

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования

ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ПРОГРАММА

вступительного экзамена в аспирантуру по направлению

06.06.01 БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Профиль «Микробиология»

История и методология биологии

История биологии как наука. Предмет истории биологии, её основные функции и структура. Место истории биологии в системе научного знания.

Развитие науки как целостный процесс. Основное содержание познавательного процесса. Формы развития науки. Понятие научно-исторической формации.

Первобытный интеллект. Особенности мышления первобытного человека. Возникновение объясняющего (причинного) интеллекта. Знания о живой природе у первобытного человека.

Знания о живой природе в ранних рабовладельческих государствах.

Причины и предпосылки возникновения биологии как науки: общечеловеческие, социальные и гносеологические.

Биология античности. Взгляды античных ученых на предмет сущности и происхождения жизни, представления об анатомии и физиологии человека, о систематике растений и животных.

Биология средних веков. Представления ученых о сущности жизни, органической эволюции, происхождении жизни. Типологическая концепция вида. Представление о естественной системе живого мира. Телеологическая парадигма и парадигма антропоцентризма.

Биология эпохи Возрождения. Роль великих путешествий в пополнении биологических коллекций.

Биология буржуазного общества. Возникновение профессиональной науки. Организация первых научных обществ, академий, обсерваторий и журналов. Научные экспедиции, их цели и задачи.

Систематика – главная наука биологии XVII – XVIII вв. Изобретение дихотомического ключа и бинарной номенклатуры. Представления о природе вида.

Типологическая и биологическая концепции вида. Значение трудов систематиков долиннеевского периода. Значение трудов К. Линнея для современной систематики.

Систематика постлиннеевского (неклассического) периода.

Применение микроскопа в биологических исследованиях. Изучение микроорганизмов и тонкого строения растений и животных. Становление и развитие эмбриологии. Становление сравнительной анатомии, палеонтологии и стратиграфии. Возникновение и значение ламаркизма. Изобретение ахроматического микроскопа (Эйлер) и становление цитологии в первой половине XIX в. Значение клеточной теории в науке XIX века. Возникновение дарвинизма. Значение дарвинизма для науки XIX в. Дарвинизм и кризис систематики во второй половине XIX века.

Развитие физиологии, биохимии и биофизики. Возникновение экологии как самостоятельной научной дисциплины. Возникновение генетики.

Биология эпохи НТР. Основные черты развития науки XX века. Двадцатый век как эпоха НТР (НТП). Ускорение развития науки. Дифференциация. Формирование пограничных наук. Связь науки и производства, науки и идеологии. Новая форма апологетики.

Особенности развития науки в СССР. Феномены Н.И. Вавилова и Т.Д. Лысенко.

Общие представления о научной методологии. Предмет методологии науки, ее цели и задачи. Структура методологии. Методология как технология научного поиска и как наука о процессе познания. Представления о методике и методе. Гносеология. Базовые принципы методологии: объективности, познаваемости, диалектического характера процесса познания и практики, как основы познания и критерия истины.

Сущность эмпирического уровня научного познания и его структура.

Чувственное познание. Первичное теоретическое осмысление (дискурсивная обработка). Наблюдение как специально организованное чувственное познание действительности.

Эксперимент как метод эмпирического исследования. Преимущества и недостатки экспериментального метода по сравнению с наблюдением. Полевой и лабораторный разновидности эксперимента, их сравнительная характеристика. Моделирование как особая разновидность эксперимента. Требования, предъявляемые к эксперименту.

Проблема факта.

Сущность теоретического уровня научного познания и его структура. Формы логического познания: понятие, суждение и умозаключение.

Основные законы формальной логики: закон тождества, противоречия, исключенного третьего и достаточного основания. Методика ведения дискуссии. Основные логические процессы: обобщение, абстрагирование, идеализация, формализация, анализ и синтез, индукция и дедукция.

Представление о теории как о методе. Понятие парадигмы. Значение парадигм для развития науки.

Проблема, гипотеза и теория как формы научного познания.

Современные проблемы биологии

Современные проблемы систематики. Принципы линнеевской систематики.

Задачи современной систематики. Численная фенетика. Хеннигова кладистика. Современная кладистика: паттерн кладистика, генофилетика, новая филогенетика.

Причины изменения парадигмы и методологии систематики на рубеже XIX-XX веков. Формулировка новейшей задачи систематики, её роль в познании мира. Постулаты и методология численной фенетики. Теоретические и практические недостатки данной концепции. Теоретическая база и методология хенниговой кладистики.

Современные школы систематики. Причины многообразия школ современной кладистики. 2. Характеристика новейших направлений в систематике: а) паттерн-кладистика; б) генофилетика; в) «новая» филогенетика.

Мегасистематика. Эволюция взглядов на систему царств живого. Содержание и критика филогенетической схемы Уиттекера. Причины изменения подходов к классификации высоких таксонов. Обоснование введения новых таксономических категорий: доминионов и империй. Сравнительная характеристика империй клеточных и неклеточных организмов. Характеристика доминионов клеточных организмов: а) археобактерии; б) настоящие бактерии; в) ядерные.

Молекулярная биология. Краткая история зарождения, предметная область и задачи молекулярной биологии.

Геномика – учение о строении и функционировании генома: предмет и задачи науки. Проблемы понятия генома. Задачи определения и методика оценки минимального размера генома. Эволюция размера генома; ее связь с ростом функциональной активности и сложности организмов.

Особенности строения генома неклеточных организмов. Геном археобактерий как исходный тип строения генома. Особенности строения генома настоящих бактерий: гипотеза активного нуклеоида, оперонная организация генома. Специфика организации генома ядерных организмов: С-парадокс, хроматин, хромосомы. Концепции позднего и раннего происхождения интронов.

Экспрессия генов у неклеточных организмов на примере бактериофагов. Активация генов у прокариотических организмов. Репрессия генов у прокариотических организмов. «Амфотерные» регуляторы транскрипции. Гипотезы, объясняющие избыточность генома ядерных: концепция паразитической и альтруистичной ДНК. Общая схема экспрессии генов. Особенности экспрессии генов у неклеточных организмов. Механизм регуляции активности генов у прокариотических организмов.

Причины сложности экспрессии генов у ядерных. Представления о природе и механизме функционирования вторичных мессенджеров. Комбинаторная природа факторов транскрипции: механизм взаимодействия белков в регуляторном комплексе, представления о роли и природе энхансеров и сайленсеров. Механизм регуляции активности генов на этапе транскрипции.

Посттранскрипционное регулирование активности генов: сплайсинг, транспорт и депонирование РНК. Роль депонирования РНК в эмбриогенезе многоклеточных.

Регуляция экспрессии генов на этапе трансляции. Посттрансляционное регулирование экспрессии генов: модификация и сплайсинг белков.

Современная экология и глобальные экологические проблемы

Проблемы предмета экологического знания: экстенсивный путь развития «Экологии», проблема экологизации научного знания. Принципы и методология экологических исследований.

Проблемы аутоэкологии. Понятие жизненного цикла организма. Компоненты жизненного цикла: размер организма, скорость роста и развития, размножение, соматические особенности.

Модель идеального жизненного цикла. Представление о компромиссном жизненном цикле. Явление компенсации.

Ресурсы адаптации, их классификация по Тилману.

Проблемы концепции экологической ниши. Экологическая ниша и экологическая лицензия. Перекрытие экологических ниш. Динамика экологической ниши в пространстве и онтогенезе.

Адаптации: явление, формы, относительность. Понятие адаптации.

Экологические группы организмов. Типы питания организмов. Питательная ценность организмов. Экологическая ниша и экологическая лицензия. Жизненные формы организмов.

Достижения популяционной экологии. Численность популяции: изменчивость или стабильность. Теории численности популяций. Циклы и квазициклы. Регуляция численности популяций.

Генетика популяций. Модели генетической структуры популяции: островная и ее варианты, лестничная и «изоляция расстоянием». Правила генетической структуры популяций. Генетическая система популяций во времени и пространстве.

Хищничество: понятие и типы хищников. Ширины спектра питания. Переключение и оптимальная диета. Теорема пороговой ценности. Функциональный и численный ответ хищника на рост численности жертвы. Динамика системы хищник-жертва.

Внутривидовая конкуренция. Внутривидовая конкуренция и регуляция численности популяции. Межвидовая конкуренция. Логистическая модель межвидовой конкуренции. Принцип конкурентного исключения. Сосуществование видов: гипотеза лимитирующего сходства. Модель дифференциального использования ресурсов Тилмана.

Научные основы урбанистики (экология города). Энергопотребление и функционирование городских экосистем. Проблемы охраны окружающей среды, связанные с ростом городов и промышленного производства.

Агроэкология. Экологические основы управления агроландшафтами. Компоненты агроэкосистемы. Экологические аспекты интенсификации земледелия. Адаптивная система ведения сельского хозяйства.

Экологические основы управления агроландшафтами. Компоненты агроэкосистемы. Энергопотребление, функционирование и биопродуктивность агроэкосистем. Экологические аспекты интенсификации земледелия. Адаптивная система ведения сельского хозяйства. Окружающая среда: фундаментальные понятия, проблемы и аспекты изучения. Научные основы охраны окружающей среды. Понятие «здоровье человека». Экологические риски. Законы взаимоотношения «человек-природа». Пути решения проблем сохранения окружающей среды. Социальный обмен веществ. Антропогенный материальный баланс. Антропогенные воздействия на потоки энергии и круговорот веществ. Классификация антропогенных воздействий. Понятие загрязнения окружающей среды. Виды загрязнителей. Экологические кризисы и экологические революции.

Методология охраны окружающей среды. Мониторинг окружающей среды. Оценка качества окружающей среды. Нормирование загрязняющих веществ. Моделирование природных процессов. Прогноз и прогнозирование в природопользовании.

Охрана окружающей среды. Предотвращенный экологический ущерб: общие положения и методология оценки. Экологическая аттестация и паспортизация. Экологическая экспертиза.

