

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования
«ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СИСТЕМ УПРАВЛЕНИЯ И
РАДИОЭЛЕКТРОНИКИ» (ТУСУР)

**Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга
(РЭТЭМ)**

Т.В. Денисова

**БИОТЕХНОЛОГИИ ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЙ
МОНИТОРИНГ**

**Методические указания к практическим занятиям, лабораторным работам и
самостоятельной работе**

2016

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования
**«ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СИСТЕМ УПРАВЛЕНИЯ
И РАДИОЭЛЕКТРОНИКИ» (ТУСУР)**

Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга (РЭТЭМ)

УТВЕРЖДАЮ
Зав. кафедрой РЭТЭМ
_____ В.И. Туев
« ____ » _____ 2016 г.

**БИОТЕХНОЛОГИИ ЗАЩИТЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЙ
МОНИТОРИНГ**

Методические указания к практическим занятиям, лабораторным работам и
самостоятельной работе

Разработчик:
доцент каф. РЭТЭМ
_____ Т.В. Денисова
« ____ » _____ 2016 г.

Биотехнологии защиты окружающей среды и биологический мониторинг: Методические указания к практическим занятиям, лабораторным работам и самостоятельной работе / Сост. Денисова Т.В. – Томск, 2016. – 26 с.

Содержат перечень тем и заданий, необходимых для изучения предмета в соответствии с программой курса «Биотехнологии защиты окружающей среды и биологический мониторинг». Включает методические рекомендации для студентов и преподавателей по организации самостоятельной работы и проведению практических занятий, порядок выполнения лабораторных работ, материалы промежуточного и итогового контроля знаний студентов

СОДЕРЖАНИЕ

Планы практических занятий.....	5
Порядок выполнения лабораторных работ.....	12
Лабораторная работа №1. Форсайт-проект.....	12
Лабораторная работа №2. Выделение из почвы микроорганизмов, продуцирующих гидролитические ферменты.....	15
Лабораторная работа №3. Микробиологический анализ средней почвенной пробы...19	
Задания и виды самостоятельной работы.....	22
Примеры тестов для промежуточного контроля.....	23
Вопросы к экзамену.....	24
Рейтинговая система оценки.....	26

ПЛАНЫ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ
Практическое занятие №1
Здоровье населения и окружающая среда
 (2 ч, самостоятельная работа —2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с основными показателями, характеризующими здоровье населения и факторами, влияющими на него.

Рассматриваемые вопросы:

1. Дайте определения понятиям: здоровье, болезнь, заболевание, среда обитания.
2. Показатели здоровья населения.
3. Общая заболеваемость.
4. Инфекционные и паразитарные болезни.
5. Взаимодействие систем "человек-техносфера" и "техносфера-природная среда".
6. Антропологические системы и здоровье.
7. Психическое здоровье населения.
8. Демографические показатели России.
9. Основные факторы преждевременной смертности населения.
10. Санитарно-эпидемиологическая деятельность и факторы, влияющие на здоровье.
11. Профессиональные болезни, болезни, связанные с загрязнением окружающей среды.
12. Профилактика профессиональных заболеваний.

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №2
Взаимосвязь человека со средой обитания
 (2 ч, самостоятельная работа —1 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с основными понятиями взаимосвязи человека со средой обитания.

Рассматриваемые вопросы:

1. Сенсорная система человеческого организма.
2. Сенсорное и сенсомоторное поле.
3. Совместимость человека и природы, человека и технической системы: информационная, биофизическая, энергетическая и технико-эстетическая.

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №3

Антропогенное влияние на окружающую среду

(4 ч, самостоятельная работа — 2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Изучение антропогенного влияния на окружающую среду.

Рассматриваемые вопросы:

1. Ксенобиотики, основные источники их поступления в природные среды.
2. Биологические агенты как факторы загрязнения природных сред.
3. Атмосферный, литосферный, гидросферный перенос.
4. Биогенный перенос.
5. Современное состояние окружающей среды и ее защита от загрязнения.
6. Биотехнологические методы и средства защиты окружающей среды.
7. Биологические агенты и процессы экологической биотехнологии.
8. Использование и развитие экологической биотехнологии в различных областях деятельности.

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.

4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.

5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Ключев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №4 **Особенности миграции загрязнений** (2 ч, самостоятельная работа —2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с особенностями миграции загрязняющих веществ в различных средах.

Рассматриваемые вопросы:

1. Обмен веществом и энергией с атмосферой.
2. Особенности миграции органических загрязнений.
3. Особенности миграции тяжелых металлов и радионуклидов.
4. Кривая роста, основные фазы роста и размножения микроорганизмов или клеток.
5. Количественные характеристики роста и продуктивности.
6. Удельная скорость роста.
7. Понятие об основных процессах культивирования клеток или микроорганизмов.
8. Особенности миграции неорганических загрязнений.

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с

2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.

3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.

4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.

5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Ключев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №5 **Биологические агенты экологической биотехнологии** (4 ч, самостоятельная работа —2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с основными биологическими агентами биотехнологии.

Рассматриваемые вопросы:

1. Минерализация загрязнителей с помощью микроорганизмов до простых солей, газов и воды.

2. Деградация и детоксикация загрязнителей путем биотрансформации.
3. Микробиологическая конверсия загрязнителей в полезные продукты
4. Микробиологический синтез биоразлагаемых полимеров и текстильно вспомогательных веществ.
5. Микробиологическое производство биологически активных веществ путем использования твердых и жидких отходов.
6. Ферментные препараты, характеристика, номенклатура, товарные формы, нормативно-техническая документация.
7. Правила работы с ферментными препаратами.
8. Экологические особенности в производстве лекарственных препаратов.
9. Контроль экологической чистоты препаратов.
10. Особенности использования лекарственных препаратов различных групп.
11. Применение гормональных средств, пищевых добавок и экологическая безопасность.

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №6

Роль микроорганизмов в жизни биосферы и отдельных экосистем

(2 ч, самостоятельная работа — 2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с ролью микроорганизмов в жизни биосферы и отдельных экосистем.

Рассматриваемые вопросы:

1. Микробные биоценозы.
2. Переработка отходов деятельности человека естественным путем при участии микроорганизмов.
3. Механизмы адаптации микроорганизмов к условиям внешней среды и промышленным загрязнителям.
4. Микробиологическое преобразование ксенобиотиков, антропогенных примесей в почве и воде.
5. Основные источники ферментов для промышленного пользования.
6. Оценка ферментов как промышленных биокатализаторов.

7. Особенности ферментативных процессов.
8. Основные направления использования ферментов.
9. Иммунохимические реакции.
10. Общие аспекты безвредности ферментов.
11. Контроль над применением ферментов
12. Биоконверсия отходов производства

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №7

Направления использования микроорганизмов для защиты окружающей среды
(2 ч, самостоятельная работа — 2 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с особенностями использования микроорганизмов для защиты окружающей среды.

