

Учреждение образования  
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»

**Кафедра зоологии и генетики**

**С.М. Ленивко**

# **ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ**

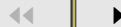
Электронный учебно-методический комплекс  
для студентов специальности 1-33 01 01 Биоэкология

Брест  
БрГУ имени А.С. Пушкина  
2020



*Начало*

*Содержание*



*Страница 1 из 144*

*Назад*

*На весь экран*

*Заккрыть*

УДК 60 (075.8)  
ББК 28.087:30.16

*Рецензенты:*

кафедра инженерной экологии и химии

УО «Брестский государственный технический университет»

доцент кафедры ботаники и экологии

УО «Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»,

кандидат биологических наук, доцент

**В.И. Бойко**

Ленивко С.М.

Экологическая биотехнология : электронный учеб.-метод. комплекс /  
С. М. Ленивко ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина. – Брест : БрГУ, 2020. – 144 с.

Электронный учебно-методический комплекс предназначен для оптимизации овладения студентом профессиональных компетенций в рамках учебной дисциплины «Экологическая биотехнология». Содержит необходимые методические материалы для освоения содержания дисциплины, выполнения лабораторных заданий, подготовки к курсовому и государственному экзаменам.

Адресуется студентам специальности 1-33 01 01 «Биоэкология», в том числе иностранным.

**УДК 60 (075.8)**

**ББК 28.087:30.16**

© УО «Брестский государственный  
университет имени А.С. Пушкина», 2019



Начало

Содержание



Страница 2 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

# СОДЕРЖАНИЕ

Введение . . . . .	5
Содержание учебного материала . . . . .	8
Тематический план . . . . .	12

## **Лекционный материал** **13**

Раздел 1. Введение . . . . .	13
Раздел 2. Основы биотехнологии . . . . .	19
2.1 Объекты биотехнологии и ее сырьевая база . . . . .	19
2.2 Методы генетического улучшения биообъектов . . . . .	27
2.3 Особенности культивирования биообъектов . . . . .	39
Раздел 3. Типы загрязнений окружающей среды . . . . .	50
Раздел 4. Биоиндикация . . . . .	55
Раздел 5. Биотестирование . . . . .	59
Раздел 6. Биологическая очистка сточных вод . . . . .	64
6.1 Аэробная очистка сточных вод . . . . .	64
6.2 Анаэробная очистка сточных вод. Образование биогаза . . . . .	75
Раздел 7. Биологическая очистка газовоздушных выбросов . . . . .	79
Раздел 8. Биоремедиация почв . . . . .	83
Раздел 9. Биоэнергетика . . . . .	88
Раздел 10. Биотехнология и экологизация сельского хозяйства . . . . .	93
Раздел 11. Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров . . . . .	102

## **Лабораторный практикум** **105**

Тема 1. Методы генетического улучшения биологических объектов . . . . .	105
Тема 2. Особенности культивирования биологических объектов . . . . .	112
Тема 3. Типы загрязнений окружающей среды . . . . .	115
Тема 4. Аэробная и анаэробная очистка сточных вод. Образование биогаза . . . . .	119
Тема 5. Биоремедиация почв . . . . .	121



Начало

Содержание

◀ ▶

◀◀ ▶▶

Страница 3 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

Тема 6. Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров . . . . .	122
Список использованной литературы . . . . .	124
Тестовые задания . . . . .	124
Вопросы к экзамену . . . . .	125
Словарь терминов и понятий . . . . .	128
Список рекомендуемой литературы . . . . .	144



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 4 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закреть](#)

## Введение

Дисциплина «Экологическая биотехнология» предполагает рассмотрение фундаментальных и прикладных аспектов сравнительно нового направления биотехнологии, ориентированного на решение экологических проблем. Дисциплина систематизирует знания, полученные студентами ранее, о специфике загрязнений окружающей среды в стройную систему и раскрывает возможности использования биотехнологических процессов и систем в природоохранных технологиях, методов биомониторинга и биоиндикации для оценки качества окружающей среды, современных тенденций в области экологизации энергетики и сельского хозяйства.

Требования к уровню освоения содержания дисциплины «Основы биотехнологии» определены образовательным стандартом высшего образования первой ступени (ОСВО 1-33 01 01–2013) подготовки специалистов по специальности 1-33 01 01 «Биоэкология».

В результате изучения дисциплины студенты должны **знать**:

- типы загрязнений окружающей среды, основные загрязняющие вещества;
- сравнительный анализ разложения загрязняющих веществ в аэробных и анаэробных условиях, работу соответствующих реакторов;
- перспективы использования экологической биотехнологии в целях охраны окружающей среды в Республике Беларусь.

Студенты должны **уметь**:

- пользоваться микробиологическими методами исследования и использовать их для определения состава микробиоты активного ила;
- использовать различные типы питательных субстратов и создавать необходимые условия культивирования биологических объектов и получения целевых продуктов;
- проводить системный поиск и анализ современных литературных информационных источников по различным аспектам и проблемам экологической биотехнологии;
- использовать новые технологии обучения.



Начало

Содержание



Страница 5 из 144

Назад

На весь экран

Закреть

Студенты должны **владеть:**

- принципами подбора биологических объектов, включаемых в биотехнологические процессы для охраны окружающей среды и рационального природопользования, и требованиями, предъявляемыми к ним;
- классическими и современными методами генетического конструирования биологических объектов для целей охраны окружающей среды;
- способами улучшения производственных и экономических характеристик и показателей биологических объектов методами *in vivo* и *in vitro*.