Проблемы охраны растительных ресурсов. Проблемы охраны животных ресурсов. Проблемы охраны почвенных ресурсов.

Учение о биосфере

Понятие о биосфере - области распространения жизни. Единство и целостность биосферы. Методологическое значение учения о биосфере для охраны природы, в решении проблем и развитии методов прикладной экологии. Место учения о биосфере в системе естественных наук.

Границы современной биосферы. Физико-химические параметры, определяющие распространение жизни.

Современные параметры живого вещества: биомасса и продуктивность организмов суши и моря, видовое разнообразие прокариот и эукариот, интегральные показатели биологического круговорота в биосфере. Глобальные функции живого вещества в биосфере: энергетическая, концентрационная функция, средообразующая, деструктивная, транспортная.

Учение В.И. Вернадского о биосфере, космологический смысл учения. Эволюционные изменения интегральных характеристик биосферы. Современные представления об изменении биомассы и биологической продуктивности живого вещества в ходе эволюции. Изменение энергетической структуры биосферы, накопление в ней энергии. Связь энергетической структуры биосферы и процессов совершенствования биоэнергетических систем. Изменение информационного «фонда» биосферы: увеличение биологической информации, накопление информации в биокосных и биогенных образованиях. Этапы развития биологического круговорота элементов, повышение его интенсивности в ходе эволюции жизни и биосферы. Сопряженная эволюция абиотических и биотических компонентов среды. Саморегуляция биосферы и биосферные адаптации.

Последовательность и продолжительность основных этапов истории биосферы, изменения в характере фаун и флор.

Влияние эволюции живого вещества на газовый состав атмосферы. Гипотезы о возникновении атмосферы Земли, изменение газового состава атмосферы в истории Земли. Взаимовлияние газового состава атмосферы, процесса эволюции живых организмов и теплового режима планеты.

Гипотезы о происхождении гидросферы Земли, свойства первичного океана. Роль живых организмов в формировании химического состава океана в докембрии. Изменение химизма океана в связи с эволюцией жизни в фанерозое. Биокосная природа современного океана: биогеохимические процессы в океане, участие процессов жизнедеятельности в дифференциации свойств водной толщи, в образовании илов, в миграции макро- и микроэлементов. Зональность в накоплении биогенных осадков мирового океана.

Эволюция осадкообразования в связи с эволюцией жизни. Абиогенный этап осадкообразования. Этапы осадкообразования в связи с эволюцией живого вещества. Прямое и косвенное влияние процессов жизнедеятельности на осадкообразование. Биогеохимические доказательства участия живых организмов в образовании осадочных пород докембрия. Процессы взаимодействия материи и энергии биосферы с внутренней энергией Земли, веществом глубинного происхождения.

Выход живых организмов на сушу и ее биогенное преобразование. Поверхностные воды и илы как биокосные системы; роль растений и микроорганизмов в формировании физико-химических и химических свойств вод. Разнообразие илов, биогеохимические механизмы их образования. Биокосная природа коры выветривания и водоносных горизонтов литосферы, разнообразие их свойств и связь с процессами жизнедеятельности и почвообразования. Биокосная природа почв: Связь почвообразования с эволюцией высших растений и преобразованиями биологического круговорота веществ. Биогеохимические и биоэнергетические закономерности функционирования биогеоценозов.

Космические и планетарные предпосылки эволюции жизни и биосферы. Принципы и критерии периодизации истории биосферы. Понятие об эволюционно-биосферной формации.

Взаимосвязь истории природы и истории общества. Воздействие древнего человека на экосистемы Земли. Экологические последствия древнего земледелия и скотоводства. Техногенная трансформация экосистем. Состояние живого вещества в современной биосфере.

Физическая организованность современной биосферы. Естественный физический фон Земли. Солнечно-земные связи и биосфера. Биологическое действие электромагнитных полей. Биогенные механизмы регуляции спектрального состава солнечного света. Энтропия, тепловое излучение Земли и биосфера. Биологическое действие УФ излучения. Ионизирующие излучения. Техногенные физические (энергетические) загрязнения биосферы.

Химическая организованность современной биосферы. Основные закономерности биогенной, физико-химической, механической, техногенной миграции химических элементов в биосфере. Биогеохимические циклы элементов в биосфере, глобальные циклы

углерода, кислорода, азота, фосфора, кальция, тяжёлых металлов. Антропогенные нарушения глобальных циклов миграции химических элементов в биосфере.

Направленность развития современной биосферы. Понятие единства человека и природы по В.И. Вернадскому, учение о ноосфере. Проблема сохранения биоразнообразия, нарушения глобальных биогеохимических циклов веществ в биосфере и их последствия. Концепция коэволюции человека и биосферы. Анализ альтернативных путей возможной эволюции биосферы: остановка технического прогресса и возврат к автотрофным механизмам существования, замена биосферы техносферой, переселение на другие планеты.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ И СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Разнообразие и систематика прокариот. Глобальная таксономическая инициатива (Global Taxonomic Initiative). Коллекции микробных культур – фундаментальная основа разработки новой методологии и новых концепций в систематике микроорганизмов

Известное микробное разнообразие (состояние, потенциал, стратегия сохранения) в свете Конвенции о биологическом разнообразии (The Convention on Biological Diversity) и Повестки дня на XXI век (Agenda XXI). Глобальная таксономическая инициатива (Global Taxonomic Initiative), способствующая усилению роли таксономии в изучении и охране биологического разнообразия. Проблема детекции некультивируемых организмов в микробных сообществах. Принципы построения филогенетических систем, отражающих эволюционные связи организмов. Внедрение новых хемотаксономических и молекулярно-биологических методов исследования. Формирование широкой сети децентрализованных коллекций микробиологических генетических ресурсов. Значение для развития бактериальной систематики микробных коллекций и создаваемых компьютерных баз данных, позволяющих аккумулировать и анализировать большие массивы различной информации о микроорганизмах.

Терминология, используемая в систематике. Вопросы гармонизации используемой терминологии

Формализация понятий "Систематика", "Классификация", "Таксономия", "Идентификация", "Номенклатура". Толкование терминов различными исследователями, как то: Г.А. Заварзин, Г. Шлегель (H.G. Schlegel), Г. Симпсон (G.G. Simpson), Р.Р. Сокел (R.R. Sokal) и др. Естественные (филогенетические) и искусственные классификации. Международный Кодекс номенклатуры бактерий (International Code of Nomenclature of Bacteria) как собрание принципов, правил и рекомендаций, ставящих цель унификации научных названий и разработки точной системы номенклатуры бактерий. Концепция номенклатурного типа. Правила присвоения и изменения названий бактерий. Цитирование названий. Международный Комитет по систематике бактерий (International Committee on Systematic Bacteriology - ICSB). Одобренный список наименований бактерий (Approved Lists of Bacterial Names) и его дополнения. Международный журнал по систематике и эволюционной микробиологии (International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology - IJSEM). 01 января 1980 года как новый рубеж в развитии систематики бактерий. Определитель бактерий Берги (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology). Всемирный справочник коллекций культур (World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms).

Проблема бактериального вида: историко-методологический аспект

Определение статуса бактериального вида

Хронология международных микробиологических и бактериологических

конгрессов. Типовая концепция вида. "Рабочая" концепция вида. Популяционная концепция бактериального таксона. Определение статуса бактериального вида как совокупность штаммов с высоким уровнем сходства последовательностей ДНК, а также фенотипических признаков. Таксономическое определение вида бактерий с использованием полифазного подхода, при котором первостепенную роль играет 70%-ный уровень ДНК/ДНК-сходства.

Проблема макротаксономии (таксонов надвидового уровня)

Иерархический и эколого-трофический принцип конструирования мекросистем. Многоцарственные системы

Категория "Царства" в системе организмов. Концепция доменов. Концепция прокариотной и эукариотной клеточной организации. История понятий "Прокариоты" и "Эукариоты". Филогенетический аспект концепции прокариот и эукариот. Таксономический аспект концепции прокариот и эукариот. Иерархический и эколого-трофический принцип конструирования макросистем. Оценка таксономического статуса организмов, причисляемых к мезокариотам. Прото-эукариотный анcestor. Мегатаксономия Р. Уиттеккера (R.H. Whittaker). Многоцарственные системы А.Л. Тахтаджяна, Н.Н. Воронцова, Л. Маргулис (L. Margulis), Г. Лидейла (G.F. Leedale), Т. Кавалье-Смита (T. Cavalier-Smith). Концепция пространства логических возможностей, предложенная Г.А. Завариным.

Концепция архей

Открытие архей – крупнейшее достижение современного естествознания XX века

Истоки концепции. Работа Г. Фокса с соавт. "Филогения прокариот" (Fox G.E. *et al.* The Phylogeny of Prokaryotes, 1980). Молекулярные основы организации архей. Фенотип и генотип архей: сравнительно-эволюционный аспект. Проблема анcestора в хронологической последовательности. Прогенотная гипотеза К. Везе (C.R. Woese) и Г. Фокса (G.E. Fox). Гипотезы термоплазменного анcestора Д.Серчи (D.G. Searcy) и О.Кандлера (O. Kandler). Гипотеза универсального анcestора А. Вайса (A. Wais). Гипотеза археобактериального анcestора Д.А. Прангишвили. Альтернативный вариант гипотезы анcestора и макросистемы, предложенный В.Н. Гутиной. Филогенетическая структура домена (Dominium) *Archae*.

Исторические аспекты и новые направления в систематике прокариот

Основные этапы истории развития систематики бактерий

Морфологический подход к систематике. Классификация бактерий Ф. Кона (F. Cohn). "Естественные" классификации бактерий С. Орла-Йенсена (S. Orla-Jensen), А. Фишера, Э. Клуйвера (A. Klayver), Р. Стейниера (R.J. Stanier) и К. Ван-Нила (C.B. Van Niel), К. Биссета (K.A. Bisset), С.Н. Виноградского, М. Бейеринка (M. Beijerinck), основанные на применении морфо-физиологических критериев. Принцип номенклатурных типов в систематике и приоритета в номенклатуре.