Рассматриваемые вопросы:

1. Минерализация загрязнителей с помощью микроорганизмов до простых солей, газов и воды
2. Деградация и детоксикация загрязнителей путем биотрансформации
3. Микробиологическая конверсия загрязнителей в полезные продукты
4. Микробиологический синтез биоразлагаемых полимеров
5. Микробиологическое производство биологически активных веществ путем использования твердых и жидких отходов

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс]

: Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.

5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №8 **Биотехнология получения экологически чистого топлива** (2 ч, самостоятельная работа —1 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с основными аспектами получения экологически чистого топлива.

Рассматриваемые вопросы:

2. Экологические характеристики биотоплива
3. Промышленное производство этанола
4. Микроорганизмы продуценты этанола
5. Утилизируемые субстраты
6. Образование водорода микроорганизмами
7. Биофотолиз воды

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с

2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.

3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.

4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.

5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №9 **Продукты утилизации органических отходов и их применение** (2 ч, самостоятельная работа —1 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с процессами утилизации органических отходов.

Рассматриваемые вопросы:

1. Вермикультура
2. Вермикомпост
3. Биоперегной
4. Биодegradация компоста
5. Микробная трансформация токсичных и опасных отходов

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №10**Экологические методы утилизации твердых отходов**

(2 ч, самостоятельная работа —1 ч)

Форма проведения - семинар.*Цель:* Ознакомление с правовыми основами охраны окружающей среды от антропогенных загрязнений.*Рассматриваемые вопросы:*

1. Понятие о твердых промышленных (ТПО) и бытовых отходах (ТБО)
2. Классификация твердых отходов
3. Составляющие компоненты твердых бытовых отходов
4. Влияние хранения ТПО и ТБО на природную среду
5. Влияние процесса «старения» разных компонентов ТО на экологию
6. Химические материалы ТПО и ТБО и их действие на агроландшафты

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

Практическое занятие №11
Требования, предъявляемые к биоиндикаторам
 (2 ч, самостоятельная работа —1 ч)

Форма проведения - семинар.

Цель: Ознакомление с основными требованиями, предъявляемые к биоиндикаторам.

Рассматриваемые вопросы:

1. Биотестирование и биоиндикация
2. Применение моноклональных антител в контроле за окружающей средой
3. Иммуноферментный анализ

Литература для подготовки к занятию

1. Экология. Основы рационального природопользования [Текст] : учебное пособие для бакалавров / Т. А. Хван, М. В. Шинкина. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : Юрайт, 2012. - 320 с
2. Стурман, В.И. Оценка воздействия на окружающую среду. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2015. — 352 с.
3. Ветошкин, А.Г. Технологии защиты окружающей среды от отходов производства и потребления. [Электронный ресурс] : Учебные пособия — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2016. — 304 с.
4. Дмитренко, В.П. Экологический мониторинг техносферы. [Электронный ресурс] : Учебные пособия / В.П. Дмитренко, Е.В. Сотникова, А.В. Черняев. — Электрон. дан. — СПб. : Лань, 2014. — 368 с.
5. Эколого-аналитический мониторинг стойких органических загрязнителей : Учебное пособие для вузов / В. Н. Майстренко, Н. А. Клюев. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. - 322 с.

ПОРЯДОК ОФОРМЛЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

В процессе выполнения лабораторной работы студент должен наблюдать за ходом эксперимента, отмечая все его особенности: изменение цвета, тепловые эффекты, выделение газа и т.д. Результаты наблюдений записывают в лабораторный журнал, придерживаясь определенной последовательности:

- название лабораторной работы, дата выполнения;
- цель работы;
- краткая теория вопроса;
- результаты эксперимента;
- выводы по результатам работы.

Отчет оформляется в соответствии с требованиями [Образовательного стандарта вуза ОС ТУСУР 01-2013. Работы студенческие по направлениям подготовки и специальностям технического профиля. Общие требования и правила оформления.](#)

Лабораторная работа №1
ФОРСАЙТ-ПРОЕКТ
 (4 ч, самостоятельная работа - 2 ч)

Цель работы: с помощью методологии «форсайт (foresight), когда используются комбинации различных методов и специалисты самых разных областей знаний, разработать проект по любой из предложенных в задании тематик.

Темы для форсайт-проектов:

1. Утилизация отходов (бытовых, промышленных, сельскохозяйственных, скотомогильников).
2. Альтернативная энергетика как перспективный путь решения экологических проблем.
3. Биотехнологии сельскохозяйственного природопользования.
4. Проект биологически чистого городка (биогородок).
5. Проблемы территориального природопользования (на примере любого края/области).
6. Биотехнологии природопользования городской среды (на примере города Томска).

Задание:

1) Выбрать из списка любую проблематику и разработать проект (бизнес-план, программу или модель) управления природопользованием с учетом объектов окружающей природной среды, социально-экономических и климатических особенностей регионов в различных сферах деятельности. Это могут быть ИП по утилизации бытовых отходов; экологически чистый жилой комплекс для молодых ученых; природоохранные биотехнологии в создании экономически замкнутых спутниковых городов и т.п.;

2) моделировать, прогнозировать и оценить результаты воздействия намечаемой хозяйственной и иной видов деятельности с использованием знаний из различных областей, творческой мысли, неординарного креативного мышления.

Для этого необходимо:

- изучение рынка (спроса, потребления), т.е. маркетинг и прогнозирование; производство продукции с минимальными затратами и реализация ее с максимальной прибылью;
- управление персоналом (создание необходимого штата, калькуляция затрат штатного расписание – рабочие места и зарплата);
- анализ информации и разработка программ (бизнес -плана) для достижения поставленной цели.
- разработка финансового раздела бизнес-плана с оценкой расходов подготовительного этапа.

Сопроводить проект необходимой документацией:

- Титульный лист
- Цели и задачи проекта (бизнес-плана)
- Содержание проекта
- Штатное расписание
- Результаты и рекомендации
- Примерный план прибылей и убытков, план движения денежных средств, анализ рисков
- Визуализация проекта в виде презентации (ppd)

Информационно-справочный материал. Основой для оценки вариантов будущего являются экспертные оценки. Методология Форсайт вобрала в себя десятки традиционных и достаточно новых экспертных методов. При этом происходит их постоянное совершенствование, отработка приемов и процедур, что обеспечивает повышение обоснованности предвидения перспектив научно-технического и социально-экономического развития. Основной вектор развития методологии направлен на более активное и целенаправленное использование знаний экспертов, участвующих в проектах.