Электронный учебно-методический комплекс (далее – ЭУМК) составлен на основе типовой учебной программы для высших учебных заведений «Экологическая биотехнология» для специальности 1-33 01 01 «Биоэкология», утвержденной Министерством образования Республики Беларусь 07.09.2015, регистрационный № ТД-Н.074/тип.

Основная цель ЭУМК «Экологическая биотехнология» – обеспечить непрерывность и полноту дидактического цикла процесса обучения, способствовать самостоятельному накоплению студентами знаний об основных методологических принципах, достижениях и перспективах развития современной биотехнологии, направленных на решение экологических проблем, используемых для этого биологических объектов и процессов, как в условиях отсутствия непосредственного вербального общения с преподавателем, так и при использовании на аудиторных занятиях.

ЭУМК «Экологическая биотехнология» разработан на основе ранее изданного УМК (Ленивко, С. М. Экологическая биотехнология : учеб.-метод. комплекс / С. М. Ленивко ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина. – Брест : БрГУ, 2019. – 107 с. – ISBN 978-985-22-0037-0) и включает основные блоки: теоретический, практический, контроля знаний, вспомогательный. Теоретический блок представлен лекционным материалом, который, как и в УМК, содержит основную информацию по всем темам учебной программы. При этом информационные технологии позволили в ЭУМК автоматизировать процесс подачи материала, сделать более доступным поиск ответа на экзаменационный вопрос, что способствует оптимизации овладения студентом профессиональных компетенций в рамках учебной дисциплины в условиях дистанционности. Положительным моментом является и то, что в



Начало

Содержание



Страница 6 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

ЭУМК заложена возможность самопроверки, позволяющая студенту после изучения определенного блока теоретического материала проверить свои знания посредством тестирования и получить объективную оценку. В ЭУМК дополнен вспомогательный блок – включен словарь терминов и понятий по дисциплине. Материал ЭУМК по мере необходимости можно совершенствовать и дополнять, используя новые методические, творческие, технические, программные и информационные возможности.

Предлагаемый в ЭУМК материал рассчитан на 40 аудиторных часов (28 часов лекционных, 12 часов лабораторных занятий). Итоговой формой контроля знаний студентов является экзамен.



*Начало*

*Содержание*



*Страница 7 из 144*

*Назад*

*На весь экран*

*Закреть*

## Содержание учебного материала

### Раздел 1. Введение

Экологическая биотехнология как раздел общей биотехнологии, ее основные задачи. Этапы возникновения и перспективы развития биотехнологии. Проблемы экологии и роль экологической биотехнологии в их решении. Основные тенденции и перспективные направления развития экологической биотехнологии в Республике Беларусь.

### Раздел 2. Основы биотехнологии

**Тема 2.1. Объекты биотехнологии и ее сырьевая база.** Характеристика объектов биотехнологии. Имобилизованные биообъекты, преимущества их использования в биотехнологии.

Понятие о сырьевой базе биотехнологии. Требования, предъявляемые к питательным субстратам, используемым в биотехнологических процессах. Природные сырьевые субстраты растительного происхождения. Отходы производства как субстраты для культивирования биологических объектов.

**Тема 2.2. Методы генетического улучшения биологических объектов.** Основные этапы технологии рекомбинантных ДНК. Совершенствование биообъектов методами индуцированного мутагенеза, селекции, клеточной инженерии. Способы улучшения объектов биотехнологии методами генетической инженерии. Общая схема эксперимента по генетической инженерии. Технология получения трансгенных организмов и их практическое использование.

**Тема 2.3. Особенности культивирования биологических объектов.** Устройство и основные конструкторские детали ферментеров и биореакторов. Кривая роста популяции клеток, характеристика отдельных фаз.

Культивирование клеток высших растений, каллусные и сус-пензионные культуры, методы их получения и область применения. Тотипотентность растительной клетки. Культивирование клеток и тканей животных. Приемы их культивирования и направления использования. Типы культур животных клеток.

### Раздел 3. Типы загрязнений окружающей среды

Общее понятие о загрязнении окружающей среды: естественное и антропогенное загрязнения; механические, химические, физические и биологические загрязнения;



Начало

Содержание



Страница 8 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



локальные, региональные и глобальные загрязнения и их характеристика. Природные и антропогенные источники загрязнения окружающей среды. Понятие о предельно допустимой концентрации (ПДК) отдельных веществ. Нефть и отходы ее переработки как один из основных факторов загрязнения окружающей среды. Основные региональные экологические проблемы Республики Беларусь. Экологические проблемы Брестской области.

#### **Раздел 4. Биоиндикация**

Применение биологических методов для оценки качества окружающей среды. Экологические основы биоиндикации. Биоиндикаторы и их чувствительность. Биоиндикация в экологическом мониторинге. Объекты биоиндикации. Биоиндикация на разных уровнях организации живой материи. Биоиндикация состояния почв. Биоиндикация состояния воздушной среды. Биоиндикация состояния водной среды.