Новые направления в бактериальной систематике

Нумерическая или численная таксономия бактерий: история, теоретическая основа. Анализ результатов адансоновых классификаций: преимущества и недостатки. Молекулярно-биологическая оценка систематической близости организмов. Связь нуклеотидного состава ДНК бактерий с их положением в систематике. Метод молекулярной гибридизации ДНК (или ДНК/РНК). Методы анализа рибосомальных генов. Сопоставление разрешающей способности различных методов генетического анализа и уровней рангов таксонов, на которых выявляется родство. Геносистематика бактерий как новая область систематики, базирующаяся на сравнительном анализе

геномов по определению нуклеотидного состава ДНК и способности гомологичных ДНК и РНК к гибридизации.

Филогенетическая систематика на базе генотипического анализа

Семантиды в филогении бактерий и перспективы систематики прокариот

Новый принцип изучения филогении: концепция Э. Цукерландла (E. Zuckerkandl) и Л. Полинга (L. Pauling). Семантиды в филогении бактерий. Генетические признаки: нуклеотидный состав ДНК и степень генетической гомологии, выявляемые методом гибридизации ДНК/ДНК или ДНК/рРНК и исследованием нуклеотидных последовательностей в олигонуклеотидах 16S рРНК; сравнение последовательностей 5S рРНК. Перспективы бактериальной систематики. "Экологизация" бактериальной систематики. Протеобактерии (*Proteobacteria* Stackebrandt, Murrey and Truper 1988): экологический принцип в систематике прокариот

Концепция филогенетического дерева для прокариот

Филогенетические деревья и их интерпретация. рРНК – всеобщий филогенетический маркер. Алгоритмы для построения филогенетических деревьев. Факторы, влияющие на топологию (порядок ветвления) филогенетических деревьев.

Систематика на основе фенотипического анализа

Современные методы фенотипического анализа. Техника идентификации

Признаки, используемые для классификации и идентификации. Современные методы их исследования. Приемы фенотипического анализа. Фенотипические признаки: морфологические, культуральные, физиологические. Методология таксономии, получившая наименование "Хемотаксономия". Анализ химических признаков клеток прокариот как инструмент таксономии. Хемотаксономические признаки. Тип строения клеточной стенки в качестве таксономического маркера при выделении таксонов бактерий высокого ранга. Классификация пептидогликанов. Состав и структура пептидогликанов. Состав и структура отдельных липидов бактериальных клеток. Миколовые кислоты. Типы фосфолипидов, характеризующихся присутствием компонентов, имеющих диагностическое значение. Гликолипиды. Простые жирные кислоты. Переносчики электронов как инструмент таксономического и филогенетического анализа: цитохромы, дыхательные хиноны, убихиноны, родохиноны, менахиноны, бензотиофенхиноны. Полиамины как полезные маркеры для химической классификации прокариот. Иммунохимические методы. Иммунодиффузионный анализ в видовой диагностике прокариотных организмов. Метод флуоресцирующих антител и его применение для ускоренной детекции и идентификации зубактерий *in situ*. Техника идентификации: основные правила, практические шаги, постановка дифференцирующих тестов.

Филогенетический и таксономический статус основных групп прокариот

Домен (Dominium) *Archaea*

Понятие доминиона (домена от англ. domain). Филогенетическая структура домена *Archaea*. Филум *Crenarchaeota* - кренархеоты, креноты (от греч. - ключ, источник и - древний, примитивный), включающее экстремальных термофилов (другие названия - эоциты, термоацидофилы, серные анаэробные археобактерии), обитающих в горячих (55-100° С) кислых (рН 1-3) источниках. Филум *Euryarchaeota* – эвриархеоты (от греч. evrus – широкий, обширный и archeos – древний, примитивный): метаногены, образующие метан из углекислого газа и водорода; экстремальные галофилы, живущие в рассолах высокой концентрации; термофил *Thermococcus*. Сульфатредуцирующий термофил *Archaeoglobus fulgidus*. Филум *Korarchaeota* – корархеоты, некультурабельные археи горячих источников, описанные только на основе фило типа (*candidatus*).

Домен (Dominium) Bacteria

Филогенетическая структура домена *Bacteria*. Основные эволюционные линии внутри домена, выявленные по результатам анализа 16S-rРНК. Филогенетические взаимосвязи между различными таксонами. Таксономический статус представителей некоторых филумов (*Proteobacteria* (гетеротрофных грамотрицательных бактерий или дидермных прокариот по R. Gupta, 1998), *Firmicutes* (фирмикут с низким молярным содержанием ГЦ в ДНК), *Actinobacteria* (гетеротрофных неспорулирующих грамположительных бактерий или монодермных прокариот).

Большой практикум «МИКРОБИОЛОГИЯ»

Современные методы полифазной таксономии. Хемотаксономия. Установление хемотипа клеточной стенки нокардиоподобных и коринеподобных актинобактерий

Хемотаксономия играет исключительно плодотворную роль в систематике и идентификации актинобактерий. Своим успехом она обязана простым и быстрым количественным и качественным анализам химического состава клеточной стенки и липидов организмов. В качестве хемотаксономических критериев используется химический состав клеточных компонентов. Одним из преимуществ хемотаксономических методов является то, что при их использовании не требуется углубленного и обычно длительного изучения специфических особенностей развития организмов, их жизненных циклов. Специалист в данном случае может ограничиться знанием условий получения доброкачественной биомассы, необходимые количества которой очень незначительны. Работа по изучению хемотаксономических признаков актинобактерий не связана с какими-либо специальными приемами. Они должны быть выращены на средах и в условиях, обеспечивающих быстрый и хороший рост культуры. Как правило, биомассу собирают в конце логарифмической или в начале стационарной фазы роста. Ниже рассматриваются основные хемотаксономические признаки: “хемотип клеточной стенки”, предусматривающий определение аминокислотного и моносахаридного состава клеток (Раздел 1. Тема 1, 2); “свободные миколовые кислоты” или “тест LCN-A” (Раздел 2. Тема 3); “чувствительность к антибиотикам” (Раздел 3. Тема 4).

Определение моносахаридного состава гидролизатов целых клеток.

Первоначальные представления о типах клеточных стенок микроорганизмов изложены в обзоре Лешевалье с соавт. (Lechevalier H.A., Lechevalier M.P., Gerber N.N. Chemical composition as a criterion in the classification of *Actinomycetes*. Adv. Appl. Microbiol. 1971. V. 14. P. 47-72). Большинство актинобактерий имеют I, II, III и IV хемотип клеточной стенки, которые легко установить путем определения в гидролизатах целых клеток дифференцирующих основных сахаров.

I тип клеточной стенки предполагает наличие LL-формы диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) и глицина. Диагностические сахара отсутствуют; II тип клеточной стенки предполагает наличие мезо-ДАПК и ксилозы и арабинозы (тип сахаров D); III тип клеточной стенки предполагает наличие мезо-ДАПК и мадуросы (3-метил-D-галактоза) (тип сахаров B). Иногда мадуроса отсутствует (тип сахаров C); IV тип клеточной стенки предполагает наличие мезо-ДАПК и арабинозы и галактозы (тип сахаров A).

Качественный состав дифференцирующих компонентов бактериальных клеток – стабильный признак, не зависящий от среды и условий культивирования микроорганизмов. Выявление основных сахаров бактериальных клеток осуществляется с использованием метода бумажного хроматографического анализа.

Определение изомеров диаминопимелиновой кислоты в гидролизатах целых клеток актинобактерий.

Выявление диагностических диаминокислот бактериальных клеток осуществляется с использованием метода бумажного хроматографического анализа. Фильтровальная бумага является носителем неподвижной фазы, а система растворителей – подвижной фазой, которая перемещается на хроматограмме под действием капиллярных сил. Таксономическое значение придается компонентам, присутствующим в больших количествах, минорные компоненты не используются. Оценка носит качественный характер.

Современные методы полифазной таксономии. Хемотаксономия. Установление типа миколовых кислот нокардиоподобных и коринеподобных актинобактерий

Определение свободных миколовых кислот (липид LCN-A) методом тонкослойной хроматографии метанолизатов целых клеток.

На основании типов клеточной стенки не всегда представляется возможным различить истинные нокардии, микобактерии, родококки и коринебактерии, ибо все они имеют клеточные стенки IV хемотипа, содержащие *мезо*- диаминопимелиновую кислоту, арабинозу и галактозу в больших количествах. Дифференцировать бактерии этих родов позволяет метод обнаружения липида LCN-A путем анализа спиртово-эфирных клеточных экстрактов на тонкослойных хроматограммах. Специфический липид LCN-A впервые был обнаружен Мордарска Г. с Мордарски М. в 1970 году в патогенных истинных нокардиях, за что получил название “*Липид, характерный для нокардий*” (“*Lipid Characteristic of Nocardia*”). В дальнейшем многими авторами липид LCN-A был выявлен у представителей родококков, коринебактерий, но не у микобактерий, более высокомолекулярные миколовые кислоты которых не извлекаются данными растворителями и не выявляются на хроматограмме. Нерастворимость миколовых кислот микобактерий в смеси спирт-эфир положена в основу экспрессного метода дифференциации представителей *Mycobacterium* от *Nocardia*, *Rhodococcus* и *Corynebacterium*. Таким образом, важным хемотаксономическим критерием в идентификации актинобактерий является присутствие в них определенного типа миколовых кислот, представляющих собой высокомолекулярные α -разветвленные β -гидроксильированные кислоты. Липид LCN-A представляет собой комплекс свободных миколовых кислот, экстрагируемых в отличие от миколовых кислот истинных микобактерий спиртово-эфирной смесью. Высокомолекулярные миколовые кислоты микобактерий, как правило, экстрагируются хлороформом. Так, миколовые кислоты с наибольшим (60-98) числом углеродных атомов характерны для микобактерий, нокардиям свойственны миколовые кислоты с 45-58 атомами углерода, большинству родококков – с 35-50, коринебактериям – с 20-36 атомами углерода. Тест LCN-A помогает разграничить труднодифференцируемые культуры, имеющие IV хемотип клеточной стенки. Липид LCN-A, выявляемый у родококков, коринебактерий и нокардий, имеет на тонкослойных хроматограммах неодинаковое положение пятен: более высокое значение R_f имеет липид LCN-A, изолируемый из нокардий, ниже всех на хроматограмме располагается липид LCN-A из коринебактерий, а промежуточное положение между коринемиколовыми и нокардиомиколовыми кислотами занимают миколовые кислоты из родококков. Неизменное присутствие миколовых кислот определенного типа у тех или иных актинобактерий делает их надежным и ценным хемотаксономическим критерием в классификации и идентификации микроорганизмов с хемотипом клеточной стенки.

