы и грунта были выделены бактерии — деструкторы углеводородов нефти~~);

2. Установлен таксономический статус 19 штаммов бактерий – деструкторов нефти (14 штаммов определены до вида, 5 штаммов – до рода). Из образцов, отобранных на территории всех климатических зон, изолированы генетически однородные бактерии *R. pyridinivorans* (6 штаммов), способные утилизировать нафталин и отличающиеся некоторыми физиолого-биохимическими свойствами (диапазоном pH среды, спектром утилизируемых субстратов, эффективностью деградации нефти). В образцах антарктического

грунта выявлены генетически и физиологически разнородные штаммы *R. erythropolis* и облигатно алканотрофные бактерии *Alkanindiges* sp. Из образцов, отобранных в регионах с жарким климатом, изолированы штаммы спорообразующих бактерий *B. flexus* и *B. licheniformis*, обладающие практически неограниченными адаптивными возможностями (рост при температуре от 18 до 55 °С, рН среды от 4 до 12, 10 % NaCl), а также бактерии *Dietzia* sp., устойчивые к NaCl в концентрации 10 %, и *P. stutzeri*, растущие при 42 °С. В образцах из регионов с повышенной радиацией (Антарктида, Ливия) выявлены *A. radioresistens* и *Deinococcus* sp., устойчивые к ультрафиолетовому облучению (ПЛОХОЙ ВАРИАНТ: Были идентифицированы 19 штаммов бактерий, изучены их температурные диапазоны роста, отношение к рН среды, NaCl и ультрафиолетовому облучению).

Занятие 10. Оформление и представление результатов исследования в виде устного и стендового доклада

Задача 1. Ознакомьтесь с рекомендациями, приведенными ниже и подготовьте стендовый доклад по результатам магистерских исследований.

Стендовый доклад используется как эффективный способ подачи и визуализации данных любого характера.

По форме стендовый доклад схож со стенгазетой или баннером, распечатанными с помощью принтера или плоттера и размещенными на специальной поверхности. Стендовый доклад должен содержать максимальное количество наглядной информации (рисунки, фотографии, графики, схемы, таблицы) и минимальное количество текста. В сравнении с устными докладами он имеет ряд преимуществ и недостатков.

Преимущества:

- изучение доклада может происходить в течение всей постерной сессии;
- автор имеет возможность непосредственного общения с заинтересованным слушателем;
- докладчик меньше волнуется.

Недостатки:

- необходимо приложить усилия, чтобы заинтересовать посетителей своей работой;
- на протяжении постерной сессии докладчик не должен отходить от стенда, поэтому не может ознакомиться с работами других авторов;
- на создание качественного информативного стенда уходит не только время, но и деньги (материалы, распечатка).

Рекомендации по оформлению:

- располагать информацию вертикально на листе формата А0 или А1 (если организаторы не предъявляют других требований к размеру и расположению носителей);
- использовать минимальное количество текста (не более 25 % от всего материала),

- отдавать предпочтение простым предложениям и спискам;
- для выделения названий разделов и подразделов использовать **жирный шрифт** или буквы большего размера;
- размер шрифта должен обеспечивать возможность чтения с расстояния 1-2 м (основной текст не менее 24 пт, заголовки – 28–44 пт);
- использовать шрифты класса sans serif, к которым относятся Helvetica, Arial, Calibri, Franklin Gothic и др. (больше шрифтов можно найти на сайте Font Squirrel [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fontsquirrel.com/fonts/list/classification/sans%20serif/50/> - Дата доступа: 10.01.2022.). В отличие от традиционно используемого в документах Times New Roman, они лучше подходят для чтения на расстоянии;
- цвет текста должен контрастировать с фоном (темный текст на светлом фоне и наоборот);
- графический материал должен быть разнообразным: таблицы, рисунки, диаграммы, фотографии;
- иллюстрации должны иметь достаточное разрешение (150-300 точек на дюйм).

Подготовка постера:

- Чтобы эффективно расположить всю необходимую информацию на постере, целесообразно сначала структурировать ее на листе бумаги или в графическом редакторе. Для того, чтобы добиться идеального соотношения и расположения текста и иллюстраций, лучше сделать несколько вариантов макета;
- Располагать информацию следует таким образом, чтобы постер читался, начиная от левого верхнего угла и заканчивая нижним правым; вспомогательные разделы (контактная информация, благодарности, литература) можно расположить внизу постера, используя более мелкий шрифт;
- В верхней части постера необходимо поместить название, фамилию, имя автора(ов);
- Поскольку при просмотре стенда зритель в первую очередь обращает внимание на верхний левый угол и центр, самую важную информацию целесообразно размещать именно в этих частях стенда;
- В правом верхнем углу обычно располагают фотографию автора, эмблему заведения, другой иллюстративный материал.