#### **Раздел 5. Биотестирование**

Биотестирование как метод оценки токсичности химических веществ и природных сред. Зависимость «доза – эффект» как основа оценки результатов биотестирования. Оценка качества вод методом биотестирования. Развитие методов биотестирования в мировой практике. Общие требования к тест-объектам и процедура биотестирования. Биотестирование как основа разработки нормативов содержания токсических веществ в водоемах рыбных хозяйств. Биотестирование отходов и определение класса их опасности.

#### **Раздел 6. Биологическая очистка сточных вод**

**Тема 6.1. Аэробная очистка сточных вод.** Основные показатели загрязненности сточных вод. Цель и нормативы очистки сточных вод. Сравнительная характеристика биологических методов очистки сточных вод с механическими, физико-химическими, химическими. Классификация методов биологической очистки сточных вод. Преимущества биологической очистки сточных вод. Типы очистных сооружений в естественных (поля орошения, поля фильтрации, биологические пруды) и искусственных (биофильтры, аэротенки) условиях. Характеристика процессов аэробной очистки сточных вод. Показатели работы биологических очистных сооружений. Основные группы организмов и их роль в



Начало

Содержание



Страница 9 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

процессах очистки сточных вод. Характеристика и состав микробиоты активного ила и биопленки. Способы утилизации активного ила. Пути совершенствования систем аэробной очистки сточных вод.

### **Тема 6.2. Анаэробная очистка сточных вод. Образование биогаза.**

Основные стадии разложения органического вещества в анаэробных условиях и группы микроорганизмов, их осуществляющие. Образование биогаза. Характеристика анаэробных биореакторов первого и второго поколения. Факторы, влияющие на эффективность функционирования анаэробных реакторов. Технологические схемы многостадийной биологической очистки сточных вод.

## **Раздел 7. Биологическая очистка газовоздушных выбросов**

Основные пути загрязнения газовоздушных выбросов производств и методы их очистки. Установки для микробиологической очистки и дезодорации газовоздушных выбросов: биофильтры, биоскрубберы, биореакторы с омываемым слоем. Использование нативных и иммобилизованных клеток микроорганизмов для очистки загрязненного воздуха. Эффективность различных биологических методов очистки газовоздушных выбросов.

## **Раздел 8. Биоремедиация почв**

Классификация методов ремедиации почв. Основные факторы, влияющие на выбор способа ремедиации почв. Биологические методы ремедиации почв: биостимулирование, биоаугментация, биоконцентрирование, биовыщелачивание, обработка в биореакторах. Понятия фиторемедиации, микроборемедиации, зооремедиации. Технологии фиторемедиации: ризофилтрация, фитоэкстракция, фитоиспарение, фитостабилизация, фитодеградация, фитостимуляция. Преимущества и недостатки фиторемедиации. Микроборемедиация и ее преимущества. Принципы получения микробных биопрепаратов для биоремедиации. Биопрепараты для ликвидации нефтяных загрязнений. Биопрепараты для рекультивации территорий и восстановления плодородия почв.

## **Раздел 9. Биоэнергетика**

Биоэнергетика. Получение биотоплива из возобновляемых источников: проблемы и перспективы. Характеристика биотоплива первого, второго и третьего поколения.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 10 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

Биометаногенез как процесс ликвидации отходов и экологический метод получения энергоносителей. Типы и устройство метанотенков. Получение биогаза. Получение биоэтанола.

## **Раздел 10. Биотехнология и экологизация сельского хозяйства**

Использование достижений биотехнологии в сельском хозяйстве. Принципы органического (экологического) сельского хозяйства. Биопестициды как экологически безопасная альтернатива химическим пестицидам. Методы получения, принцип действия, область применения биопестицидов. Микробные биопрепараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных. Бактериальные удобрения как альтернатива химическим удобрениям. Получение и применение бактериальных удобрений.

## **Раздел 11. Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров**

Экологические проблемы, связанные с аккумуляцией в биосфере синтетических пластиков. Биопластики и перспективы их производства из возобновляемых ресурсов. Факторы, влияющие на скорости разложения биополимеров в природе.



*Начало*

*Содержание*



*Страница 11 из 144*

*Назад*

*На весь экран*

*Заккрыть*

## Тематический план

№ раздела, темы	Название темы	Количество аудиторных часов		
		Всего	Лекции	Лабораторные занятия
<b>1</b>	<b>Введение</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>2</b>	<b>Основы биотехнологии</b>	<b>10</b>	<b>6</b>	<b>4</b>
2.1	Объекты биотехнологии и ее сырьевая база	2	2	–
2.2	Методы генетического улучшения биологических объектов	4	2	2
2.3	Особенности культивирования биологических объектов	4	2	2
<b>3</b>	<b>Типы загрязнений окружающей среды</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>4</b>	<b>Биоиндикация</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>5</b>	<b>Биотестирование</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>6</b>	<b>Биологическая очистка сточных вод</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>2</b>
6.1	Аэробная очистка сточных вод	3	2	1
6.2	Анаэробная очистка сточных вод, Образование биогаза	3	2	1
<b>7</b>	<b>Биологическая очистка газоздушных выбросов</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>8</b>	<b>Биоремедиация почв</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>9</b>	<b>Биоэнергетика</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>10</b>	<b>Биотехнология и экологизация сельского хозяйства</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	–
<b>11</b>	<b>Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>



Начало

Содержание



Страница 12 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

# Лекционный материал

## Раздел 1. Введение

### Раздел 1. ВВЕДЕНИЕ

**Экологическая биотехнология как раздел общей биотехнологии, ее основные задачи.** Антропогенная деятельность привела к различным изменениям состояния и свойств окружающей среды, в том числе неблагоприятным. Для предотвращения нарастания экологических проблем, снижения риска перерастания негативных процессов в необратимые при удовлетворении социально экономических потребностей общества возникла необходимость в создании новых технологий, в частности биотехнологии.