Антибиотикочувствительность бактерий как дополнительный маркер дифференциации микроорганизмов

Установление видовой принадлежности актинобактерий на основе анализа антибиограмм с использованием программного комплекса “*Identification*”.

Чувствительность к антибиотикам сегодня часто включается в описание таксономических взаимоотношений между различными родами и видами актинобактерий. Изучение устойчивости бактерий к разным классам антибиотических веществ методом антибиотикограмм позволяет быстро получить значительную информацию о геноме исследуемых бактерий и использовать ее в таксономических целях. Чувствительность к антибиотикам различной природы и спектра действия имеет значение в родовой и видовой классификации нокардиоподобных бактерий. Представители родококков отличаются от актинобактерий родов *Nocardia* и *Gordona* повышенной чувствительностью к большинству известных антибиотических веществ. Идентификация бактериальных культур осуществляется с использованием программного комплекса “*Identification*” [Свид-во о госрегистрации № 2010615181 от 11.08.2010) по количественным показателям чувствительности к одному, двум или трем антибиотикам. При этом программа осуществляет подбор антибиотика либо пары или тройки антибиотиков, дающих максимальную вероятность правильной идентификации штамма. С помощью программы “*Identification*” будет проведена идентификация культур актинобактерий, свежее выделенных из техногенно загрязненных почв.

Детекция и идентификация эубактерий с использованием методов иммунохимического анализа

Основное преимущество иммунохимических методов исследования – их высокая чувствительность и специфичность. В этом отношении они превосходят современные ферментативные методы анализа. Выявляемое в реакции иммунодиффузии минимальное количество антител в пересчете на белковый азот составляет 3,0-9,0 мкг/мл, в реакции иммунофлуоресценции – 0,05-0,1 мкг/мл.

Применение иммунохимических методов за рамками медико-биологических исследований долгое время носило ограниченный характер. Лишь только в последние годы они начали широко применяться при решении спорных вопросов систематики труднодифференцируемых таксонов и в экологических исследованиях непатогенных бактерий. Быстрой реализации возможностей иммунохимического анализа препятствует недостаточное знание антигенных особенностей этой группы микроорганизмов.

Идентификация бактерий рода *Rhodococcus* методом двойной иммунодиффузии в агаровом геле по Оухтерлони.

Метод позволяет не только дифференцировать отдельные виды и даже штаммы, но и проследить антигенные взаимоотношения между отдельными таксонами родококков. Метод иммунодиффузии требует большой четкости, тщательности исполнения, последовательности и стандартизации условий работы, так как игнорирование некоторых технических деталей при постановке реакции иммунодиффузии может привести к появлению артефактов, существенно влияющих на интерпретацию данных. Принцип метода иммунодиффузии в агаровом геле заключается в том, что антиген и антитело, реагируя в агаре, образуют преципитат, который с течением времени проявляется в виде резкой линии преципитации при условии, если антиген и антитело взяты в оптимальных соотношениях. При этом число линий преципитации соответствует числу пар антиген-антитело в исследуемой системе. Реакцию проводят в плоском слое агара, находящегося в чашке Петри. В агаре делают лунки, в одну из которых заливают антисыворотку, в другие – препараты исследуемых антигенов. Антигены и антитела, диффундируя из лунок, встречаются и образуют столько линий преципитации, сколько соответствующих пар антиген-антитело имеется в исследуемой системе. Используя данный вариант метода преципитации в агаре, можно одновременно сравнивать между собой антигены в двух и большем числе препаратов. На основании сравнительного анализа антигенов выделяется три вида реакции, с которыми чаще всего сталкивается экспериментатор: реакции идентичности, реакции неидентичности, реакции частичной идентичности.

Обнаружение и идентификация родококков непрямым методом флуоресцирующих антител.

Достаточная чувствительность и четкость реакции иммунофлуоресценции, относительная простота проведения и малое количество времени для ее выполнения (продолжительность реакции иммунофлуоресценции составляет 1,0-1,5 ч, не считая времени, затрачиваемого на приготовление видоспецифических антисывороток) позволяют за короткий промежуток времени исследовать большое количество чистых культур и образцов природного материала. Данный метод анализа экономичен, позволяет избежать промежутков времени между забором природного образца и исследованием его в лаборатории и незаменим в полевых условиях. В основе непрямого метода флуоресцирующих антител лежит специфическое взаимодействие гомологичного антигена с комплементарными антителами немеченой иммунной сыворотки, которые в дальнейшем специфически реагируют с флуоресцирующими антивидовыми иммуноглобулинами. Ингредиентная формула метода: Прямой метод флуоресцирующих антител = Антиген + Немеченое антитело + Флуоресцирующие антивидовые иммуноглобулины. Коммерческий препарат флуоресцирующих антивидовых иммуноглобулинов представляет собой высушенную лиофильным методом фракцию глобулинов гипериммунной (против сывороточных иммуноглобулинов человека или животных) сыворотки, к которым химическим путем присоединен флуорохром – изотиоцианат флуоресцеина. Непрямой метод флуоресцирующих антител предназначен для обнаружения и идентификации антигенов, а также выявления и титрования комплементарных к ним антител. В настоящее время метод флуоресцирующих антител занял определенное место в области идентификации непатогенных микроорганизмов и находит все более широкое внедрение в практике экологической микробиологии.

Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации

Диссоциация – один из естественных процессов, обуславливающих гетерогенность микробных популяций. Вопрос о популяционной изменчивости микроорганизмов имеет особую значимость в связи с бурным развитием биотехнологии, так как в производственных условиях используются большие популяции клеток, которые должны сохранять высокую активность в течение ряда поколений. Значительный вклад в гетерогенность популяции вносят генетические процессы, связанные с наличием в популяциях фагов, плазмид; перестройка возрастной структуры популяции. Диссоциация – это расщепление однородной популяции бактерий на варианты, различающиеся генетическими, физиолого-биохимическими и морфологическими свойствами. Практические занятия посвящены в основном диссоциации сапротрофных корине- и нокардиоподобных бактерий, которые широко распространены в природе и способны к разложению различных ксенобиотиков.

Получение диссоциантов корине- и нокардиоподобных бактерий и исследование их физиолого-биохимических особенностей.

Интенсивность и направление диссоциативных переходов изучаются на культурах, полученных в результате последовательных пересевов из одной колонии или, лучше, из одной клетки. Для этого используется метод Косикова, т.е. выделение единичных клеток платиновой иглой с очень тонким концом из мазка сильно разбавленной суспензии клеток в питательной среде, содержащей 1% желатина. Частоту возникновения измененных вариантов в популяции бактерий определяют с использованием “флуктуационного теста” Лурия и Дельбрюка. Идея метода заключается в параллельных посевах бактериальной культуры и по истечении времени, достаточного для существенного увеличения числа клеток, определении в каждой из повторностей числа клеток, обладающих устойчивостью к фагу. Определение состава популяции путем посева бактерий на плотную среду дает возможность установить процентное соотношение диссоциантов в культуре или

индекс диссоциации.

Микробные популяции в природных местообитаниях

Основное внимание обращается на то, какими способами можно выявлять и учитывать конкретную микробную популяцию в природной среде, что происходит с внесенными в нестерильную почву различными популяциями и почему, как на основе динамики популяции составить представление о степени приспособленности или неприспособленности к обитанию в почве. Рассматривается вопрос об экологических стратегиях микробных популяций.

Выявление и количественный учет микробных популяций в нестерильной почве

Использование метода иммунофлуоресцентной микроскопии для детекции и индикации бактериальных популяций *in situ*. Учет результатов ведётся визуально на основе оценки интенсивности специфического свечения, просматривая в люминесцентном микроскопе не менее 10 полей зрения. Для оценки интенсивности специфической флуоресценции используется четырехкестная шкала. Крайне важна постоянная система отрицательного контроля включающая инкубацию препарата непосредственно с меченой сывороткой; обработку препарата на втором этапе гетерологичной меченой сывороткой; обработку препарата на первом этапе нормальной или гетерологичной сывороткой, не содержащей антител к исследуемым антигенам. Важно при выявлении и учете отдельных микробных популяций в почвах параллельно и одновременно с основной работой проводить иммунофлуоресцентное окрашивание препаратов из тех же местообитаний, но заведомо не содержащих исследуемый объект.

Характеристика эукариотных микроорганизмов. Дрожжевые грибы

Грибам присуще явление диморфизма: есть грибы, у которых отмечается дрожжеподобный рост (одиночные или в коротких цепочках округлые клетки, не имеющие полярности и размножающиеся почкованием), и грибы с мицелиальным ростом (цилиндрические клетки в разветвленных нитях с отчетливой полярностью – ростом верхушкой, размножающиеся делением). Многие виды грибов в разных условиях могут находиться в мицелиальном или дрожжевом состоянии. Под дрожжами понимают все высшие грибные организмы, находящиеся в одноклеточной форме в ростовой фазе и размножающиеся почкованием или делением.