В зависимости от способа размещения информации постеры могут быть:

- полосные (ширина полосы порядка 40 знаков);
- модульные, где данные структурируют в вертикальных столбцах или отдельных блоках (пример такого постера приведен в Приложении Б).

Графические редакторы для создания постера:

- PowerPoint,
- Photoshop,
- QuarkXPress,
- Corel Draw,

- Illustrator,
- Microsoft Office Publisher.

После оформления постера его рекомендуется сохранить в формате: pdf, tiff или jpeg, чтобы при открывании на другом ПК не потерять форматирование.

Задача 2. Подготовьте презентацию и устный доклад по результатам своих исследований, следуя приведенным ниже рекомендациям.

Основными разделами в презентации к устному докладу являются:

1) Титульная страница (первый слайд), где отражается следующая информация:

- Организация (учебное заведение, предприятие и т.д.);
- Тема доклада (название);
- Фамилия, имя и отчество докладчика (полностью);
- Информация о научном руководителе (если работа выполнена под чьим то руководством) и/или соавторах работы;
- Контактные данные (e-mail, адрес сайта, телефон),
- Год и место представления результатов.

2) Введение / Актуальность работы. Кратко (на 1-2 слайдах) приводится обоснование актуальности исследования. В обязательном порядке приводятся иллюстрации.

3) Основная часть презентации (обычно содержит несколько подразделов, соответственно, несколько слайдов). Слайды основной части в основном должны содержать иллюстративный материал: таблицы, графики, рисунки. Количество текста должно быть минимальным.

4) Заключение / Выводы. В конце презентации в обязательном порядке приводится слайд с выводами.

5) Последним слайдом презентации, как правило служит благодарность за внимание.

В случае представления результатов исследования на конференции в конце презентации целесообразно разместить слайд со списком соавторов и благодарностями.

При оформлении презентации следует учитывать некоторые правила:

1. Текст и заголовки разных слайдов должны быть оформлены в одном стиле. Если выбрали для заголовков синий цвет и шрифт Cambria, то на всех слайдах заголовки должны быть выполнены таким шрифтом. Как и в случае стендового доклада, используются шрифты класса sans serif.

2. Цвет фона презентации должен позволять отчетливо видеть текст и иллюстративный материал. Лучший фон – **белый** (или близкий к нему), а лучший цвет текста – **черный** (или очень темный нужного оттенка).

3. Размер шрифта для заголовка слайда должен быть не менее 24 пт, а лучше от 32 пт и выше.

4. Размер шрифта для основного текста лучше выбрать от 24 до 28 пт (зависит от выбранного типа шрифта).

5. Менее важный материал (дополнения и примечания) можно оформить шрифтом 20-24 пт. Не рекомендуется использовать шрифты менее 20 пт, т.к. текст не сможет быть прочитан на большом расстоянии.

3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

3.1. Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

При изучении учебной дисциплины рекомендуется использовать следующие формы самостоятельной работы:

- поиск (подбор) и обзор литературы и электронных источников по индивидуально заданной проблеме курса;
- выполнение домашнего задания;
- работы, предусматривающие решение задач и выполнение упражнений, выдаваемых на практических занятиях;
- изучение материала, вынесенного на самостоятельную проработку;
- подготовка к практическим занятиям;
- подготовка к зачету;
- научно-исследовательские работы;
- статистическая обработка данных, полученных во время практических занятий, анализ результатов с привлечением литературных источников;
- подготовка и написание рефератов на заданные темы;
- подготовка презентаций и стендовых докладов;
- подготовка к участию в конференциях и конкурсах.