*Биотехнологией*, или *технологией биопроцессов*, можно условно назвать отрасль биологической науки, которая включает в себя технологические процессы, направленные на использование культур клеток бактерий, дрожжей, животных, растений, метаболизм и биосинтетические возможности которых обеспечивают выработку ценных продуктов. Таким образом, биотехнология создает возможность получения с помощью легкодоступных и возобновляемых ресурсов тех веществ и соединений, которые важны для жизни и благосостояния людей.

Термин «биотехнология» был впервые использован венгром К. Эреки в 1917 г. для обозначения всех видов работ, в которых продукты получают с помощью живых организмов. В Биологическом энциклопедическом словаре, изданном под редакцией М.С. Гилярова в 1995 г., биотехнологией называют использование живых организмов и биологических процессов в производстве. Согласно определению Европейской федерации биотехнологий (European Federation of Biotechnology), биотехнология на основе применения знаний и методов биохимии, микробиологии, генетики и химической техники позволяет извлекать выгоду в технологических процессах из свойств микроорганизмов и клеточных культур.

Годом рождения биотехнологии как науки многие ученые считают начало 40-х гг., когда был произведен с помощью микроорганизмов пенициллин в промышленном масштабе.



Начало

Содержание



Страница 13 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Сегодня в определении биотехнологии как науки используются два подхода: современный и традиционный, классический.

*Современная биотехнология*, по определению академика В. С. Шевелухи, это наука о генно-инженерных, клеточных методах и технологиях создания, использования генетически трансформированных (модифицированных) растений, животных, микроорганизмов в целях интенсификации производства, получения новых видов продуктов различного назначения.

*Классическая биотехнология* – наука о промышленных методах и технологиях, использующих для производства продукции обычных, нетрансгенных (природных и селекционных) живых организмов в естественных и искусственных условиях.

Целесообразность выделения из общей биотехнологии экологической биотехнологии в самостоятельный раздел обусловлена ее значимостью в решении проблем, связанных с продовольственным и энергетическим кризисом, загрязнением и разрушением окружающей среды, в связи с увеличением численности населения.

*Экологическая биотехнология* – это новый раздел современной биотехнологии, направленный на применение биологических систем и процессов для решения задач улучшения качества окружающей среды и рационального природопользования. Экологическая биотехнология является прикладным разделом общей биотехнологии, поскольку призвана решить достаточно широкий круг задач.

К основным задачам экологической биотехнологии относятся:

- ограничение масштабов загрязнения промышленными, сельскохозяйственными и бытовыми отходами как за счет создания безотходных технологий, так и разработки технологий рекультивации почвы, биологической очистки воды и воздуха;

- уменьшение химизации сельского хозяйства как за счет создания новых форм растений, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды, так и создания биологических средств защиты растений как альтернативного подхода химическим средствам;

- создание безопасных для человека и окружающей среды технологий конверсии продуктов сельскохозяйственного производства в более ценные товарные формы;

- совершенствование методологии мониторинга состояния окружающей среды на основе использования биоиндикации и биотестирования;



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 14 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

– организация технологических процессов с использованием биообъектов в получении энергоносителей, а также обеспечение восстановления возобновляемых природных ресурсов;

– разработка подходов к синтезу биоразлагаемых полимерных препаратов и материалов, а также подходов к биотрансформации ксенобиотиков, загрязняющих окружающую среду.

### **Этапы возникновения и перспективы развития биотехнологии.**

**Биотехнология** – междисциплинарная наука, фундаментальной основой которой являются микробиология, генетика и молекулярная биология. Ряд важнейших открытий в этих областях способствовал развитию биотехнологии. Мировое осознание потенциальных возможностей и спектра применения биотехнологии пришло лишь в начале 1980-х гг., несмотря на то, что для получения ряда пищевых продуктов используются биотехнологические процессы, такие как хлебопечение, пивоварение, виноделие, освоенные человеком еще в глубокой древности.

К основным факторам, обусловившим исторические этапы развития биотехнологии, а также становление экологической биотехнологии, относят следующие:

1) раскрытие в XIX в. Л. Пастером сущности брожения, лежащего в основе приготовления вина, что привело к осознанию важности изучения биохимических механизмов активности микроорганизмов, участвующих в этом процессе;

2) освоение приемов культивирования микроорганизмов, переход к осознанному широкомасштабному применению их в промышленности как наиболее простых и удобных биологических объектов, что заложило основу для работ с клетками растений и животных;

3) разработка и постоянное совершенствование оборудования, позволившего перейти от анализа биомолекул к их синтезу, от изучения генетической природы организмов к управлению их наследственностью и жизнедеятельностью, а также их направленному улучшению.

В связи с широким спектром методов и объектов, включенных в биотехнологические процессы, в настоящее время принято говорить о **трехкомпонентности современной биотехнологии**, которая выражается в развитии трех направлений – клеточной инженерии, генетической инженерии и промышленной (микробной) биотехнологии.