Изучение метаболизма дрожжей в аэробных и анаэробных условиях. Мицелиально-дрожжевой диморфизм.

Мицелиально-дрожжевой диморфизм обусловлен различными причинами: кардинальной перестройкой морфологии, физиологии и метаболизма грибов. При переходе к дрожжеподобному росту изменяются физиология важнейших энергетических процессов (дыхание заменяется на брожение); образ жизни (паразитический или сапротрофный); химический состав клеточной стенки (глюканы заменяются на маннаны) и цитоплазматической мембраны (содержание входящих в нее углеводов падает, а белка и липидов – увеличивается).

Микрофлора объектов внешней среды. Методы исследования микрофлоры почвы, воды и воздуха

Выделение почвенных олиготрофных микроорганизмов на питательных средах

Олиготрофные микроорганизмы – гетеротрофные прокариоты, обитающие в водоеме и способные расти при низких концентрациях в среде органических веществ. Это бактерии родов *Microcycclus*, *Hyphomicrobium*, *Agrobacter*, *Caulobacter* и др. Организмы, предпочитающие высокие концентрации питательных веществ, относят к копиотрофам. Олиотрофы Г.А. Заварзиным трактуются как "микрофлоры рассеяния." Если у типичных копиотрофов оптимальные условия для роста создаются при содержании в среде

питательных веществ в количестве примерно 10 г/л, то для олиготрофных организмов - в пределах 1-15 мг углерода/л. В средах с более высоким содержанием органических веществ такие бактерии, как правило, расти не могут и погибают.

Экологические методы исследования почвенных микроорганизмов (метод Росси-Холодного, метод Перфильева и Габе, метод люминесцентно-микроскопического наблюдения в почвенных монолитах)

Метод стёкол обрастания (по Росси-Холодному) позволяет наблюдать "микробные пейзажи". Стёкла обрастания окрашивают 1%-ным раствором карболового эритрозина. Микроорганизмы микроскопируют. Метод позволяет вести наблюдение за распределением различных микроорганизмов в их природной среде обитания, наблюдение за формой и размерами группировок микроорганизмов, их взаимоотношениями. Метод Перфильева и Габе позволяет вести наблюдение за микроорганизмами с помощью набора плоских капилляров (педоскопов). Экспозиция педоскопов в почве длится в течение одного месс, после чего капилляры вынимают из почвы и рассматривают под микроскопом с иммерсионным объективом. Микроорганизмы фиксируют в парах осмиевой кислоты или 40%-ного раствора формалина. Окрашивают 1%-ным раствором карболового эритрозина. Метод люминесцентно-микроскопического наблюдения микроорганизмов в почвенных монолитах (по Звягинцеву): готовят цилиндрическую форму (диаметр и высота по 1 см) из нержавеющей стали, пластмассы или стекла; вдавливают форму в почву исследуемого горизонта и осторожно вынимают ее так, чтобы над краями формочки возвышался слой почвы; на поверхность почвы капают водный раствор акридинового оранжевого (1:1000) и накрывают покровным стеклом. Микроорганизмы через 20 минут исследуют в люминесцентном микроскопе с иммерсионным объективом ($\times 90$) в отраженном свете. Основные трудности метода заключаются в подборе подходящей концентрации красителя; для каждой почвы она подбирается опытным путем.

Биоразнообразие водных микроорганизмов

Микрофлора природных вод различается по качественному и количественному составу. В большинстве это сапротрофные микроорганизмы, но могут встречаться представители патогенных и условно патогенных видов. В основном это бактерии овальной и цилиндрической формы, среди которых преобладают пигментообразующие кокки, присутствуют микроорганизмы, встречающиеся в почве, где расположены водоемы. Каждый водоем имеет характерные особенности распределения микроорганизмов как по вертикали, так и по горизонтали. В количественном отношении содержание их достаточно велико. В морской воде и иле пресноводных водоемов от 10 млн. до 3 млрд. клеток в 1 мл. Основная масса расположена в прибрежных зонах. На глубине 1 км встречаются единичные представители, а до 4 км они практически отсутствуют. Подземные воды, родниковые и воды глубоких артезианских колодцев содержат единичные микробные клетки. В воде открытых водоемов (поверхностные воды) количество микроорганизмов изменяется в зависимости от метеоусловий и времени года. В сточных водах содержится много биогенных фосфор-, углерод-, азотсодержащих соединений, которые попадают в водоемы. По мере удаления от населенных пунктов и предприятий, содержание органики и количество микроорганизмов в воде уменьшается. Этот процесс называется самоочищением воды. Основную роль в самоочищении вод от органических, синтетических веществ играют сапротрофные микроорганизмы, грибы, гидробионты, высшие растения. Микроорганизмы обладают высокой пластичностью, имеют мощные ферментные системы, благодаря которым загрязняющие вещества минерализуются и разрушаются.

Выделение санитарно-показательных микроорганизмов для оценки степени чистоты воздуха

Санитарная оценка воздуха осуществляется по двум микробиологическим показателям: общему количеству бактерий и количеству санитарно-показательных микроорганизмов в 1 куб. м воздуха. Для обнаружения микроорганизмов в воздухе предложено большое количество методов и приборов, позволяющих определять как общее количество, так и состав микрофлоры. В основу методов положены два принципа: оседание (седиментация) и засасывание (аспирация). Простейший – метод Коха, основанный на оседании микроорганизмов, капелек жидкости и пылинок под влиянием силы тяжести на поверхность агара открытой чашки Петри. Критерии чистоты воздуха следующие: в воздухе операционных не допускается присутствие микроорганизмов. Микробное число для пищевых учреждений – не более 500 клеток в 1 куб. м, для жилых помещений – до 1500 клеток в 1 куб. м. Санитарно-показательными микроорганизмами для оценки чистоты воздуха служат гемолитические стрептококки и стафилококки – постоянные обитатели верхних дыхательных путей, слизистой носа и ротовой полости человека: *Streptococcus viridans* – зеленеющий стрептококк, *Streptococcus haemolyticus* – гемолитический стрептококк и *Staphylococcus aureus* – золотистый стафилококк. В качестве диагностической среды для их выявления используют кровяной агар. Воздух считается чистым, если в 1 куб. м воздуха содержится летом не более 4 стрептококков, зимой – не более 16. Загрязненным воздух считается, если в 1 куб. м воздуха содержится летом более 32 стрептококков, зимой – более 56. Золотистый стафилококк используется в качестве санитарно-показательного микроорганизма в хирургических палатах и родильных домах. В 250 л воздуха не должно содержаться ни одного стафилококка.

Сохранение жизнеспособности и стабилизация исходных свойств биотехнологически перспективных микроорганизмов

Необходимое условие успешной работы с микроорганизмами – правильное поддержание их в целях сохранения не только жизнеспособности, но и исходных физиолого-биохимических свойств. Существующая практика консервации микробных культур выработала разнообразные экспериментальные подходы к погружению клеток в состояние обратимого торможения обмена. В литературе описаны различные способы консервации большого разнообразия физиологических групп микроорганизмов, предлагается много новых и эффективных методов длительного сохранения микробных культур, однако ни один из них не является универсальным.

Метод глубокого замораживания и высушивания – лиофилизации (сублимация, регидратация и восстановление высушенных культур после хранения)

Для хранения больших ресурсных коллекций наиболее оправдано применение метода лиофилизации. Для успешной сублимации, регидратации и восстановления высушенных культур после хранения помимо оптимального режима самого процесса лиофилизации необходим ряд иных дополнительных условий: наличие криопротектора, оптимальная концентрация исходной суспензии, соответствующий регидратант и благоприятная среда восстановления.

Методика криоконсервации микробных культур для сохранения их генофонда

Хранение микроорганизмов в замороженном состоянии при низких и сверхнизких температурах характеризуется наибольшей универсальностью. Метод требует использования специального оборудования. Для защиты от повреждающего действия низких температур клетки предварительно суспендируют в растворах криопротекторов (10-20%-ный раствор глицерина, 7-10%-ный раствор диметилсульфоксида, 20%-ный раствор сахарозы).

Механизмы адаптации микроорганизмов к стрессу

Предмет курса и задачи микробиологии, генетики и биохимии в изучении

адаптивных механизмов у микроорганизмов. Общее понятие о стрессе, значение адаптивных механизмов в процессах выживания микроорганизмов в окружающей среде.

ПОНЯТИЕ ОБ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ СТРЕССОВЫХ РЕАКЦИЙ

Ферментативный уровень

Адаптивные ответы у бактерий лежат в диапазоне от быстрых временных изменений подвижности до длительной глобальной реорганизации генной экспрессии и клеточной морфологии. Сигналы, поступающие изнутри цитоплазмы и из среды, используются для контроля и регуляции активности клеточных процессов, которые формируют тот или иной тип ответа. Скорость биохимической реакции как простая функция изменения физико-химических факторов среды, температуры, pH, окислительно-восстановительного потенциала. Аллостерическая регуляция активности фермента. Скорость и диапазон изменения физико-химических факторов среды, их влияние на уровень стрессового ответа у микроорганизмов. Понятие о сбалансированном и несбалансированном росте микроорганизмов.

Транскрипционный уровень

Оперон, его структура, функции на примере *lac*-оперона. Принципы регуляции оперона, индукция, репрессия. Понятие о регуляторных сетях, регулон. Понятие о модулоне, возможные механизмы перекрывания регуляторных сетей, их роль в формировании состояния преадаптации у микроорганизмов. Преадаптация как механизм выживания природных популяций микроорганизмов в меняющихся условиях среды.