Обычно в каждом из форсайт-проектов применяется комбинация различных методов, в числе которых экспертные панели, Дельфи (опросы экспертов в два этапа), SWOT-анализ, мозговой штурм, построение сценариев, технологические дорожные карты, деревья релевантности, анализ взаимного влияния и др. Чтобы учесть все возможные варианты и получить полную картину привлекается, как правило, значительное число экспертов. Так, в японских долгосрочных прогнозах научно-технологического развития, проводимых каждые пять лет, участвует более 2-х тысяч экспертов, которые представляют все важнейшие направления развития науки, технологий и техники, а в последнем корейском проекте участвовали более 10 тысяч экспертов. Форсайт исходит из того, что наступление «желательного» варианта будущего во многом зависит от действий, предпринимаемых сегодня, поэтому выбор вариантов сопровождается разработкой мер, обеспечивающих оптимальную траекторию инновационного развития. В ряде проектов формирование горизонтальных сетей, площадок, в рамках которых ученые и бизнесмены, преподаватели вузов и чиновники, 39 специалисты смежных областей могут систематически обсуждать общие проблемы, рассматривается как один из главных эффектов. Форсайт организуется как систематический процесс, который должен быть тщательно спланирован и организован. Как правило, Форсайт-проекты осуществляются достаточно регулярно, иногда по повторяющейся схеме (подобно японскому долгосрочному прогнозу, который проводится каждые 5 лет, начиная с 1971 года), в других случаях исследования проводятся как последовательность взаимосвязанных проектов, нацеленных на решение комплекса взаимосвязанных задач и формирование согласованного представления о долгосрочных перспективах развития технологий, инноваций и общества.

Форсайт представляет собой значительно более комплексный подход, чем традиционное прогнозирование. Во-первых, прогнозы, как правило, формируются узким кругом экспертов и в большинстве случаев ассоциируются с предсказаниями, малоуправляемых событий (прогноз курсов акций, погоды, спортивных результатов и др.). В рамках форсайта идет речь об оценке возможных перспектив инновационного развития, связанных с прогрессом науки и технологий, очерчиваются возможные технологические горизонты, которые могут быть достигнуты при вложении определенных средств и организации систематической работы, а также вероятные эффекты для экономики и общества. Во-вторых, Форсайт всегда подразумевает участие (часто путем проведения интенсивных взаимных обсуждений) многих экспертов из всех сфер деятельности, в той или иной степени связанных с тематикой конкретного форсайт-проекта, а иногда и проведение опросов определенных групп населения (жителей региона, молодежи и др.), прямо заинтересованных в решении проблем, обсуждающихся в рамках проекта. Третье главное отличие Форсайта от традиционных прогнозов – нацеленность на разработку практических мер по приближению выбранных стратегических ориентиров.

3) Оценка публичной защиты проекта с презентацией.

Домашнее задание (Подготовить следующие вопросы для обсуждения в форме «блиц-конференции» на следующем семинарском занятии):

1. Использование научных достижений в области физико-химической биологии и фундаментальных биологических дисциплин в биоиндустрии.

2. Отличие современной биотехнологии от традиционных микробиологических производств. Экономические и социальные аспекты развития биотехнологии.

3. Задачи геномной инженерии (Биотехнология конструирования рекомбинантной ДНК).

4. Ферменты геномной инженерии. Рестриктазно-лигазный метод Коэна.

5. Клонирование внесением ядра соматической клетки в безъядерные яйцеклетки.

6. Метод дробового ружья (Shot-gun).

Лабораторная работа №2
**Выделение из почвы микроорганизмов, продуцирующих
 гидролитические ферменты**

(4 ч, самостоятельная работа - 2 ч)

Цель работы: приобретение знаний и навыков по выделению микроорганизмов из почвы.

Общие положения

Промышленное производство ферментных препаратов впервые началось в США в 1894 г. с получения грибной амилазы. Тогда этот фермент использовали в качестве лекарственного препарата при нарушениях пищеварения. В настоящее время по объему производства ферменты занимают третье место после аминокислот и антибиотиков, причем основная их часть приходится на долю гидролитических ферментов. Среди гидролаз наибольшее применение получили пептидогидролазы (протеазы) и ферменты, расщепляющие гликозидные связи (амилазы, целлюлазы). Ферментные препараты находят широкое применение в различных областях промышленности (текстильной, целлюлозно-бумажной, химической – при производстве моющих средств, пищевой, фармацевтической) и в сельском хозяйстве (как кормовые добавки, ветеринарные препараты). Для промышленного получения ферментов используются штаммы бактерий *Bacillus*, грибов *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* и др. Их клетки способны выделять ферменты в культуральную жидкость, что значительно облегчает процедуру очистки ферментных препаратов. Продуктивность этих организмов увеличена путем мутагенеза и селекции, а также путем оптимизации процессов культивирования. Среди протеолитических ферментов, образуемых микроорганизмами, встречаются как эндопептидазы, так и экзопептидазы. Продукентами протеаз, получаемых при промышленном производстве, являются преимущественно бактерии рода *Bacillus* и реже – стрептомицеты. Кислые протеазы на основе высокоактивного продуцента *Aspergillus oryzae* применяют в производстве спирта и для получения белковых гидролизатов высокого качества в пищевой промышленности. В сочетании с амилазой эти ферменты также используют в хлебопекарной промышленности. Они улучшают качество и аромат хлеба, ускоряют созревание теста, увеличивают пористость и объем хлеба. В молочной промышленности использование протеаз ускоряет созревание сыров вдвое и снижает их себестоимость на 10 %. В кулинарии обработка мяса пептидгидролазами *Streptomyces griseus* (протелином и проназой) перед его приготовлением значительно улучшает качество мясных блюд. В текстильной промышленности процесс расклиновки (выравнивания поверхности) тканей ферментными препаратами класса протеаз грибного происхождения ускоряется в 7–10 раз; эти же препараты служат для удаления белка серицина при размотке коконов тутового шелкопряда при производстве натурального шелка. В кожевенном и меховом производстве применяют препараты протеиназ (протелин и протофрадин), являющихся внеклеточными ферментами стрептомицетов. При этом время, требуемое для осуществления необходимых процессов, сокращается в несколько раз, сортность и качество шерсти и кож повышается. Щелочные протеазы на основе высокоактивного продуцента *Bacillus licheniformis* вместе с целлюлазами являются компонентами стиральных порошков и моющих средств. Кроме того, протеолитические ферменты применяют при извлечении серебра из фотографических пленок и бумаги.

Важнейшей областью применения протеолитических ферментов является медицина. Нейтральные протеазы широко используются в лечении болезней желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, в хирургии для обработки гнойных ран, ожоговых и обмороженных поверхностей. Протеазы способствуют размягчению омертвевшей ткани, облегчая тем самым дренаж ран и ускоряя их заживление. На втором месте по объему

промышленного использования, после протеаз, находятся амилолитические ферменты, которые катализируют гидролиз различных типов гликозидных связей в крахмале, декстрани, гликогене и родственных полисахаридах. К ферментам, расщепляющим гликозидную связь внутри полисахарида (эндоамилазам), относятся α -амилаза, пуллуланаза и циклодекстрин-глюкозилтрансфераза. Среди экзоамилаз выделяют β -амилазу, глюкоамилазу и амилоглюкозидазу. Из амилолитических ферментов чаще используют α -амилазу (из *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*) и глюкоамилазу (продуцируется представителями рода *Aspergillus*).