3.2. Перечень рекомендуемых средств диагностики

Учебным планом специальности 1-31 80 12 Микробиология в качестве формы итогового контроля по учебной дисциплине рекомендован зачет. Для оценки профессиональных компетенций студентов используется следующий диагностический инструментарий:

- тест - выполнение заданий в тестовой форме;
- коллоквиум - устный опрос на лабораторных занятиях;
- отчет - отчет в устной или письменной форме о проделанной работе;
- открытое эвристическое задание - предусматривает решение исследовательской задачи в рамках курса (форма контроля - решения, представленные на образовательном портале LMS Moodle);
- реферат - защита подготовленного студентом реферата;
- презентация - подготовка презентаций для представления результатов НИР по теме магистерской диссертации.

3.3. Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы студентов

Рекомендуется в качестве управляемой самостоятельной работы (УСР) предоставлять студентам открытые эвристические задания, предусматривающие решение практической исследовательской задачи.

Форма контроля - задания, представленные на образовательном портале LMS Moodle.

Вариант УСР:

1. Проведите статистический анализ полученных вами экспериментальных данных и оформите их графически и сделайте вывод.

2. Напишите тезисы доклада (2500 знаков, не учитывая названия, авторов, организации, списка использованных источников) по направлению своего научного исследования. Тезисы должны включать следующие структурные элементы: название, авторы, организация, введение (2-3 предложения с обоснованием актуальности проводимых исследований), цель, объекты исследования, методы (краткое перечисление использованных методик), результаты, выводы, список использованных источников.

3. Проведите патентный поиск по заданной теме. Сформулируйте нерешенные проблемы и вероятную тему исследования.

3.4. Темы реферативных работ

Темы реферативных работ должны соответствовать темам магистерских диссертаций, выполняемых студентами. Ниже представлен примерный перечень направлений исследований, ведущихся на кафедре микробиологии биологического факультета БГУ:

1. Изучение молекулярно-генетических особенностей организации структурных и регуляторных генов, кодирующих белки теплового шока у бактерий;

2. Разработка системы направленного мутагенеза природных бактерий и отбор мутантных вариантов с нарушенной и измененной экспрессией генов;

3. Функциональный анализ мутантных вариантов бактерий с нарушенной и измененной экспрессией генов;

4. Молекулярно-генетический и функциональный анализ плазмид для установления их роли в способности природных бактерий существовать в условиях стресса и обеспечивать горизонтальный перенос генов;

5. Клонирование и экспрессия гетерологичных генов в клетках бактерий *Escherichia coli*;

6. Разработка лечебно-профилактических средств для сельскохозяйственных и домашних животных на основе рекомбинантных белков.

3.5. Примерный перечень вопросов к зачету

1. Понятие научного исследования. Основные признаки научного исследования.

2. Этапы проведения научно-исследовательских работ.

3. Понятие о проблеме, теме, цели, задачах, предмете и объектах исследования.

4. Методы выбора направления и цели научного исследования.

5. Актуальность и научная новизна исследования.

6. Законодательная основа управления наукой и ее организационная структура.

7. Понятие «метода» и «методологии». Основы классификация методов исследований.
8. Информационный поиск и составление методики исследования.
9. Предварительная разработка исследования. Типы планов, порядок планирования. Основные понятия и принципы планирования эксперимента.
10. Документальные источники информации. Анализ документов. Поиск и накопление научной информации.
11. Электронные формы информационных ресурсов.
12. Патентный поиск.
13. Обработка научной информации, ее фиксация и хранение. Принцип научного реферирования. Правила научного цитирования.
14. Особенности микроорганизмов как объектов исследования.
15. Составление коллекций микроорганизмов.
16. Способы хранения культур микроорганизмов.
17. Принципы классификации микроорганизмов.
18. Депонирование микроорганизмов. Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов. Всемирная федерация коллекций культур (WFCC).
19. Принципы отбора образцов из различных (почвенной, водной, воздушной) сред, биологических образцов. Пробоподготовка.
20. Выделение микроорганизмов из окружающей среды. Накопительные культуры.
21. Понятие о некультивируемых видах и формах бактерий. Выделение чистых культур.
22. Микроскопические методы исследования микроорганизмов. Способы окраски микроорганизмов.
23. Микробиологические (культуральные) методы исследования.
24. Генетические методы. Конъюгация. Трансформация. Направленный и ненаправленный мутагенез.
25. Молекулярно-генетические методы исследования.
26. Применение иммунологических методов в микробиологических исследованиях.
27. Методы учета численности микроорганизмов.
28. Методы изучения микроорганизмов в естественных условиях обитания.
29. Биологические методы исследования. Оценка патогенных и вирулентных свойств микроорганизмов.
30. Оценка фитопатогенных свойств микроорганизмов.
31. Методы качественного и количественного анализа микробных метаболитов.
32. Общие сведения об экспериментальных исследованиях. Основные виды эксперимента.
33. Выдвижение рабочей гипотезы. Методика и планирование эксперимента.
34. Моделирование экспериментов в микробиологических исследованиях.