ПУТИ ПРОВЕДЕНИЯ СИГНАЛА СТРЕССА У МИКРООРГАНИЗМОВ

Двухкомпонентная система проведения сигнала

Сигнал стресса - физико-химический фактор, непосредственно воспринимаемый клеточными системами как специфическая информация о характере стрессового воздействия. Фосфорилирование белков как основной механизм трансформации сигнала среды в клетке микроорганизмов. Сенсорные белки, их строение, роль гистидина в аутофосфорилировании протеинкиназ у микроорганизмов, сенсорный и киназный домены гистидинпротеинкиназ, структура. Структура белка-регулятора ответа, ресиверный и эффекторный домены, их роль в передаче сигнала. Механизм функционирования белка-регулятора ответа, его роль в регуляции генной экспрессии. Основные сенсор-регуляторные пары, характерные для специфических видов стресса. Специфичность путей проведения сигнала, Принципы конвергенции и дивергенции в формировании неспецифических стрессовых ответов. Гипотеза фосфопередающей сети Стока, киназный и регуляторный слои. Понятие о модулоне, его роль в формировании перекрестной устойчивости микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

Восприятие кворума (quorum sensing)

Малая сигнальная молекула как способ «общения» микроорганизмов в популяции, связь ее концентрации в среде с плотностью биомассы. Различные классы сигнальных молекул в зависимости от вида микроорганизмов. Механизм проведения сигнала по типу quorum sensing на примере *V. fischeri*, строение *lux* оперона, роль генов и генных продуктов в регуляции ответа. Значение quorum sensing для выживания морских организмов в естественных местообитаниях. Системы проведения сигнала quorum sensing у энтеробактерий, их роль для выживания в условиях стационарной фазы и регуляции инвазивности патогенных микроорганизмов в инфекционном процессе.

Альтернативные механизмы восприятия факторов среды

Посттранскрипционные механизмы регуляции адаптивных реакций. Вторичные структуры информационной РНК, их значение в регуляции синтеза белка. Чувствительность вторичных структур к внешним факторам, мРНК *rpoH* как термосенсор. Вторичные структуры ДНК как факторы, воспринимающие изменения среды, функции ДНК-связывающих белков в регуляции вторичных структур. Функции транскрипционных регуляторов как специфических сенсорных белков (OxyR, SoxRS, Fnr). Изменение белковой стабильности как фактор передачи стрессовых сигналов, роль стабильности альтернативных сигма-субъединиц РНК-полимеразы (σ^H , σ^S) в проведении сигнала стрессов теплового шока и стационарной фазы.

ПРИНЦИПЫ ОРГАНИЗАЦИИ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ АДАПТИВНЫХ ОТВЕТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Регулон, регуляторные сети

Регулон - совокупность отдельных оперонов или генов, объединенных в единую регуляторную сеть посредством общего транскрипционного регулятора и согласованно реагирующая в ответ на конкретный стрессовый фактор с целью изменения метаболизма клетки, направленного на преодоление повреждающих воздействий. Роль транскрипционных регуляторов выполняют белки-регуляторы ответа двухкомпонентных систем проведения сигнала, белки регуляторы в механизмах quorum sensing, альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы, специфические транскрипционные активаторы (OxyR, SoxRS, Fnr), ДНК-связывающие гистоноподобные белки, малые сигнальные молекулы (цАМФ, гуанозинтетрафосфат, гуанозинпентафосфат), катаболитный активаторный белок. Структура генных промоторов как фактор, определяющий их специфичность по отношению к транскрипционному регулятору, ориентация -10 и -35 последовательностей, ее влияние на кинетические свойства генных промоторов, сильные и слабые промоторы, влияние топологии ДНК и нуклеоид-связывающих белков на структурно-кинетические свойства промоторов.

Альтернативные сигма-факторы

Роль сигма-факторов РНК-полимеразы в регуляции инициации транскрипции. Альтернативные сигма-субъединицы РНК-полимеразы как специфические стрессовые белки, их роль в формировании структуры и функции регулона. Различия молекулярных весов сигма-субъединиц *E. coli* и специфичность функционирования при разных видах стресса, номенклатура сигма-субъединиц *E. coli*: σ^N , (σ^{54}) или Rpo N (азотное голодание), σ^S , (σ^{38}) или Rpo S, σ^H , (σ^{32}) или Rpo H (умеренный тепловой шок), σ^F , (σ^{28}) или Rpo F (хемотаксис, флагеллярные белки), σ^E , (σ^{24}) или Rpo E (сильный тепловой шок, стресс поверхностных структур), σ^{FecI} (транспорт цитрата железа, окислительный стресс). Специфичность узнавания промоторов альтернативными сигма-субъединицами. Соотношение различных сигма-факторов в клетке в нормальных условиях и в условиях стресса, их аффинность в отношении связывания с кор-ферментом РНК-полимеразы, роль метаболических факторов в регуляции этого процесса. Принципы регуляции количества сигма-субъединиц при стрессе, транскрипционные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции.

Активаторы транскрипции

Активаторы транскрипции как специфические белки стресса, их роль в структурно-функциональной организации регулонов, принципиальные отличия от двухкомпонентных систем проведения сигналов, сочетание в одной молекуле функций сенсора и транскрипционного регулятора. Различные типы транскрипционных активаторов: белки-

регуляторы ответа; активаторы транскрипции, выполняющие роль сенсоров (OxyR); совместно функционирующие пары транскрипционных активаторов (SoxR, SoxS), их принципиальное отличие от двухкомпонентных сигнал-проводящих систем. Структура различных сенсоров и механизмы восприятия сигнала. Роль SH-групп в сенсорике OxyR, строение Fe-S кластеров, их различие у SoxRS регуляторов и FNR. Механизмы активации, лежащие в основе регуляторных функций транскрипционных активаторов, взаимодействие с промоторными областями ДНК и субъединицами РНК-полимеразы.

ДНК-связывающие белки как модуляторы транскрипционной регуляции

Основные классы ДНК-связывающих белков по принципу равномерности распределения связывания. Структурирующие белки: **HU** (heat unstable), **H-NS** (histone-like nucleoid structuring), **Fis** (factor for inversion stimulation) и **ИHF** (integration host factor). Роль белка HU в создании архитектуры нуклеоида и регуляции транскрипции, гетеродимерная структура белка, соотношение субъединиц в зависимости от физиологического состояния клетки. Функции **HU** в качестве регулятора топологии ДНК, участие в регуляции отрицательной суперскрученности ДНК и компактной укладке нуклеоида, регуляция вторичных структур мРНК. Роль гистоноподобного белка H-NS как глобального репрессора транскрипции у микроорганизмов, сочетание общих функций структурирующего белка в компактизации ДНК со специфическими функциями регулятора генной экспрессии. Роль H-NS в регуляции стрессовых ответов и фазовых переходов периодической культуры. Механизм функционирования H-NS, его роль в образовании вторичных структур ДНК, их роль в регуляции работы РНК-полимераз и восприятии сигнала стресса. Функциональная активность ДНК-связывающего белка FIS, его роль в экспрессии генов топологической регуляции ДНК, активации генов стабильных РНК, участие в регуляции локальной суперскрученности ДНК, функциональной подвижности нуклеоида. Роль ИHF в регуляции ДНК, регуляция функциональной конверсии нуклеоида во время фазовых изменений клеточного роста, индукция компактизации ДНК. **Dps** (DNA binding protein of starvation) – ДНК-связывающий белок голодания, его предохранительное действие от повреждений ДНК активными формами кислорода и другими повреждающими факторами. **Hfq**, известный также как **HF-1** (Host factor I), функции в регуляции множественной стрессовой устойчивости в стационарной фазе, его стабилизирующее действие на мРНК (РНК шаперонные функции). Роль Hfq как регулятора РНК-РНК взаимодействия малых регуляторных РНК (OxyS, DsrA) с коплементарными последовательностями-мишенями. Зависимость спектра ДНК-связывающих белков от фазы роста периодической культуры микроорганизмов как отражение их функций.

ТОПОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДНК КАК ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ СТРЕССОРНЫХ ОТВЕТОВ

Роль топологии ДНК в контроле глобальной генной экспрессии.

Особенности структуры ДНК бактериальной хромосомы, кольцевая ковалентно замкнутая молекула ДНК микроорганизмов. Доменная структура нуклеоида, его структурно-функциональная динамика. Понятие о суперскрученности ДНК, свойство отрицательной сверхспирализации природных ДНК, выделенных из живых объектов. Топологическое состояние ДНК как фактор функциональной интеграции регулонов в модулон, единую систему, согласованно реагирующую на изменение факторов среды с целью комплексной адаптации микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям среды, множественная устойчивость микроорганизмов к различным стрессовым факторам.

Свойства кольцевых ковалентно замкнутых молекул ДНК микроорганизмов.

Понятие о зацеплении комплементарных нитей ДНК в кольцевых ковалентно-замкнутых молекулах, Lk , его связь с числом витков двойной спирали (Tw) и формой молекулы как целого (Wr). Понятие о релаксированной и суперскрученной ДНК, отрицательная и положительная суперскрученность, их распространенность в живых объектах. Уравнение, описывающее соотношение параметров кольцевых ковалентно-замкнутых молекул ДНК: $Lk = Tw + Wr$. Взаимозависимость Tw и Wr при неизменном числе зацеплений полинуклеотидных цепей, изменение этих параметров при разрыве нитей ДНК и изменении числа зацеплений. Жесткость ДНК на скручивание и изгибание, понятие об энергии сверхспирализации, плотность сверхспирализации, соотношение локальной и общей сверхспирализации. Затраты энергии сверхспирализации на процессы, сопровождающиеся расхождением полинуклеотидных цепей ДНК, тепловые флуктуации ДНК (дыхание), образование крестообразных структур в палиндромных участках ДНК. Методы определения суперскрученности у микроорганизмов. Плазмидный метод, понятие о топоизомерах, титруемое число сверхвитков.