Начало

Содержание



Страница 15 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

*Клеточная инженерия* успешно развивается с 1950-х гг. и направлена на выполнение работ по культивированию, гибридизации, реконструкции в условиях *in vitro* с изолированными клетками животных и растений.

*Генетическая инженерия* – молодое направление современной биотехнологии (с 1970-х гг.), представляющее собой комплекс молекулярно-генетических методов, с помощью которых можно осуществить в условиях *in vitro* целенаправленный перенос генетической информации, конструирование новых форм биологически активных ДНК, генетически новых форм клеток и целых организмов с заданными признаками.

Принципиальным отличием *промышленной биотехнологии* являются целевые продукты – биомасса, образующаяся в результате жизнедеятельности организмов, а также продукты их метаболизма (белки, ферменты, аминокислоты, полисахариды, антибиотики, витамины, полиэферы и др.).

**Роль экологической биотехнологии в решении проблем экологии.** К наиболее острым экологическим проблемам, в решении которых приоритет отдается экологической биотехнологии, относятся следующие.

1. Возрастающее загрязнение окружающей среды токсическими химическими веществами требует разработки способов их деградации. Среди них наиболее эффективным является микробиологический метод.

2. Загрязнение природной среды нефтью и продуктами ее переработки – одна из сложных и многоплановых проблем охраны окружающей среды. Разработка биотехнологических приемов очистки воды и рекультивации почвы от нефтяных загрязнений основана на использовании природных возможностей микроорганизмов-деструкторов.

3. Широкие возможности микроорганизмов используются в экологической биотехнологии для решения проблемы биоочистки сточных вод от ксенобиотиков ароматической природы, деградации многих синтетических полимерных соединений.

4. Усиление антропогенного воздействия на биосферу привело к нарушению экосистем и потере природной способности к самовосстановлению. Для решения проблемы снижения загрязнения агробиоценозов и природных экосистем пестицидами накоплен значительный опыт по поиску, выделению из природного



Начало

Содержание



Страница 16 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



биоценоза и культивированию наиболее активных штаммов микроорганизмов, а также по разработке технологий производства и применения биопрепаратов для сельского хозяйства.

Биотехнологические процессы используются в различных отраслях промышленности, но главными потребителями продуктов современной биотехнологии являются медицина и сельское хозяйство. Поскольку биотехнология затрагивает многие сферы жизни человека, влияет на экономическое развитие государств, в мире принята следующая «цветовая» классификация биотехнологии.

«Красная» биотехнология связана с сохранением здоровья человека посредством разработки средств диагностики, производством биофармацевтических препаратов. «Зеленая» биотехнология направлена на увеличение продуктивности сельского и лесного хозяйства, а также производство биопрепаратов для сельского хозяйства. «Белая» – промышленная биотехнология, объединяющая производство биотоплива, биотехнологии в пищевой, нефтеперерабатывающей промышленности и др. «Серая» биотехнология связана с биоремедиацией, утилизацией отходов и тем самым уменьшением загрязнения окружающей среды. «Синяя» биотехнология обращена на использование морских организмов и сырьевых ресурсов.

**Основные тенденции и перспективные направления развития экологической биотехнологии в Республике Беларусь.** Ограничение сырьевых ресурсов и источников энергии, повышение уровня загрязнения окружающей среды с одной стороны, наличие производственной инфраструктуры и развитого сельскохозяйственного сектора для экономики Республики Беларусь с другой, позволяют рассматривать биотехнологию как важное приоритетное направление научной и производственной деятельности страны.

Основные тенденции и перспективные направления развития экологической биотехнологии в Республике Беларусь призваны:

а) обеспечить население более качественным продовольствием на основе совершенствования сельскохозяйственного растениеводства (уменьшение химизации за счет внедрения биологических средств защиты, факторов роста растений; оздоровление посадочного материала и создание устойчивых сортов методами клеточной и генетической инженерии, маркер-сопутствующей селекции и др.) и животноводства (создание биологически активных кормовых добавок,



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 17 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

пробиотических препаратов, бактериальных и вирусных вакцин, репродукции на основе ДНК-паспортизации племенных животных и др.);

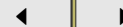
б) разработать современные высокоэффективные технологии производства биотоплива;

в) создать высокоактивные штаммы-продуценты для очистки отработанных газоздушных потоков, сточных вод, а также производства новых продуктов и др.



*Начало*

*Содержание*



*Страница 18 из 144*

*Назад*

*На весь экран*

*Заккрыть*

## Раздел 2. Основы биотехнологии

### 2.1 Объекты биотехнологии и ее сырьевая база

**Характеристика объектов биотехнологии.** Биологический объект является основным составляющим биотехнологических процессов.

*Объекты биотехнологии* – клетки микроорганизмов, животных и растений, а также ферменты, в свободном или иммобилизованном состоянии, способные осуществлять определенную модификацию исходного сырья и обеспечить получение требуемого целевого продукта в биотехнологическом процессе.

Основные требования при выборе объекта и включении его в биотехнологический процесс следующие:

- 1) объект должен сохранять свои основные физиолого-биохимические свойства в процессе длительного ведения биотехнологического процесса;
- 2) объект должен обладать устойчивостью к мутационным воздействиям и резистентностью к посторонней микрофлоре (контаминации);
- 3) объект должен быть безопасным, не выделять токсичных продуктов обмена для человека и окружающей среды;
- 4) объект должен иметь высокие выходы продукта и приемлемые технико-экономические показатели.