35. Метрологическое обеспечение экспериментальных исследований.
36. Организация рабочего места и правила работы в микробиологической лаборатории.
37. Выбор методов исследования. Виды контрольных образцов и их назначение.
38. Фиксация результатов. Рабочая документация при проведении эксперимента.
39. Статистическая обработка данных. Методы оценки погрешности измерений.
40. Методы графической обработки результатов измерений. Формы графического представления экспериментальных данных. Обсуждение результатов исследования.
41. Формы представления результатов научных исследований.
42. Понятие и структура магистерской диссертации. Оформление магистерской диссертации.
43. Изложение и аргументация выводов научной работы.
44. Подготовка научного доклада и презентации. Оформление и представление стендового доклада.

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

4.1. Рекомендуемая литература

Основная

1. Положение об организации итоговой аттестации при освоении содержания образовательных программ высшего образования II ступени в Белорусском государственном университете от 25.03.2020 № 171–ОД.
2. Максимов С.И. Excel 2013 и SPSS 21 в решении задач прикладной статистики : учеб.-метод. пособие (с электронным приложением) / С.И.Максимов, Е.М.Зайцева. – 2-е изд., испр. – Минск: РИВШ, 2016. – 132 с. – (серия «Современные информационные технологии»).
3. Савельев В. Статистика и котики. – Москва : Изд-во АСТ, 2018. – 192 с.

Дополнительная

4. Залуцкая О.М., Сагальчик Е.Р., Суркова Л.К. Руководство по лабораторной диагностике туберкулеза. Утв. постановлением Совета Министров РБ от 28.10.2011 г. № 1446.
5. Новиков, А.М., Новиков Д.А. Методология научного исследования. - М.: Либроком, 2010. - 280 с.
6. Кулинкович, Т.О. Основы научного цитирования : метод. пособие для студентов и магистрантов, обучающихся по спец. 1–23 01 04 «Психология» / Т. О. Кулинкович. – Минск : БГУ, 2010. – 58 с. – Режим доступа: <http://elib.bsu.by/handle/123456789/28742>. - Дата доступа: 10.01.2022.
7. Маниатис, Т. Методы генетической инженерии: молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук; пер. с англ. под ред.: А. А. Баева, К. Г. Скрыбина. – М.: Мир, 1984.
8. Методы общей бактериологии: Пер. с англ. В 3 т. / Под ред. Ф. Герхарда и др. – М.: Мир, 1984.
9. Пономарев А.Б., Пикулева Э.А. Методология научных исследований: учеб. пособие. - Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2014. - 186 с.
10. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки. - 2009. - №4. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/metody-dlitelnogo-hraneniya-kollektsionnyh-kultur-mikroorganizmov-i-tendentsii-razvitiya>. - Дата доступа: 10.01.2022.
11. Наглядная статистика. Используем R! / А. Б. Шипунов [и др.]. - 2014. – 296 с.
12. Ilstrup, D.M. Statistical methods in microbiology / D.M. Ilstrup // Clin Microbiol Rev. - 1990. - Vol. 3, № 3. - P. 219-226.