Топоизомеразы – ферменты регуляции топологических свойств ДНК

Два класса топоизомераз, топоизомераза I, (ω белок), закодированная в гене *topA* и топоизомераза III, закодированная в гене *topB*, механизм действия. ДНК-гираза, закодированная в генах *gugA* и *gugB*, и топоизомераза IV, закодированная в генах *parE* и *parC*, строение и механизм действия. Роль различных субъединиц гиразы в каталитическом процессе, ингибиторы, избирательно подавляющие активность каждой из субъединиц ДНК-гиразы, их роль в выяснении механизмов действия фермента. Факторы, влияющие на топологическое состояние ДНК, роль топоизомераз в формировании несдерживаемой суперскрученности ДНК, нуклеидсвязывающие белки как факторы, формирующие сдерживаемую суперскрученность. Роль энергетического состояния клетки в регуляции активности топоизомераз, аденилатный энергетический заряд как фактор, регулирующий уровень отрицательной суперскрученности ДНК. Понятие о топологическом гомеостазе, роль ДНК-гиразы и топоизомеразы I в его поддержании. Механизмы регуляции топологического гомеостаза, регуляция на уровне генной экспрессии и ферментативной активности.

Влияние топологических свойств ДНК на основные функции клетки.

Роль топологического состояния ДНК в регуляции генной экспрессии. Механизм регуляции посредством изменения спиральной закрутки нитей ДНК, влияние этого параметра на пространственную ориентацию -10 и -35 последовательностей промотора, роль спиральной закрутки в «узнавании» промоторов специфическими сигма-субъединицами РНК-полимеразы и формировании открытых промоторных комплексов. Регуляция генной экспрессии посредством изменения суперскрученности (третичной структуры) ДНК, роль запетливания в физическом сближении удаленных последовательностей ДНК и регуляции взаимодействия энхансеров с промоторами (NtrC-зависимый энхансер *E. coli*). Сверхспирализация ДНК как системный регулятор транскрипции различных оперонов, его роль в объединении регуляторных сетей в модулон. Роль ДНК-гиразы в репликации бактериальной хромосомы, ее значение для продвижения репликативной вилки. Значение отрицательной суперскрученности ДНК в инициации репликации, ее роль в связывании белков инициации, образовании крестообразных структур в точке *oriG*, образовании РНК-затравки. Затрата энергии сверхспирализации на процесс расхождения цепей ДНК в процессе элонгации репликации.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ ОТ ОСНОВНЫХ ВИДОВ СТРЕССА

Стресс голодания

Основные виды стресса голодания. Понятие о специфических и неспецифических механизмах адаптации к стрессу голодания.

А) *Неспецифические механизмы адаптации к стрессу голодания. Стринджент ответ*

Феномен стринджент ответа, его фазы, физиологический смысл, биохимический механизм, стринджент-фактор, роль аминокислотного голодания и рибосом в формировании ответа.

Б) *Голодание по источникам углерода и энергии. Катаболитная репрессия*

Основные классы углеводов по принципу преимущественного потребления микроорганизмами, роль ФТС системы транспорта в этом процессе. Понятие о катаболитной репрессии, ее механизм на примере *lac*-оперона. Индукция оперонов, участвующих в катаболизме углеводов как следствие истощения ФТС-сахаров, роль цАМФ и CAP-белка в этом процессе. Регуляция активности аденилатциклазы, механизм передачи сигнала, роль ФТС в регуляции активности аденилатциклазы.

В) *Стресс аммонийного голодания*

Система ассимиляции аммония у *Escherichia coli*. Пути включения аммония в биомассу, глутаминсинтетаза, глутаматсинтаза, глутаматдегидрогеназа, зависимость их активности от концентрации аммония в среде. Классификация альтернативных источников азота по типу преимущественного образования конечных продуктов расщепления. Механизм утилизации альтернативных источников азота при аммонийном голодании, роль глутаминсинтетазы этом процессе. *GlnALG* оперон, его структура, функции. Сенсорная система восприятия и проведения сигнала аммонийного голодания, NRI, NRII, RII. Механизм транскрипционной регуляции гена глутаминсинтетазы *GlnA*, участие в этом процессе σ -54, уридилитрансферазы. Механизм регуляции активности глутаминсинтетазы, участие аденилитрансферазы в этом процессе.

Тепловой шок

Классификация микроорганизмов по отношению к температуре, температурный оптимум. Понятие о тепловом шоке, история вопроса, роль микроорганизмов в выяснении биохимических и генетических механизмов клеточной адаптации к тепловому шоку. Два регулона теплового шока у мезофила *E. coli*, роль альтернативных сигма-факторов (σ -32 и σ -24) в их формировании. Регулон умеренного теплового шока σ -32. Белки теплового шока, входящие в данный регулон, понятие о шаперонах и шаперонной машине (*DnaK*, *DnaJ*, *GrpE*;

GroEL, *GroES*). Транскрипционные, посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы регуляции содержания σ -32 в клетке, роль σ -24, вторичной структуры *groH* мРНК и шаперонов в этом процессе. Механизмы функционирования шаперонов, специфические сигналы регуляции шаперонной активности. Регулон сильного теплового шока σ -24, его функции в поддержании структуры и функции белков периплазматического пространства. Белки сильного теплового шока. Механизмы регуляции содержания σ -24 в клетке, роль сигналпроводящей системы *CpxA/CpxR* и антисигма-факторов *RseA/RseB* в этом процессе.

Осмотический шок

Понятие об осмотическом и тургорном давлении, роль цитоплазматической мембраны и клеточной стенки в их формировании и регуляции. Понятие гипер- и гипоосмотического шока, их влияние на содержание цитоплазматической воды и объем клетки, плазмолиз, плазмолизис, фазы осмотического шока, основные физиологические закономерности адаптации. Понятие об осмолитах, совместимых веществах и осмопротекторах, их роль в осмотической адаптации клеток. Роль калия как

первичного совместимого вещества в осмотической регуляции микроорганизмов. Основные системы транспорта калия у *E. coli*, (Trk, Kdp, Kup, KefB, KefC), их регуляция в условиях осмотического шока. Механизм осмотической регуляции транскрипции *kdp* регулона, роль двухкомпонентной сигнал проводящей системы KdpD/KdpE в этом процессе. Система регуляции пориновых каналов внешней мембраны грамотрицательных микроорганизмов (OmpC, OmpF) при осмотическом шоке, роль сигналпроводящей двухкомпонентной системы EnvZ/OmpR в этом процессе. Роль малой регуляторной РНК MicF в посттранскрипционной регуляции соотношения пориновых каналов во внешней мембране. Трегалоза как второй после калия осмолит *E. coli* на синтетической питательной среде. Системы синтеза и транспорта трегалозы (OtsAB, TreABC), их регуляция при осмотическом стрессе. ProU (ProVWX), ProP системы транспорта основных осмопротекторов (пролин, глицинбетаин, пролинбетаин), структура, механизмы ферментативной и транскрипционной регуляции. Роль RpoS регулона в осмотической регуляции *E. coli*.

Окислительный стресс

Отношение микроорганизмов к кислороду. Токсичность активных форм кислорода и азота для микроорганизмов, понятие об окислительном стрессе. Пути образования активных форм кислорода в дыхательной цепи микроорганизмов, пороги толерантности для супероксидного радикала и перекиси водорода. Пути образования активных форм азота в фагоцитах. Типы повреждений основных биомолекул клетки, вызванных воздействием активных форм кислорода и азота на микроорганизмы. Редоксциклирующие антибиотики, механизм образования супероксидных радикалов. Повреждающее воздействие супероксидного радикала на железосерные центры дегидратаз, роль двухвалентного железа в цепи повреждающих эффектов. Транспорт железа, роль Fur репрессора в регуляции поступления железа при окислительном стрессе. Токсичность перекиси водорода, реакция Фентона, роль металлов переменной валентности в образовании свободных гидроксильных радикалов. Основные механизмы защиты микроорганизмов от активных форм кислорода, роль каталазы, пероксидазы, супероксиддисмутазы, алкилгидропероксидредуктазы в этом процессе. Супероксиддисмутазы микроорганизмов, их типы, структура. Биосинтез и регуляция супероксиддисмутаз. Понятие о транскрипционных механизмах регуляции защитных реакций *E. coli* на окислительный стресс, регулоны OxyR и RpoS, основные механизмы регуляции. Основные белки окислительного стресса, характерные для этих систем защиты. Роль регуляции поринов в ограничении доступа активных форм кислорода в клетку, участие малой регуляторной РНК MicF в этом процессе. Основные классы антиоксидантов, регуляция редокс состояния клетки как механизм восстановления поврежденных белков, роль тиоредоксиновой и глутаредоксиновой систем в этом процессе. Индукция устойчивых изоферментов дегидратаз как средство защиты от окислительного повреждения супероксидными радикалами. Системы репарации повреждения ДНК, эндо- и экзонуклеазы, SOS система репарации. Роль rpoS-регулона *E. coli*, в защите от окислительного стресса.

Адаптация в стационарной фазе

Множественная стрессовая устойчивость при переходе в стационарную фазу, роль регулона rpoS в ее развитии. Специфичность структуры σ^S промоторов, особенности -35 последовательности, роль метаболических факторов в специфическом узнавании промоторов альтернативными сигма-факторами. Перекрытие регуляторных сетей регулона rpoS и регулонов осмотического шока и окислительного стресса. Роль σ^S в транскрипции генов осмотического стресса *otsA*, *otsB*, *osmY*, *osmB*, *osmC*. Зависимость

специфичности узнавания промоторов σ^S генов осмотического шока от метаболитов цитоплазмы (глутамат калия). Посттранскрипционная регуляция RpoS, роль вторичной структуры М-РНК rpoS в регуляции уровня трансляции, зависимость состояния вторичной структуры от нуклеотид-связывающих белков (Hfq, HNS) и малых регуляторных РНК (oxyS, dsrA). Роль белка-регулятора ответа RssB, протеиназы ClpPX и шаперона DnaK в посттранскрипционном контроле стабильности σ^S . Участие σ^S в экспрессии генов окислительного стресса katE, xthA, экспрессируемых только в условиях стационарной фазы и голодания, и генов с двойной зависимостью от σ^S и σ^D , экспрессируемых исключительно во время экспоненциального роста (oxyR) регулон.