Основными объектами большинства современных биотехнологических производств являются микроорганизмы, что обусловлено рядом особенностей их метаболизма. Микроорганизмы обладают более мощным метаболическим потенциалом по сравнению с клетками многоклеточных организмов. Микроорганизмы способны использовать большое разнообразие веществ как источников энергии и углерода (от  $\text{CO}_2$  до полимеров). В связи с большим разнообразием условий обитания микроорганизмов у них сформировались различные типы метаболизма, существенно отличающиеся от метаболизма эукариотов. Среди них встречаются организмы, способные как к гетеротрофному, так и автотрофному типам питания. Производство энергии в виде АТФ возможно в аэробных и анаэробных условиях.

Различают промышленные, базовые и модельные микроорганизмы.



Начало

Содержание



Страница 19 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**Промышленные** – это микроорганизмы, которые используются в промышленном производстве для получения ферментных препаратов, приготовления заквасок для силосования растительных субстратов, получения лечебно-профилактических препаратов, производства биопрепаратов против возбудителей болезней растений, бактериальных препаратов для деструкции токсичных органических веществ и биоремедиации природных и производственных сред.

**Базовые (промышленно-ценные)** – микроорганизмы, на которые ориентируются при разработке нового биотехнологического процесса. К ним относят так называемые GRAS-микроорганизмы («generally recognized as safe» ‘обще признаны как безопасные’): бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, другие виды бацилл и лактобацилл, виды *Streptomyces*. Сюда также относят виды грибов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* и дрожжей *Saccharomyces* и др.

**Модельные** – это немногочисленная, но хорошо изученная группа микроорганизмов. К ним относятся кишечная палочка (*Escherichia coli*), сенная палочка (*Bacillus subtilis*) и пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*).

В Республике Беларусь создана коллекция непатогенных микроорганизмов (научная коллекция типовых и промышленно-ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси), которая постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 11.06.2002 № 758 включена в Государственный реестр научных объектов, составляющих национальное достояние. Коллекционный фонд сформирован за счет культур, выделенных из природных источников Беларуси, полученных сотрудниками института методом селекции, а также штаммов микроорганизмов из других коллекций. Основу бактериального фонда составляют микроорганизмы, выделенные из почв Беларуси. Большой интерес представляют экстремофильные бактерии – деструкторы широкого спектра ароматических соединений (органические кислоты, спирты, альдегиды, параксилон, этиленгликоль, фталевые кислоты и их эфиры, нефть). В коллекции представлены мицелиальные и дрожжевые грибы – продуценты протеолитических, амилолитических, целлюлолитических, пектолитических ферментов, кормового белка, каротиноидов, липидов и других биологически активных веществ. Первое издание Каталога культур микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси было опубликовано в 1997 г., второе – в 2006 г.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 20 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

В биотехнологии, наряду с термином *биологический объект*, широко используются понятия *продуцент* и *сверхпродуцент* в производствах, в которых продукты получают непосредственно биосинтезом. *Продуцентом* является организм, который осуществляет биосинтез интересующего целевого продукта. *Сверхпродуцентом* называют организм, способный синтезировать определенный продукт в количествах, превосходящих его физиологические потребности.

**Иммобилизованные биообъекты, преимущества их использования в биотехнологии.** Особенностью современной биотехнологии является разработка и использование иммобилизованных ферментов и иммобилизованных клеток микроорганизмов для улучшения технико-экономических показателей биотехнологических процессов.

*Иммобилизованные ферменты* – это ферменты с ограниченной свободой передвижения в пространстве, связанной с его фиксацией на носителе и в носителе с помощью физических или химических методов.

Для получения иммобилизованных ферментов обычно применяют следующие методы:

- а) адсорбция фермента на водонерастворимых носителях, часто на ионитах (рисунок 1);
- б) захват фермента в сетку геля или полимера;
- в) микрокапсулирование (захват раствора фермента в полупроницаемые капсулы размером 5–300 мкм);
- г) ковалентное присоединение молекул ферментов к водонерастворимому носителю, в качестве которого используют как природные и синтетические полимеры (целлюлоза, хитин, агароза, декстраны, бумага, текстильные материалы (ткани), полистирол, нейлон, ионообменные смолы и т. д.), так и неорганические материалы (пористое стекло, силикагели, силихромы, керамика, металлы и т. д.);
- д) ковалентная сшивка молекул фермента друг с другом или с инертными белками при помощи би- или полифункционального реагента.

Преимущества иммобилизованных ферментов заключаются в возможности их отделения от субстратов и продуктов ферментации простой фильтрацией и повторного использования в ферментативном процессе. Это позволяет переводить многие периодические ферментации в непрерывные процессы.