4.2. Электронные ресурсы

1. Образовательный портал БГУ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://edubio.bsu.by>. – Дата доступа: 10.01.2022.
2. Электронная библиотека БГУ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://elib.bsu.by>. – Дата доступа: 10.01.2022.
3. Zotero [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.zotero.org/>. – Дата доступа: 10.01.2022.
4. Methods in Microbiology - периодическое издание [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/methods-in-microbiology>. – Дата доступа: 10.01.2022.
5. Journal of Microbiological Methods - периодическое издание [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.journals.elsevier.com/journal-of-microbiological-methods>. – Дата доступа: 10.01.2022.
6. Google Академия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://scholar.google.com/> – Дата доступа: 10.01.2022.
7. PubMed [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. – Дата доступа: 10.01.2022.
8. Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://mbio.bas-net.by/ob-institute/struktura-instituta/kollekciya-mikroorganizmo/katalog-mikroorganizmov/>. – Дата доступа: 10.01.2022.
9. Что такое стендовые доклады? [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://edunews.ru/students/info/chtotakoe-stendovyyj-doklad-i-kakovy-pravila-ego-oformleniya.html>. – Дата доступа: 10.01.2022.
10. Sans Serif Fonts [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fontsquirrel.com/fonts/list/classification/sans%20serif/50>. – Дата доступа: 10.01.2022.
11. Описательная статистика в EXCEL [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://excel2.ru/articles/opisatel'naya-statistika-v-ms-excel>. – Дата доступа: 10.01.2022.
12. Специализированная коллекция вирусов и бактерий, патогенных для человека, государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.belriem.by/o-tsentre/spetsializirovannaya-kollektsiya-virusov-i-bakteriy-patogennykh-dlya-cheloveka/>. – Дата доступа: 10.01.2022.
13. ГОСТ ISO 7218-2015 Межгосударственный стандарт. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200124386>. – Дата доступа: 12.01.2022.

Пример паспорта штамма для депонирования в Белорусскую коллекцию непатогенных микроорганизмов:

БЕЛОРУССКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ
НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
БИМ

Институт микробиологии НАН Беларуси
220141 г. Минск, ул. акад. В.Ф. Купревича, 2
Тел.: +375 (17) 267-86-20
+375 (17) 268-61-21
+375 (17) 399-43-71
Факс: +375 (17) 267-47-66
e-mail: collection@mbio.bas-net.by

ПАСПОРТ ШТАММА МИКРООРГАНИЗМА
(ДЛЯ БАКТЕРИЙ)

*Номер БИМ _____

*Дата депонирования в БКМ _____

1. Родовое и видовое название культуры (с указанием автора, впервые описавшего вид)
** *Rhodococcus qingshengii* Xu et al. 2007
2. Номер или наименование штамма A29-k1
3. Родословная штамма, номер штамма в другой коллекции (если он существует)

4. Способ получения штамма (выделен из природных источников, где, когда, кем; получен селекционным путем; получен как мутант и т.п.) Выделен из грунта сухого (выходы коренных пород возле ДЭС (20 кВ), район Гора Вечерняя, оазис Холмы Тала, Восточная Антарктида), 2013 г., Чернявская М.И., Титок М.А.
5. Где идентифицирована культура (наименование и адрес организации), данные, на основании которых было сделано заключение о родовой/видовой принадлежности культуры (Штаммы, выделенные из природных источников, принимаются на депонирование только при наличии сведений об идентификации с помощью анализа *16(18)S* рНК. Данные, на основании которых было сделано заключение о родовой/видовой принадлежности культуры, должны прилагаться к паспорту. Необходимо представить нуклеотидную последовательность (длинной не меньше 500 пар оснований) фрагмента ДНК, кодирующего ген *16(18)S* рНК, указать праймеры, использованные в работе, привести таблицу гомологии секвенированного фрагмента ДНК депонируемого штамма с предполагаемым видом и наиболее близкими видами. Степень идентичности секвенированного фрагмента ДНК с заявленным видом должна быть не менее 97%. Если нуклеотидная последовательность секвенированного фрагмента ДНК депонируемого штамма имеет степень идентичности 97% и выше с несколькими видами близкородственных микроорганизмов, то соответствие заявленному виду необходимо дополнительно подтвердить оценкой биохимических и физиологических признаков.):

Последовательность гена 16S рPHK:

GAGCGGTAAGGCCTTTCGGGGTACACGAGCGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGG
GTGATCTGCCCTGCACTTCGGGATAAGCCTGGGAAACTGGGTCTAATACCGGATATGA
CCTCCTATTGCATGGTGGGTGGTGGAAAGATTTATCGGTGCAGGATGGGCCCGCGGCC
TATCAGCTTGTTGGTGGGGTAATGGCCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGACCTGAG
AGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCGCGTGAGGGATG
ACGGCCTTTCGGGTTGTAAACCTCTTTCAGCAGGGACGAAGCGCAAGTTACGGTACCTG
CAGAAGAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCAAG
CGTTGTCCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGAGTTTCGTAGGCGGTTTGTTCGCGTCTGTTTGTGA
AAACCAGCAGCTCAACTGCTGGCTTGCAGGCGATACGGGCAGACTTGAGTTCTGCAGG
GGAGACTGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCAGGAGGAACACCGGT
GGCGAAGGCGGGTCTCTGGCAGTACTGACGCTGAGGAACGAAAGCGTGGGTAGCGAA
CAGGATTAGATACCCTGGTAGTTCACGCCGTAACGGTGGGCGCTAGGTGTGGGTTCT
TCCACGGAATCCGTGCCGTAGC.