α -Амилаза – фермент, осуществляющий эндогидролиз α -1,4- гликозидных связей крахмала, гликогена и родственных им полисахаридов до мальтозы, декстринов и глюкозы. α -Амилазы используются в процессе промышленного получения этанола как частичная замена дорогого солода в пивоварении, для улучшения качества муки в хлебопечении, а также в целлюлозно-бумажной промышленности. Кроме того, эти ферменты применяются в текстильной промышленности при изготовлении тканей и как добавки к моющим средствам. Глюкоамилаза – экзофермент, атакующий крахмал с нередуцирующего конца полисахаридной цепочки, последовательно отщепляя глюкозные остатки с образованием преимущественно глюкозы. Препараты глюкоамилазы применяются для ферментативной обработки крахмалсодержащего сырья в спиртовой, крахмалопаточной, хлебопекарной и пивоваренной промышленности. Целлюлолитические ферменты – ферменты класса гидролаз, катализирующие гидролиз 1,4-гликозидных связей в молекуле целлюлозы с образованием набора олигосахаридов различной степени полимеризации вплоть до мономера – глюкозы. Среди целлюлолитических ферментов микроорганизмов выделяют экзоглюканызы (целлобиогидролазы, отщепляющие от нередуцирующего конца целлюлозной цепи как остатки целлобиозы, целлотриозы, глюкозы, так и более крупные фрагменты), эндоглюканызы (гидролизующие β -1,4-гликозидные связи между остатками глюкозы в середине цепи), β -глюкозидазы (катализирующие превращение целлобиозы и целлотриозы в глюкозу). Среди промышленных продуцентов микробных целлюлаз ведущую роль играют различные виды грибов рода *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. viride*, *T. longibrachiatum*). Это обусловлено высокой секреторной способностью их клеток, а также разнообразием продуцируемых ферментов с различной субстратной специфичностью, что делает эти продуценты универсальным объектом для получения различного рода биотехнологических продуктов. Препараты целлюлаз на основе грибов *Trichoderma* выпускаются во многих странах ведущими компаниями – производителями промышленных ферментов, в частности Novozymes (Дания), Genencor International (США), Iogen (Канада), PrimAlko (Финляндия), Meiji Seika Kaisha Ltd. и Shin Nihon Chemical Co. (Япония) и др. В пищевой промышленности целлюлазы используют для осветления соков, в пивоварении. Кроме того, целлюлолитические ферменты активно используются в целлюлозно-бумажной промышленности, в сельском хозяйстве (в процессе приготовления силоса). После полного гидролиза целлюлозу можно использовать как дешевый источник глюкозы. С конца 1980-х гг. целлюлазы стали активно применяться для обработки текстильных изделий и материалов. Первым таким процессом стала ферментативная обработка джинсовых изделий, приводящая к частичному удалению красителя с поверхности ткани, в результате которой изделия приобретают внешний вид «вареных джинсов». В течение нескольких лет ферменты практически заменили пемзу и химические агенты, применявшиеся для этой цели ранее. Позднее целлюлазы стали широко использоваться для биополировки трикотажа и изделий на основе хлопчатобумажных и смесовых тканей. В результате такой обработки с поверхности материала удаляются ворсинки и неровности, материал становится более гладким, приятным на ощупь, и после серии стирок ткань не скатывается, что повышает

потребительские свойства изделий. В последнее десятилетие целлюлазы также стали активно использоваться в качестве добавок к детергентам и моющим средствам, чтобы, воздействуя при стирке на текстильные материалы, содержащие в своем составе целлюлозные волокна, облегчить удаление грязей за счет гидролиза части поверхностных волокон.

Процедура выделения потенциальных штаммов – продуцентов ферментов состоит из пяти основных этапов: взятия образцов, получения накопительных культур, получения чистых культур, проверки способности выделенных микроорганизмов продуцировать требуемые ферменты, описания свойств выделенных микроорганизмов.

1. Взятие образцов Для выделения бактерий, способных к образованию протеолитических, амилитических и целлюлолитических ферментов, можно использовать подгнившие овощи и фрукты, почву с растительными остатками. Образец весом 30–40 г вносят в стерильную колбу на 250 мл, куда добавляют 40–50 мл стерильного физиологического раствора. Колбу 10 с интенсивно встряхивают, дают отстояться суспензии 30 мин.

2. Получение накопительных культур

Для получения накопительной культуры используются селективные (элективные) среды, в которых путем варьирования различных факторов создаются избирательные условия для преимущественного развития продуцента определенных веществ. Это позволяет проводить процедуру обогащения. Обогащение – процесс, обеспечивающий подходящие условия для выращивания и воспроизводства определенных микроорганизмов. Для других же микроорганизмов эти условия будут летальны или значительно замедлят их рост. Селективная питательная среда должна содержать в качестве источников углерода определенные соединения, предназначенные для отбора микроорганизмов, способных их утилизировать, либо ингибиторы, блокирующие специфические биохимические пути. Среда должна характеризоваться оптимальными для выделяемых микроорганизмов значениями pH, температуры и осмотического давления. Полученные в таких условиях культуры называют накопительными.

При первичном скрининге производят отбор из крупной популяции организмов, имеющих специфическую активность. Это преимущественно качественный отбор. Большинство методов скрининга можно разделить на: прямые (которые предполагают специфическую идентификацию требуемого продукта, например, при использовании хроматографических методов); непрямые, такие как детекция фермента с помощью колориметрических или флуориметрических реакций, проходящих при наличии ферментативной активности.

Для роста выделяемых микроорганизмов используют агаризованные среды, содержащие субстрат для определенного фермента. Наличие у 9 бактерий ферментативной активности можно определить при появлении вокруг колоний продуцента зон просветления, которые являются результатом гидролиза субстрата (например, гидролиза белков молока), либо зон, выявляемых после постановки колориметрической реакции (например, реакции на крахмал с реактивом Люголя). Такой скрининг проводится быстро, является недорогим и при этом сразу можно исследовать большое количество колоний.

Для выделения бактерий, способных к образованию амилаз, высевают на минимальную агаризованную среду, содержащую солевой концентрат 5А как источник макро- и микроэлементов; в качестве единственного источника углерода добавлен крахмал в конечной концентрации 0,05 %. Чтобы выделить бактерии, способные образовывать протеолитические ферменты, высевают на минимальную среду, в которой в качестве единственного источника углерода добавлено обезжиренное молоко в конечной концентрации 0,7 %.