[Начало](#)

[Содержание](#)

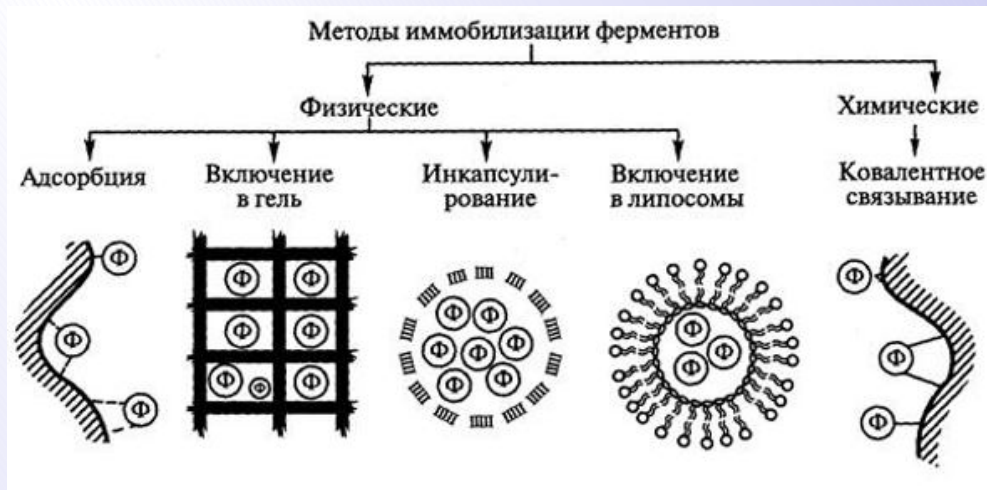


Страница 21 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)



**Рисунок 1** – Методы иммобилизации ферментов  
(по Т. А. Егоровой и др., 2003):  
ф – фермент

*Иммобилизованные клетки микроорганизмов*, как и иммобилизованные ферменты, представляют собой гетерогенные биокатализаторы (клетки, содержащие естественный набор ферментов, и носитель), для которых созданы ограничения в подвижности в реакционной среде.

Иммобилизация клеток обычно производится их адсорбцией на водонерастворимых носителях (часто на ионообменных смолах), ковалентной сшивкой с помощью бифункциональных реагентов (например, глutarового альдегида) или путем захвата их в полимер, как правило, с последующим формованием в виде частиц определенного размера и конфигурации. Иммобилизация целых клеток микроорганизмов предотвращает их размножение и обычно увеличивает сохранность и срок работы в качестве катализатора по сравнению с необработанными клетками.

Преимущества иммобилизованных клеток по сравнению с иммобилизованными ферментами заключаются главным образом в том, что при их использовании



Начало

Содержание



Страница 22 из 144

Назад

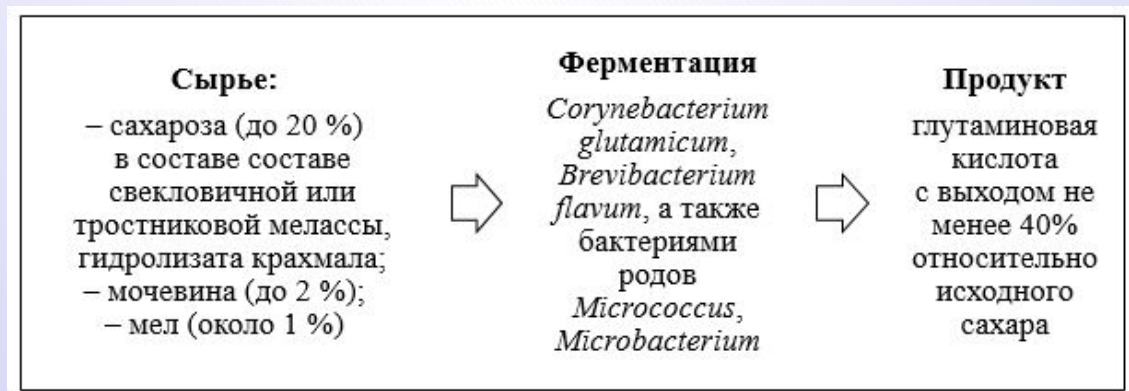
На весь экран

Закрыть



отпадают наиболее дорогостоящие стадии выделения, очистки и иммобилизации ферментов. Кроме того, ферменты в клетке находятся в своем естественном окружении, что положительно сказывается на их термостабильности, а также стабильности в условиях непрерывной ферментации.

**Сырьевая база биотехнологии. Требования, предъявляемые к питательным субстратам, используемым в биотехнологических процессах.** С точки зрения толкования слова *сырье* – это материал, предназначенный для дальнейшей переработки в желаемый продукт. Следовательно, любое производство начинается с сырья. Отличие биотехнологического производства состоит в том, что из сырьевых материалов с помощью живых организмов производят готовые продукты. На рисунке 2 представлена схема, отражающая промышленный биотехнологический процесс производства глутаминовой кислоты из углеводного сырья.



**Рисунок 2** – Схема производства глутаминовой кислоты при микробной ферментации углеводного сырья

Под *сырьем* в биотехнологии понимают различные виды недорогих, легкодоступных и возобновляемых углеводсодержащих источников с достаточно высокой питательной ценностью компонентов для культивирования биологических объектов, которые способны производить конверсию веществ субстрата в нужный продукт.

Начало

Содержание



Страница 23 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

В качестве **сырьевой базы в экологической биотехнологии** могут выступать различные виды вторичного сырья, являющегося отходами сельскохозяйственного производства, отраслей лесоводства, деревообрабатывающей и бумажной промышленности, пищевой промышленности. Глубокая переработка вторичных отходов, а также возобновляемых источников, в первую очередь растительного сырья, позволит повысить конкурентоспособность производимых продуктов и отказаться от использования таких распространенных источников углерода, как компоненты нефти и газа, парафин, синтетические спирты и органические кислоты, имеющих ограниченный ресурс.