Продукт амплификации получали с использованием стандартных праймеров 8f (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) и 1492r (TACGGHTACCTTGTTACGACTT) (16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study / W. G. Weisburg [et al.] // J. Bacteriol. – 1991. – Vol. 173, № 2. – P. 697–703.). Секвенирование осуществляли по методу Сэнгера.

Таблица – Сравнение последовательности с известными в базе данных ГенБанк NCBI (типовые штаммы).

Описание	Покрытие	E	Процент идентичности	Регистрационный номер
Rhodococcus qingshengii strain JCM 15477 (T) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100%	0.0	99.09%	MK424306.1
Rhodococcus qingshengii JCM 15477 strain djl-6 16S ribosomal RNA, partial sequence	100%	0.0	99.09%	NR_043535.1

6. Культурально-морфологические особенности штамма На минимальной среде М9 с гексадеканом колонии белого цвета, матовые, на полноценной среде LB колонии выпуклые, глянцевые, слизистые от кремового до розового цвета.

7. Область применения штамма Природоохранные биотехнологии: в качестве агента биоремедиации сред загрязненных углеводородами, в качестве продуцента биобезопасных ПАВ

8. Продукт, синтезируемый штаммом (если есть) Трегалолипидные сурфактанты.

9. Активность (продуктивность) штамма, другие производственные показатели (если есть) При культивировании штамма R. erythropolis A29-k1 в жидкой минимальной среде М9 с добавлением нефти (4 % об/об) степень биodeградации нефти составила 61,83 %. Штамм способен к росту на дизельном топливе, керосине, нонане, гексане, гексадекане, этилбензоле, толуоле, о-ксилоле, феноле, антрацене.

10. Способ определения активности штамма с указанием метода Способность утилизировать нефть определяли в жидкой минимальной среде М9 с добавлением нефти (4 % об/об). Культивирование проводили при 28 °С с аэрацией. Степень деструкции нефти оценивали через 21 сутки с помощью флюоресцентной спектроскопии (длина волны возбуждения – 330 нм, эмиссии – 273 нм).

Способность утилизировать нефтепродукты и отдельные углеводороды определяли по способности расти на плотной минимальной среде М9 с добавлением в качестве единственного источника углерода следующих соединений: дизельное топливо, керосин, гексадекан, фенол (0,1 %); нафталин, толуол, гексан, нонан, этилбензол, о-, м-, п-ксилолы (пары); фенантрен, антрацен, бифенил, флюорен, пирен (10 % раствор в трихлорметане вносили в среду в конечной концентрации 0,02 %).

11. Способ, условия и состав сред для длительного хранения штамма: Хранение под минеральным (вазелиновым) маслом в столбиках 0,7 % полноценной агаризованной среды LB (1-2 года); лиофильное высушивание с 20 % обезжиренным молоком.

12. Способ, условия и состав сред для культивирования штамма: Поверхностное культивирование на плотных питательных средах. Полноценная среда LB или минимальная среда М9 (Миллер, 1976) с 1,5 % агара. При культивировании на среде М9 в качестве единственного источника углерода вносится гексадекан (пары). Температура культивирования 28°C.

13. Оптимальные условия и состав среды для ферментации (если есть)

14. Генетические особенности штамма (указать имеющиеся)

- 1) Мутации, делеции, инверсии _____
- 2) Устойчивость (чувствительность) к антибиотикам, фагам и т.д. устойчив к канамицину (до 200 мкг/мл)
- 3) Плазмиды (подробное описание) _____
- 4) Профаги _____
- 5) Прочие генетические особенности _____

15. Литературные ссылки (если сведения о штамме или его использовании опубликованы)

Биоразнообразие почвенных углеводородоокисляющих бактерий из разных климатических зон / М.И.Чернявская, А.А.Букляревич, Я.А.Делеган, А.Э.Охремчук, А.Е.Филонов, М.А.Титок // Микробиология. – 2018. – Т. 87, № 5. – С. 581-594. [<https://elibrary.ru/item.asp?id=35642458>] = Biodiversity of Hydrocarbon-Oxidizing Soil Bacteria from Various Climatic Zones / M.I.Charniauskaya, A.A.Bukliarevich, Ya.A.Delegan, A.E.Akhremchuk, A.E.Filonov, M.A.Titok // Microbiology. – 2018. Vol. 87, No. 5. P. 699–711.