Для выделения бактерий, способных к образованию целлюлаз, высевают на минимальную среду, в которой в качестве единственного источника углерода добавлена карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) в конечной концентрации 0,05 %. Для приготовления 400 мл минимальной среды используют солевой концентрат 5А – 80 мл, расплавленный 2 % водный агар – 300 мл. Добавляют стерильную дистиллированную воду до 400 мл. Солевой концентрат 5А K_2HPO_4 52,5 г KH_2PO_4 22,5 г $(NH_4)_2SO_4$ 5,0 г Цитрат натрия $\cdot 2H_2O$ 2,5 г Вода дистиллированная до 1000 мл После автоклавирования добавляют 5 мл стерильного 1 М раствора $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ на 1 литр концентрата. Высевают бактерии из образцов производят с помощью шпателя по методу Коха, последовательно используя три чашки Петри. На поверхность среды в первой чашке стерильной пипеткой наносят 0,1 мл образца, распределяют суспензию с помощью шпателя Дригальского. Далее, не стерилизуя шпатель, продолжают распределять образец сначала по поверхности среды во второй, а затем в третьей чашке. После соответствующего времени инкубирования (1–3 дня) при 28 °С чашки просматривают и отбирают для дальнейшей работы 4–5 морфологически различающихся типов колоний. Обычно на первой чашке наблюдается сплошной рост микроорганизмов, а на второй и третьей – рост изолированных колоний.

10

3. Получение чистых культур Отобранные колонии засевают методом истощающего штриха на среды такого же состава, как и для получения соответствующих накопительных культур.

4. Проверка способности выделенных микроорганизмов продуцировать гидролитические ферменты Проверка способности выделенных микроорганизмов продуцировать требуемые ферменты – важный этап в селекции промышленных микроорганизмов. В отличие от первичного скрининга он представляет собой как качественный, так и количественный отбор. Его целью является подтверждение способности организмов, выделенных при первичном скрининге, продуцировать определенные ферменты и оценка их продуктивного потенциала. На этом этапе избавляются от всех организмов, которые обладают ложноположительной и низкой активностью. Для проверки способности продуцировать требуемые гидролазы у выделенных ранее микроорганизмов высевают на чашки такого же состава, как и в случае получения чистых культур. Чашки инкубируют в течение суток при 28 °С. О наличии протеолитической активности судят по появлению прозрачных зон гидролиза белков молока вокруг колоний. При исследовании амилолитической активности чашку с выросшими 11 клонами заливают раствором, содержащим 0,5 % I_2 и 5 % KI , и о наличии активности судят по образованию зон просветления вокруг колоний. При проверке на целлюлолитическую активность чашку с выросшими клонами заливают 1 % водным раствором красителя Конго красного на 20 мин (происходит связывание красителя с целлюлозой), затем краситель сливают, чашки промывают 8 % водным раствором $NaCl$ (для вымывания красителя из агара). О наличии целлюлолитической активности судят по образованию зон просветления вокруг колоний.

5. Описание морфологических свойств выделенных микроорганизмов При описании роста культуры на поверхности агаризованной питательной среды учитывают:

- размер (диаметр) колоний в мм (если размеры колонии не превышают 1 мм, то их называют точечными);
- форму колонии – круглая, амёбовидная, неправильная, ризоидная, сложная;
- поверхность колонии – гладкая, шероховатая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами, радиально исчерченная и т. д.
- блеск и прозрачность колонии – блестящая, матовая, тусклая, мучнистая, прозрачная;
- цвет колонии – бесцветная или пигментированная;
- край колонии – ровный, волнистый, лопастной, неправильный;

- структуру колонии – однородная, мелко- или крупнозернистая;
- консистенцию колонии (определяют, прикасаясь к поверхности колонии петлей) – вязкая, тянущаяся, сухая, плотная, хрупкая.

Лабораторная работа №3

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СРЕДНЕЙ ПОЧВЕННОЙ ПРОБЫ

(4 ч, самостоятельная работа - 2 ч)

Цель работы:

1. закрепить теоретические знания по химическим свойствам почв;
2. экспериментально определить присутствие микробиологических групп в почве.

Порядок выполнения работы

1. ВЗЯТИЕ СРЕДНЕЙ ПОЧВЕННОЙ ПРОБЫ

Среднюю почвенную пробу получают смешиванием отдельных образцов, количество которых зависит от микрорельефа (ровный, волнистый, склон и т. д.) и площади.

Н. К. Красильников (1966) рекомендует с площади 100 м² брать пробу из трех точек, с более 100 м² — из пяти, с гектара и более — из 15. При исследовании пашни пробы берут с глубины всего пахотного слоя, снимая верхний двухсантиметровый слой, при изучении микрофлоры почвенного профиля — по генетическим горизонтам (снизу вверх).

Почвенный образец берут стерильным буром; стерильной лопатой и стерильным ножом в заранее подготовленную стеклянную широкогорлую стерильную банку, закрывающуюся корковой пробкой, обернутой стерильной ватой, или в стерильные полиэтиленовые мешки, или в мешки из пергаментной бумаги. На пакеты или банки наклеивают этикетки с указанием места взятия пробы, горизонта и других необходимых сведений.

Бур, лопату и нож в поле перед взятием образца тщательно очищают, затем обжигают горящим спиртом.

Почвенные образцы анализируют в первые сутки. В случае необходимости допускается хранение их в холодном помещении (в холодильнике) в течение двух дней. Для большей однородности среднего образца, соблюдая все условия асептики, его тщательно перемешивают, вынимают корни растений, различные включения (камни).

2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПОЧВЕННОЙ СУСПЕНЗИИ

На стерильное часовое стекло стерильным шпателем (или алюминиевой ложкой) помещают 10 г почвы и взвешивают. Чтобы при взвешивании в почву не попали бактерии из воздуха, часовое стекло накрывают другим часовым стеклом (предварительно стекла тарируют). Часовые стекла, шпатели и ложки стерилизуют проведением их над пламенем (фламбированием).

Навеску почвы переносят в колбу емкостью 250 мл с 90 мл стерильной водопроводной воды, взбалтывают в течение 10 мин и дают отстояться грубым частицам почвы.

Затем методом разведения готовят суспензии, содержащие разные количества почвы.

Одновременно со взятием 10 г почвы для анализа из средней пробы отбирают 10—20 г почвы для определения влажности, так как полученные данные пересчитывают на 1 г абсолютно сухой почвы.