МИКРООРГАНИЗМЫ ТЕХНОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ

Актуальность проблематики курса и связь с другими естественнонаучными дисциплинами

Актуальность проблематики курса «Техногенные экосистемы и экологический риск» и его связь с другими естественнонаучными дисциплинами. Основные термины и понятия. История формирования и современное развитие концепции экологической безопасности. Литературные и другие источники информации.

Окружающая среда как система

Понятия окружающей среды и экосистемы

Основные компоненты окружающей среды – атмосфера, гидросфера, литосфера, биосфера. Принципы функционирования экосистем. Системный подход к анализу природно-антропогенных событий и изучению экосистем.

Устойчивость и развитие экосистем

Квазистационарное (климаксное) и динамическое (неравновесное) состояние. Открытость экосистем. Круговороты энергии и вещества в биосфере. Защитные механизмы биосферы, обеспечивающие устойчивость природной среды и ее динамическое равновесие при изменяющихся масштабах антропогенной деятельности.

Техногенные экосистемы и их взаимодействие с окружающей средой

Техногенные экосистемы: классификация, онтогенез

Определение техногенных экосистем, их классификация и роль в устойчивом развитии общества. Понятие антропоэкосистемы и антропоэкосферы. Современный город как пример антропоэкосистемы. Природно-технические геосистемы (ПТГС), их структура и границы. Направленность, интенсивность техногенного воздействия на природное ядро.

Загрязнение природных сред и нормативные показатели

Основные загрязнители окружающей среды (физические, химические, биологические, информационные) и их источники. Методы оценки комплексного воздействия загрязняющих факторов: аддитивность, синергизм и антагонизм. Превращение и аккумуляция загрязнителей в окружающей среде.

Масштабы техногенеза и концепция устойчивого развития

Масштаб современных и прогнозируемых техногенных воздействий на человека и окружающую среду в рамках концепции устойчивого развития. Экологические последствия техногенеза. Экологическая доктрина России и ее реализация.

Количественная оценка опасных воздействий. Методология оценки риска

Определения и способы выражения экологического риска

Определение риска как вероятности возникновения вредного эффекта при воздействии техногенных факторов на здоровье человека и природную среду. Техногенный риск и безопасность технических систем. Количественное, полуколичественное и качественное выражение риска.

Санитарно-гигиеническое нормирование и гигиеническая диагностика

Сравнение традиционной методологии санитарно-гигиенического нормирования и гигиенической диагностики (оценки риска). Предельно-допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в природных средах. Пороговая и беспороговая концепции. Токсикологическое нормирование химических веществ. Санитарно-показательные индикаторы. Преимущества и недостатки использования критерия ПДК.

Методология оценки риска для здоровья населения

Элементы оценки влияния факторов среды на здоровье населения. Этапы оценки риска: идентификация опасности, оценка экспозиции, установление зависимости «доза-ответ», характеристика риска, управление риском. Программные средства оценки риска для здоровья населения в связи с загрязнением окружающей среды.

Современное развитие и внедрение методологии оценки риска

Нормативно-распорядительное и информационно-методическое обеспечение методологии оценки риска. Недостатки и перспективы внедрения методологии оценки риска в России. Краткосрочные и перспективные научно-методические задачи в этой области.

Индикация состояния экосистем и нормирование факторов окружающей среды

Экологический мониторинг качества природных сред и объектов окружающей среды

Этапы экологического мониторинга: экологическое оценивание, экологическая диагностика, экологическое нормирование, экологический прогноз. Биологические показатели в экологическом нормировании. Лабораторное биотестирование. Основные принципы выбора параметров экосистем, подлежащих регистрации при экологическом нормировании.

Методология биоиндикации

Структурные и функциональные показатели состояния биоты в экосистемах. Экспертная оценка качества среды. Методы биоиндикации. Проблема информативности параметров биоты для экологического нормирования. Форма представления данных о биоте. Индикаторы и индексы экодинамики. Индексы состояния, индексы-маркеры, интегральные индексы.

Экологическая диагностика

Способы свертывания информации о биоте: анализ ранговых распределений, метод функции желательности, эталонное оценивание, показатели эффективности функционирования биоты, интегрированные оценки благополучия экосистем. Эколого-географическое разнообразие биоты природных экосистем. Проблемы разработки региональных экологических показателей при нормировании антропогенного воздействия на природные экосистемы разных типов.

Современные концепции экологического нормирования

Антропоцентристский, организменный и надорганизменный уровни как разномасштабные подходы к проблеме формирования биологических основ системы экологической безопасности. Международный экологический стандарт ISO 14001, функции системы управления охраной окружающей среды. Модельный анализ влияния

абиотических компонентов на природные сообщества. Анализ зависимости «доза-эффект». Экологически допустимые уровни (ЭДУ) нарушающих воздействий.

Опасные природные и техногенные явления и чрезвычайные ситуации

Опасные природные явления и их прогнозирование

Основные природные опасности: вулканическая деятельность, землетрясения, цунами; атмосферные процессы: циклоны (тайфуны, ураганы), смерчи и др., лесные пожары, наводнения. Параметры опасных природных явлений, приводящих к чрезвычайным ситуациям. Тенденции в развитии природных опасностей. Мониторинг и прогнозирование рисков природных катастроф в мировом масштабе, на территории России и Пермского края.

Технические аварии и катастрофы: прогноз и ликвидация последствий

Причины и долгосрочные эффекты опасных техногенных воздействий. Особенности управления риском в экстремальных условиях. Региональная оценка экологического риска. Расчет и построение полей риска на картографической основе. Зоны экологического риска.

Глобальные экологические проблемы и принципы обеспечения экологической безопасности

Философское осмысление и пути решения глобальных экологических проблем

Изменение климата Земли; замусоривание ближнего космоса; сокращение мощности стратосферного озонового экрана и усиление ультрафиолетовой радиации; химическое загрязнение атмосферы и океанических вод; истощение и загрязнение вод суши; накопление радиоактивных отходов и радиоактивное загрязнение среды; изменение геохимического баланса ландшафтов; скопление твердых и жидких отходов; углубление процесса опустынивания; сокращение площади тропических лесов и северной тайги; освобождение экологических ниш на фоне общего снижения биоразнообразия; глобальный демографический кризис и относительное переуплотнение отдельных регионов; углубление экономической и социальной дифференциации; ухудшение среды жизнеобитания в переуплотненных городах и мегаполисах; исчерпание энергетических и минеральных ресурсов.

Социальные аспекты риска

Восприятие рисков и реакция общества на них. Экономический подход к проблемам безопасности; стоимостная оценка риска; приемлемый уровень риска. Связь уровня безопасности с экономическими возможностями общества. Международное сотрудничество в области экологической безопасности.

Основы экологического менеджмента и маркетинга

Экологическая экспертиза природных и техногенных систем: принципы, модели, критерии оценки. Оценка экологического воздействия и ущерба. Роль государственной политики и экономических санкций в оздоровлении природной среды. Политика экологической безопасности; уменьшение последствий и компенсация ущерба. Экологический аудит и экологическое страхование.

Основные направления и методы снижения экологического риска от загрязнения окружающей среды

Проблемы использования и воспроизводства природных ресурсов

Возобновляемые и невозобновляемые природные ресурсы. Ресурсосбережение и комплексное использование сырья – стратегия решения экологических проблем. Требования к ресурсосберегающей технологии: бессточные технологические системы,

использование отходов как вторичных материальных ресурсов, комбинирование производств, создание замкнутых технологических процессов. Принципы «зеленой химии». Производство химических продуктов и энергоносителей из возобновляемого сырья. Перспективы развития биотехнологических производств в мире и России.

Пути и методы снижения объема промышленных и бытовых отходов

Методология определения класса опасности токсичных отходов производства и потребления. Нефтяное загрязнение водных и наземных экосистем и его воздействие на биоту. Современные технологии ликвидации нефтяных разливов и нефтесодержащих отходов. Стратегии и методы биоремедиации.

Проблема загрязнения атмосферы газообразными, летучими и аэрозольными поллютантами. Методы снижения и предотвращения выбросов загрязнителей в атмосферу. Биотехнологии мониторинга загрязнения и очистки воздуха, основанные на применении бактериальных фильтров.

Твердые отходы, их состав, динамика накопления. Химическая и биохимическая обработка твердых отходов, захоронение. Микробиологические и технологические основы функционирования полигонов твердых бытовых отходов («landfills»).

Методы предотвращения загрязнения вод: снижение объема сточных вод, оборотное водоснабжение. Переработка жидкофазных отходов. Системы биологической очистки сточных вод с использованием активного ила. Микробиологические и технологические основы функционирования аэрационных сооружений биологической очистки воды.

Экологически безопасное использование биотехнологий

Риски применения генетически модифицированных организмов (ГМО) и продуктов их метаболизма. Проблемы биобезопасности и биотерроризма. Три поколения агентов (традиционные и модифицированные патогены, молекулярные постгеномные средства) в арсенале биологического оружия. Конвенция о запрете бактериологического оружия. Развитие молекулярно-биологических методов диагностики для своевременного выявления факторов биологической угрозы и предотвращения биотеррористических актов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пиневиц А.В. Микробиология. Биология прокариотов: Учебник. В 3 т. Том 1. – 2-е изд. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2007. – 352 с.
2. Шайхиев И.Г. Лабораторный практикум по общей микробиологии: Учебное пособие. – Казань: Изд-во Казан. гос. технол. ун-та, 2007. – 100 с. (книгафонд).
3. Гусев М.В. Микробиология: Учебник для студ. биол. специальностей вузов / М.В. Гусев, Л.А. Минеева. – 6-е изд., стер. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 464 с.
4. Алымов В.Т., Тарасова Н.П. Техногенный риск: Анализ и оценка. М.: Академкнига, 2007. 118 с.