16. Сведения о безопасности использования штамма

1) Штамм не является генетически модифицированным и не содержит генов других организмов; перенесенных генов резистентности; генетических изменений, связанных с использованием генно-технических методик.

2) Штамм является:

- зоопатогенным _____ (да, **нет**);

- фитопатогенным _____ (да, **нет**);

- представляет ли опасность по каким-либо другим причинам _____ (да, **нет**): если «да», пояснить _____

17. Форма депонирования: хранение, **гарантийное хранение** (5 лет), национальное патентное депонирование (нужное выделить жирным шрифтом, если гарантийное хранение, указать количество лет)

а) для формы депонирования «хранение»: Депозитор информирован о том, что информация о штамме будет помещена в открытый каталог штаммов БКМ, а сам штамм может выдаваться из коллекции по запросу третьих лиц.

б) для формы депонирования «гарантийное хранение»: Депозитор информирован о том, что после окончания оговоренного срока, если нет иных указаний, штамм переводится в категорию «хранение».

в) для формы депонирования «национальное патентное депонирование»: Депозитор обязуется:

- сообщать в коллекцию информацию о подаче заявки на выдачу патента на изобретение, касающейся депонированного штамма, о получении патента по заявке или об отказе в выдаче патента, а также о прекращении действия патента.

- по просьбе коллекции, в случае необходимости, осуществлять проверку жизнеспособности депонированного штамма;

- возобновлять штамм в коллекции в случае утери им жизнеспособности.

Депозитор согласен с тем, что

- с момента отправки депозитору справки о депонировании штамм не подлежит отзыву;

- до подачи заявки на выдачу патента на изобретение и публикации сведений о ней информация о депонированном штамме является конфиденциальной и, также как сам штамм, предоставляется третьим лицам только с письменного разрешения депозитора;

- после подачи заявки на выдачу патента на изобретение в Патентное ведомство РБ, выдача штамма третьим лицам осуществляется:

а) в соответствии с национальным законодательством РБ, если патент на изобретение, касающееся штамма микроорганизма получен на имя депозитора;

б) только по разрешению депозитора, если патентовладелец не является депозитором штамма;

- ответственность за соответствие реальных свойств депонируемого штамма данным, указанным в паспорте, несет депозитор;

- штамм, депонированный по форме «национальное патентное депонирование» может быть переведен в категорию «хранение» в том случае, если

а) в течение четырех лет с момента национального патентного депонирования в коллекцию от депозитора не поступила письменная информация о подаче заявки на выдачу патента на изобретение, касающаяся депонированного штамма (с указанием номера заявки и объекта патентования);

б) по заявке получен отказ в выдаче патента, возможности обжалования которого исчерпаны;

в) срок действия патента (ов) закончился или действие патента приостановлено досрочно.

18. Депозитор (*название организации*) НИЛ биотехнологии кафедры микробиологии, Биологический факультет Белорусского государственного университета

Адрес, факс, телефон, электронная почта депозитора

19. Автор(ы) *Чернявская Мария Ивановна, Титок Марина Алексеевна*

20. _____
автора(ов) _____

Подпись(и)

Дата: _____

Подпись депозитора: _____

М.П.

* поля заполняются сотрудниками БКМ

** пояснения, набранные курсивом, перед распечаткой паспорта следует удалить

Раздел заполняется при получении справки о депонировании

Справка о депонировании получена.

Фамилия, инициалы и должность лица, получившего справку

Подпись, число.

Приложение 2.