Д. Г. Звягинцев (1966) установил, что значительно больше зародышей выявляется в почве, если навеску ее предварительно поместить в стерильную фарфоровую чашку или ступку, увлажнить (0,4—0,8 мл воды или 0,1%-ным раствором пирофосфата Na₄P₂O₇ на 1 г почвы) и в течение 5 мин растереть стерильным резиновым пестиком или пальцем в стерильной резиновой перчатке до пастообразного состояния. Перед приготовлением суспензии для каждого образца готовят две стерильные колбы емкостью 250 мл; одна

содержит 100 мл стерильной водопроводной воды, другая — пустая. Водой из первой колбы растертую почвенную массу смывают в пустую стерильную колбу. Колбу с почвенной суспензией встряхивают на протяжении 5 мин, оставляют на 30 с и готовят разведения, содержащие разные концентрации почвы. Последующие колбы встряхивают в течение 1 мин.

1 мл суспензии в первой колбе, приготовленной тем или иным методом, соответствует разведению 10^{-1} . Последующие разведения (10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ; 10^{-5} ; 10^{-6} и т. д.) лучше делать в колбах на 250 мл с 90 мл стерильной водопроводной воды.

Из каждого предыдущего разведения отдельной стерильной пипеткой берут 10 мл почвенной суспензии и переносят в следующую колбу, содержащую 90 мл воды. Каждый раз пипетку ополаскивают и отставляют. Последующие колбы встряхивают в течение 1 мин.

Из полученных разведений проводят посев на плотных и жидких средах. Набор этих сред зависит от задач, которые ставят перед собой исследователи при бактериологическом анализе почвы.

Суспензии почвы на плотные питательные среды высевают преимущественно поверхностно. Для этого агаризованные питательные среды разливают в стерильные чашки Петри и после охлаждения подсушивают в термостате при 40°C . На поверхность агаровой пластины стерильной градуированной пипеткой наносят 0,05 мл почвенной суспензии из соответствующего разведения, затем стеклянным шпателем Дригальского растирают каплю досуха, при этом открытую чашку держат в вертикальном положении около пламени горелки. Посев из каждого разведения проводят минимум на 2—3 параллельных чашках (желательно на 5 чашках).

При определении количества бактерий в почве пахотного слоя для посева на МПА, КАА, среде Чапека используют разведения 10^{-3} и 10^{-4} ; на сусло-агаре, МПА+ +сусло-агар, бедных средах (нитритный агар), на среде Эшби применяют разведения 10^{-2} и 10^{-3} . Для почв нижних горизонтов соответственно используют разведения ниже на один порядок.

В случае глубинного посева берут 1 мл почвенной суспензии из более низкого разведения (соответственно на один порядок ниже), чем для поверхностного посева. Суспензию вносят в стерильную чашку Петри, заливают расплавленным агаром (охлажденном до 45°C) и перемешивают с ним.

При учете микроорганизмов почвы в жидких средах последние разливают в колбы или пробирки и стерилизуют. Затем из каждого разведения, начиная с самого высокого, отдельной стерильной пипеткой берут 1 мл суспензии и переносят в жидкую среду. Из каждого разведения засевают минимум две пробирки или колбы (лучше 3—5).

Когда численность отдельных групп микроорганизмов в почве небольшая, их выявляют методом обрастания комочков почвы (по Виноградскому). Отмытые от следов хлора (реакция с AgNO_3 с последующим добавлением HNO_3) и прокипяченные (или простерилизованные) гелевые пластинки пропитывают 3—5 мл элективной среды, приготовленной для соответствующей группы микробов (обычно среду упаривают в сушильном шкафу при 50°C до образования эмалевой поверхности). По поверхности раскладывают по трафарету 40—50 комочков почвы диаметром 1—2 мм. Чашки помещают во влажную камеру и ставят в термостат. Если в комочках почвы находятся соответствующие зародыши, то они начинают развиваться и формируют вокруг комочков колонии. Затем вычисляют процент обросших комочков почвы от их исходного числа.

После определенного срока инкубации при температуре $28\text{—}30^{\circ}\text{C}$ культуры анализируют.

3. УЧЕТ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ

Учет на плотных средах (на 1 г абсолютно сухой почвы). После инкубации засеянные среды вынимают из термостата и в них подсчитывают число колоний.

Одновременно после сушки бюксов с навесками почвы при температуре 105°C До постоянной массы определяют содержание абсолютно сухой почвы в 1 г анализируемой сырой почвы.

При подсчете колоний на богатых плотных питательных средах (МПА, МПА+сусло-агар; КАА, сусло-агар, среда Чапека, среда Эшби и т. д.) закрытые чашки Петри просматривают в проходящем свете и с внешней стороны их колонии отмечают чернилами или тушью. Чтобы не пропустить мелкие колонии, чашки дополнительно просматривают под лупой. Число колоний на бедных средах (нитритный агар, «голодный» агар, агаризованный почвенный экстракт и т. д.) определяют под микроскопом (окуляр 10X и объектив 3X. в крайнем случае окуляр 10X и объектив 8X).

В чашках Петри сначала подсчитывают 100 полей зрения, затем выводят среднее арифметическое на одно поле. Для определения числа колоний на чашке среднее число их на одно поле зрения переводят на общую площадь чашки. Устанавливают площадь чашки Петри (P) и площадь поля зрения (p), с тем, чтобы выявить, сколько полей зрения используемой системы помещается на площади чашки, для чего площадь чашки делят на площадь поля зрения и получают коэффициент K, на который умножают среднее число колонии в поле зрения на чашке.

Диаметр чашки Петри устанавливают визуально, а поля зрения — под микроскопом, используя для малых увеличений миллиметровую бумагу, а для больших (объективы 40 и 90) — объектный микрометр.

Подсчитав при поверхностном посеве число колоний на чашке, находят содержание зародышей в 1 мл соответствующего разведения, умножив число колоний на 20 (так как посеяно было 0,05 мл), а чтобы определить количество клеток микроорганизмов в 1 г сырой почвы, полученное число клеток в 1 мл умножают на степень разведения (10^3 , 10^4 , 10^5 и т. д.).

Для учета числа зародышей в 1 г абсолютно сухой почвы число клеток в 1 г сырой почвы делят на количество абсолютно сухой почвы, содержащейся в 1 г сырой почвы.

Учет микроорганизмов на МПА проводят визуально на четвертый день после посева. При наличии колоний *Bac. mycoides* количество микробов определяют на второй или третий день. После подсчета всех колоний на чашке их группируют по культуральным признакам и определяют роды (а иногда и виды) микроорганизмов, входящих в состав этих колоний.

Учет микрофлоры на крахмало-аммиачном агаре. Колонии на таком агаре подсчитывают на 7—10-й день. Из общего количества микроорганизмов отдельно учитывают: 1) пигментные — желтые и другие микобактерии образующие мелкие куполообразные колонии; 2) *Actinomyces* (= *Streptomyces*) — организмы с хорошо развитым несептированным мицелием и особыми органами плодоношения.