Пример оформления модульного стендового доклада



Влияние отдельных генетических детерминант на устойчивость бактерий – деструкторов углеводородов нефти *Rhodococcus pyridinivorans* 5Ap к ионам тяжелых металлов и арсенатам



Егорова Ю.В., Букляревич А.А., Чернявская М.И.
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь
электронный адрес: charnyti@bsu.by

Введение

Металлы и металлоиды в природе играют двойное значение: с одной стороны, это жизненно необходимые элементы, с другой стороны, при повышении концентрации они оказывают токсичный эффект на живые организмы. Загрязнение металлами и металлоидами связано в первую очередь с деятельностью металлургической промышленности, автотранспортом, а также может быть сопряжено с разливами нефти и нефтепродуктов. В связи с этим важно учитывать устойчивость бактерий-деструкторов, используемых для биоремедиации, к различным металлам. Одними из наиболее часто используемых в этих целях бактерий являются актинобактерии рода *Rhodococcus*. Благодаря различным способам инактивации токсичных металлов и металлоидов, таким как, биотрансформация, биосорбция и биоаккумуляция, актинобактерии рассматриваются как перспективные агенты биоремедиации сред, загрязненных металлами и металлоидами. При этом биосорбция может происходить как на поверхности клеток, так и внеклеточно – за счет продукции сидерофоров и биосурфактантов (рисунок 1) [1].



Рисунок 1 – Механизмы защиты актинобактерий от токсического действия ионов тяжелых металлов и металлоидов [1]

Цель

Исследование вклада отдельных генетических детерминант в устойчивость бактерий *R. pyridinivorans* 5Ap к различным металлам и металлоидам.

Схема эксперимента



Таблица 1 – Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) ионов тяжелых металлов и арсената по отношению к бактериям *R. pyridinivorans* 5Ap дикого типа и его мутантным вариантам

Штамм	Описание штаммов	МИК иона, ммоль/л								
		Pb ²⁺	Cu ²⁺	Co ²⁺	Fe ²⁺	Ni ²⁺	Cd ²⁺	Hg ²⁺	Zn ²⁺	As ₂ O ₃ ²⁻
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap (дикий тип)	Дикий тип	0,15	4	<0,5	1	3	0,5	<0,05	1,5	3
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap <i>sid</i> ::pK18mob	Мутантный вариант с инактивированным геном <i>sid</i> , первым геном в опероне биосинтеза сидерофоров, локализованном на плазмиде pSID*	0,15	4	<0,5	0,5	3	0,2	<0,05	2	2
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap <i>groELS</i> ::pK18mob	Мутантный вариант с нарушенным опероном <i>groELS</i> , кодирующим белки теплового шока*	0,05	4	<0,5	0,5	3	0,2	<0,05	1,5	1,5
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap <i>hrcA</i> ::pK18mob	Мутантный вариант с инактивированным геном <i>hrcA</i> , кодирующим негативный регулятор оперона <i>groELS</i> *	0,05	4	<0,5	0,5	3	0,5	<0,05	1	2
<i>R. pyridinivorans</i> 5Ap <i>alkB2</i> ::pK18mob	Мутантный вариант с инактивированным геном <i>alkB</i> , кодирующим алканмонооксигеназу, которая участвует в синтезе биосурфактантов*	0,05	4	<0,5	2,5	3	0,5	<0,05	0,9	2

Примечания: *мутанты получены путем направленного инсерционного мутагенеза с использованием суицидального вектора pK18mob; жирным шрифтом выделены значения МИК ниже, чем для бактерий дикого типа.

Выводы

Как видно из таблицы, наибольшее влияние на устойчивость бактерий к ионам различных тяжелых металлов (свинца, железа, кадмия) и арсенатам оказывает инактивация оперона *groELS*, кодирующего так называемые белки теплового шока, а также его негативного регулятора *hrcA*. При инактивации гена биосинтеза сидерофоров *sid* снижается устойчивость к железу, кадмию и арсенатам, а инактивация гена *alkB2* ведет к повышению чувствительности по отношению к свинцу, цинку и арсенату. Это согласуется с данными об участии сидерофоров и биосурфактантов во внеклеточной биосорбции мышьяка, железа, свинца, цинка, кадмия и др.

Таким образом, установлено, что бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap обладают различными механизмами устойчивости к токсичным концентрациям металлов и металлоидов в среде, важную роль в которых играют белки теплового шока, сидерофоры и биосурфактанты. Участие биосурфактантов и сидерофоров в биосорбции таких металлов как свинец, кадмий, а также арсенатов, делает бактерии *R. pyridinivorans* 5Ap привлекательными агентами биоремедиации сред, загрязненных данными элементами.

Литература

1. Processing of Metals and Metalloids by Actinobacteria: Cell Resistance Mechanisms and Synthesis of Metal (loid)-Based Nanostructures / Presentato A. [et al.] // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8, № 12. – С. 2027. DOI: 10.3390/microorganisms8122027.