Отмечают окраску колоний, воздушного мицелия (серый, белый, зеленовато-серый, розовый) и среды (выделение пигмента в субстрат). Для описания пигментации можно использовать специальные пособия для определения цвета.

При дифференциации актиномицетов описывают консистенцию колоний (плотные, кожистые, рыхлые), поверхность (мучнистая, бархатистая) и запах (землистый, эфирный, фруктовый) колоний.

Учет микроорганизмов на бедной среде (нитритном агаре). Колонии на бедной среде учитывают под микроскопом на 6—7-й день культивирования. Если на колониях появляются *Protozoa* (о их наличии судят по образованию цист, которые хорошо просматриваются при малом увеличении объектива), подсчет проводят после шести дней инкубации.

При дифференциации колоний по культуральным признакам выделяют следующие роды.

1. *Nocardia*(=*Proactinomyces*) — колонии пастообразные, слизистые, сухие, по периферии образуется мицелиальная зона или мицелиальный ободок (рис. 33,а), состоящий из субстратного и надсубстратного мицелия. В центре, колонии чаще преобладают кокковидные клетки. Колонии бесцветные, лимонно-желтые, желтые, розовые, красные.

2. *Mycobacterium*.

3. *Arthrobacter* — колонии мелкие, плоские или слегка приподнятые, бесцветные, иногда с зеленовато-желтым оттенком. По периферии колонии образуется кружевной или складчатый ободок. У отдельных представителей края колоний зазубренные, а молодая культура состоит из мелких искривленных палочек, затем они довольно быстро распадаются, чаще на кокковидные клетки

4. Переходные формы от нокардий к микобактериям центре, а чаще по периферии колоний образуется недоразвитый мицелий. В редких случаях мицелий вырастает в субстрат, в виде кустистых образований.

5. *Микромоноспоры* — компактный мицелий полностью погружается в субстрат и становится едва замет

ным под микроскопом, а на поверхности агара кольцеобразно или радиально располагаются комочки слизи (бесцветные или темноокрашенные), содержащие споры этих микроорганизмов.

6. *Bactoderma* — колонии мелкие, в виде розоватого бархатистого налета, состоящего из пленки; в центре пленка складчатая, а по периферии — стекловидная. Край колонии волнистый или лопастный.

Учет на среде Эшби проводят на 5—6-е сутки. Отдельно подсчитывают колонии азотобактера — плоские, слизистые, мажущейся консистенции, диаметром 5—10 мм и олигонитрофильные бактерии — мелкие слизистые бесцветные колонии. Олигонитрофильные дрожжи — *Lipomyces* образуют слизистые молочно-белые колонии.

Учет миксобактерий (на картофельном агаре) — колонии амёбовидные, так как бактерии по среде продвигаются «всем фронтом». Вегетативные клетки расположены на слизи по краю колонии, а плодовые тела — ближе к центру концентрическими кольцами. Дифференцировка видов, родов и семейств основывается на характере плодовых тел. Однако не все виды миксобактерий при выращивании на агаровых средах образуют плодовые тела;

1. Род *Archangium* — колонии или псевдоплазмодии не образуют закругленных тел, но скручиваются, формируя брыжейкоподобные массы.

2. Род *Sorangium* — колонии образуют оформленные угловатые цисты, соединенные в закругленные плодовые тела.

3. Род *Polyangium* — колонии или псевдоплазмодии образуют закругленные или сферические цисты, окруженные мембраной или тесно сжатые, погруженные в слизистый слой.

4. Род *Mухосoccus* — плодовые тела сферические или удлиненные (колонкоподобные). У основания образуют обилие слизи. В плодовых телах палочки укорачиваются, формируя круглые микроцисты.

ЗАДАНИЯ И ВИДЫ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

Наименование работы	Всего часов	Форма контроля
1. Проработка лекционного материала	7	Опрос, конспект, тестирование
2. Подготовка к практическим занятиям	24	Опрос, конспект

3. Теоретическая подготовка по темам, отведенным на самостоятельную работу	23	Контрольный опрос, выступление на практических занятиях
4. Выполнение лабораторных работ	10	Отчет по лабораторной работе
Всего самостоятельной работы	64	

ТЕМЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ

Тема 1. Способы очистки сточных вод

Вопросы для самоконтроля:

1. Составы сточных вод, подвергаемых биологической очистке
2. Основная аппаратура и этапы очистки
3. Утилизация осадка сточных вод
4. Биологическая очистка промышленных сточных вод
5. Особенности и преимущества биохимических процессов очистки сточных вод

Литература:

1. Занько Н.Г., Малаян К.Р., Русак О.Н. Безопасность жизнедеятельности: Учебник. 13-е изд., испр. / Под ред. О.Н. Русака. - СПб.: Издательство "Лань", 2010. - 672 с.
2. Безопасность жизнедеятельности. Безопасность в чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера: учебное пособие для вузов / В.А. Акимов [и др.]. – М.: Высшая школа, 2006. – 591 с.

Тема 2. Продукты утилизации твердых бытовых отходов

Вопросы для самоконтроля:

1. Технологические схемы сепарации твердых бытовых отходов (ТБО)
2. Основные параметры переработки твердых бытовых отходов
3. Переработка ТБО после их сепарации по группам
4. Переработка древесины и целлюлозного волокна
5. Биохимическая переработка макулатуры и тряпья
6. Удаление печатной краски с бумаги с помощью ферментов

Литература:

1. Занько Н.Г., Малаян К.Р., Русак О.Н. Безопасность жизнедеятельности: Учебник. 13-е изд., испр. / Под ред. О.Н. Русака. - СПб.: Издательство "Лань", 2010. - 672 с.
2. Безопасность жизнедеятельности. Безопасность в чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера: учебное пособие для вузов / В.А. Акимов [и др.]. – М.: Высшая школа, 2006. – 591 с.

Тема 3. Применение биотехнологических методов для очистки газо-воздушных выбросов и деградация ксенобиотиков

Вопросы для самоконтроля:

1. Основные загрязнители воздуха, методы очистки
2. Установки для биологической очистки воздуха

3. Дегградация ксенобиотиков
4. Роль микробов в дегградации ксенобиотиков

Литература:

1. Занько Н.Г., Малаян К.Р., Русак О.Н. Безопасность жизнедеятельности: Учебник. 13-е изд., испр. / Под ред. О.Н. Русака. - СПб.: Издательство "Лань", 2010. - 672 с.
2. Безопасность жизнедеятельности. Безопасность в чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера: учебное пособие для вузов / В.А. Акимов [и др.]. – М.: Высшая школа, 2006. – 591 с.
3. Занько Н.Г. Медико-биологические основы безопасности жизнедеятельности: учебник для вузов /Н.Г. Занько, В.М. Ретнев. – 2-е изд., стереотип. – М.: Academia, 2004. – 287 с.

ПРИМЕРЫ ТЕСТОВ ДЛЯ ПРОМЕЖУТОЧНОГО КОНТРОЛЯ

1. Преимущество бактериальной очистки нефтяного пятна в водной среде по сравнению с химической: 1) легче проводится; 2) вызывает сопротивление окружающей среды; 3) более технологична; 4) не вызывает появления нового загрязняющего агента.
2. Самый простой в реализации очистки воды способ: 1) in situ; 2) on site; 3) from situ; 4) ex situ.
3. Способа in situ предполагает: 1) внесение специальных биопрепаратов; 2) использование физических методов очистки; 3) использование биореактора; 4) паровую экстракцию.
4. Биохимическая очистка производственных сточных вод нефтеперерабатывающих заводов НЕ производится в: аэрофильтрах (биофильтры); аэротенках; трубопроводах; биологических прудах.
5. Усреднение и осветление сточных вод от механических примесей проводится на: 1) четвертом этапе; 2) первом этапе; 3) втором этапе; 4) третьем этапе.
6. Существенная роль в создании и функционировании активного ила принадлежит: 1) микроорганизмам; 2) грибам; 3) растениям; 4) простейшим.
7. Какой этап отсутствует в распаде органических веществ: 1) растворение и гидролиз органических соединений; 2) филогенез; 3) ацидогенез; 4) метаногенез.
8. При определении содержания органических веществ широко используется способ: физическое потребление кислорода; 1) ненормированное потребление кислорода; 2) нормированное потребление кислорода; 3) биохимическое потребление кислорода.
9. Биологические пруды представляют собой: 1) каскад прудов, состоящих из 6 – 7 ступеней; 2) пруды, заполненные микроорганизмами; 3) пруды, заполненные водными животными; 4) каскад прудов, состоящий из 3 – 5 ступеней.
10. Очистка сточных вод подразумевает: 1) практически полное очищение от механических частиц; 2) полное отстаивание воды; 3) практически полное биологическое разложение органических соединений в воде; 4) обеззараживание воды.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ К ЭКЗАМЕНУ

1. История возникновения биотехнологии и основные периоды ее развития.
2. Современное состояние биотехнологии и основные достижения.
3. Связь биотехнологии с другими науками.
4. Основные направления биотехнологии.
5. Фундаментальные отличия микроорганизмов от других живых систем.
6. Культивирования микроорганизмов и клеток.

7. Методы стерилизации при культивировании клеток и микроорганизмов в искусственных условиях.
8. Факторы регулирования и оптимизации процесса культивирования клеток и микроорганизмов.
9. Виды питательных сред для ферментации микроорганизмов и клеток.
10. Процессы и способы культивирования микроорганизмов и клеток.
11. Антропогенное влияние на окружающую среду.
12. Основные виды загрязнения и состояние окружающей среды.
13. Понятие о ксенобиотиках и их утилизация.
14. Диоксины и диоксиноподобные вещества и их токсичность для живых систем.
15. Влияние дымово-газовых выбросов на живые системы.
16. Преимущества биотехнологических методов перед другими методами очищения окружающей среды от загрязнения.
17. Аппаратура и оборудование в биотехнологических методах.
18. Биофильтры, биореакторы и их использование в биотехнологических методах.
19. Медленно-, быстродействующие, капельные биофильтры, биоскрубберы, аэротенки, метантенки, биореакторы и ферментеры в эколого-биотехнологических методах утилизации.
20. Схемы технологических процессов очистки сточных вод.
21. Септитенки и очистка промышленных сточных вод.
22. Растения и их роль в очистке газовых выбросов.
23. Биопленка, активный ил, их свойства и значение в экологических методах утилизации.
24. Микро- и макрофауна, микро- и макрофлора в биодеградации.
25. Биоудобрение, биогумус, биоперегной их получение и использование.
26. Технология вермикультуры.
27. Биоремедиация: принципы, проблемы, подходы.
28. Утилизация токсических веществ микроорганизмами.
29. Утилизация отходов непищевого растительного сырья.
30. Микробиологическая деградация торфа и лигнина.
31. Деградация пектиносодержащего растительного сырья.
32. Влияние нитратов и нитритов на живые организмы и их деградация в растительных отходах.
33. Органические отходы и получение биогаза.
34. Процессы нитрификации и денитрификации и их влияние на плодородие почвы.
35. Применение биоудобрения для повышения плодородия почвы.
36. Микробиологическая утилизация ГВ и получение кормового белка.
37. Биотехнология переработки растительных отходов.
38. Биохимический и оздоровительный аспекты биодеградации.
39. Микробная деградация крахмалосодержащих отходов.
40. Получение высокомальтозных продуктов.
41. Биосенсоры и использование биологических рецепторов в качестве анализаторов.
42. Тест-системы и их использование в экомониторинге.
43. Складирование и хранение ТО.
44. Сепарация ТБО и их переработка.
45. Получение хозяйственно-ценных продуктов ТО.
46. Пути повышения эффективности переработки ТО.
47. Методы восстановления естественной растительности и сохранение биологического разнообразия растений и животных.
48. Фиторемедиация (фитотрансформация) токсикантов почвы и воды.

РЕЙТИНГОВАЯ СИСТЕМА ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА

Бальная раскладка отдельных элементов контроля по видам занятий

Элементы учебной деятельности	Максимальный балл на 1-ую КТ с начала семестра	Максимальный балл за период между 1КТ и 2КТ	Максимальный балл за период между 2КТ и на конец семестра	Всего за семестр
Посещение занятий	4	4	4	12
Тестовый контроль	9	8	8	25
Опрос на практических занятиях, дом. задание	8	14	18	40
Реферат	4	4	3	11
Компонент своевременности	4	4	4	12
Итого максимум за период:	29	34	37	100
Нарастающим итогом	29	63	100	100

Методика формирования пятибалльных оценок в контрольные точки

Баллы на дату контрольной точки	Оценка
≥ 90 % от максимальной суммы баллов на дату КТ	5
От 70% до 89% от максимальной суммы баллов на дату КТ	4
От 60% до 69% от максимальной суммы баллов на дату КТ	3
< 60 % от максимальной суммы баллов на дату КТ	2

Методика формирования итоговой оценки по дисциплине

Оценка (ГОС)	Итоговая сумма баллов, учитывает успешно сданный экзамен	Оценка (ECTS)
5 (отлично) (зачтено)	90 - 100	A (отлично)
4 (хорошо) (зачтено)	85 – 89	B (очень хорошо)
	75 – 84	C (хорошо)
	70 - 74	D (удовлетворительно)
65 – 69		
3 (удовлетворительно) (зачтено)	60 - 64	E (посредственно)
2 (неудовлетворительно), (не зачтено)	Ниже 60 баллов	F (неудовлетворительно)