Требования к питательным средам, используемым в биотехнологии, следующие:

- 1) питательная среда должна содержать все необходимые для роста биологического объекта питательные вещества;
- 2) питательная среда должна иметь оптимальные биофизические показатели для культивирования продуцентов (температура, pH, вязкость), быть изотоничной и по возможности прозрачной;
- 3) стерильность питательной среды – одно из обязательных требований для ряда биотехнологических процессов;
- 4) основной питательный субстрат должен быть недефицитным, недорогим, так как во многом определяет стоимость целевого продукта.

Оптимальный компонентный состав питательной среды для биотехнологического процесса подбирается с учетом потребностей продуцента в питательных веществах. В связи с этим нет универсальных питательных сред. Однако основными компонентами любой питательной среды для культивирования микроорганизмов являются соединения углерода и азота, а также минеральные элементы и факторы роста.

В качестве источников углерода преимущественно используют природные комплексные среды неопределенного состава (отходы различных производств, продукты переработки растительного сырья, компоненты сточных вод и др.), в которых помимо углеродных соединений содержатся минеральные элементы и ростовые факторы.

В качестве источника азота чаще используют мочевины, аммоний или их соли. Однако для ряда отдельных продуцентов лучшими являются нитраты



Начало

Содержание



Страница 24 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



или органические соединения азота. Существенное значение при обеспечении азотного питания продуцента имеет не только вид, но и концентрация азота в питательной среде. Изменение соотношения углерода к азоту влияет на скорость роста продуцента, метаболизм.

Минеральные элементы, вводимые в состав питательных сред, подразделяются на макро- и микроэлементы. Среди макроэлементов, наибольшую потребность продуценты испытывают в фосфоре, сере, калии и магнии. При этом в качестве источников используют соли (сульфаты и фосфаты аммония) тем самым решая вопрос и азотного питания. Потребности продуцентов в микроэлементах невелики, поэтому их редко специально вводят в среду.

Использование ростовых факторов (отдельных аминокислот, витаминов и др.) зависит от индивидуальных потребностей продуцента, состава питательной среды, условий ферментации.

**Субстраты для культивирования биологических объектов.** Наиболее перспективным в настоящее время считается разработка биотехнологических производств на основе природного сырья растительного происхождения. Существенную значимость представляют крахмалосодержащие сельскохозяйственные продукты, включающие различные злаки, такие как кукуруза, рис, пшеница; маниока, картофель, сладкий картофель и другие различные корнеплоды. Некоторым недостатком крахмала является то, что до использования в качестве питательного субстрата он обычно должен быть разрушен до моносахаридов или олигосахаридов путем ферментативного переваривания или гидролиза. Тем не менее в настоящее время с определенным успехом разрабатываются перспективные биотехнологические процессы, основанные на использовании данного полисахарида. Другим перспективным источником углерода является целлюлоза – неотъемлемый компонент любой растительной клетки. Однако необходимым условием подготовки целлюлозы к использованию в качестве биотехнологического сырья является ее гидролиз до простых водорастворимых сахаров. При получении биомассы кормовых дрожжей сырьем служит гидролизат такого растительного сырья, как кукурузная кочерыжка, солома, подсолнечная лузга, рисовая и хлопковая шелуха, гузаний (стебли хлопчатника).



Начало

Содержание



Страница 25 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

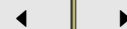
Потенциальным сырьем для культивирования биологических объектов являются отходы ряда производств. Наиболее подходящими, чтобы служить питательным субстратом для биотехнологических процессов, являются отходы производства сахара – свекловичная и тростниковая меласса, содержащая до 50 % сахарозы. Пивная дробина, солодовые ростки, отходы переработки несоложенного ячменя также являются хорошим, но небольшим источником углеводов. К отходам картофелекрахмального производства, используемым в качестве сырья для выращивания микроорганизмов, относится мезга, клеточный сок картофеля и соковые воды, промывные воды после гидросмыва крахмала. Для получения микробных белковых препаратов практикуется использование отходов после переработки овощей и фруктов для консервной промышленности, в числе которых ботва, очистки, выжимки плодов, также используются отходы молочноперерабатывающих предприятий – молочная сыворотка.

В целом представленные виды природного сырья и отходов производств имеют сложный химический состав с изменчивым количественным содержанием отдельных компонентов, поэтому не могут служить в качестве единственного источника для культивирования биологического объекта. Примером служит представленная на рисунке 2 схема производства глутаминовой кислоты при микробной ферментации углеводного сырья. При промышленном культивировании *Corynebacterium glutamicum* в питательной среде в качестве источника углерода используют сахарозу (до 20 %) в составе мелассы, гидролизата крахмала. Поскольку в мелассе также присутствует биотин, предложено для усиления экскрекции глутаминовой кислоты добавлять в культуральную среду пенициллин или ненасыщенные жирные кислоты. Источником азота на стадии основной ферментации является мочеви́на (до 2 %). В качестве источника микроэлементов вводят мел (около 1 %), который способен стабилизировать рН питательной среды. При оптимальных условиях культивирования (температура, рН, аэрация) в течение 48–72 ч достигается достаточно высокий выход продукта.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 26 из 144

[Назад](#)

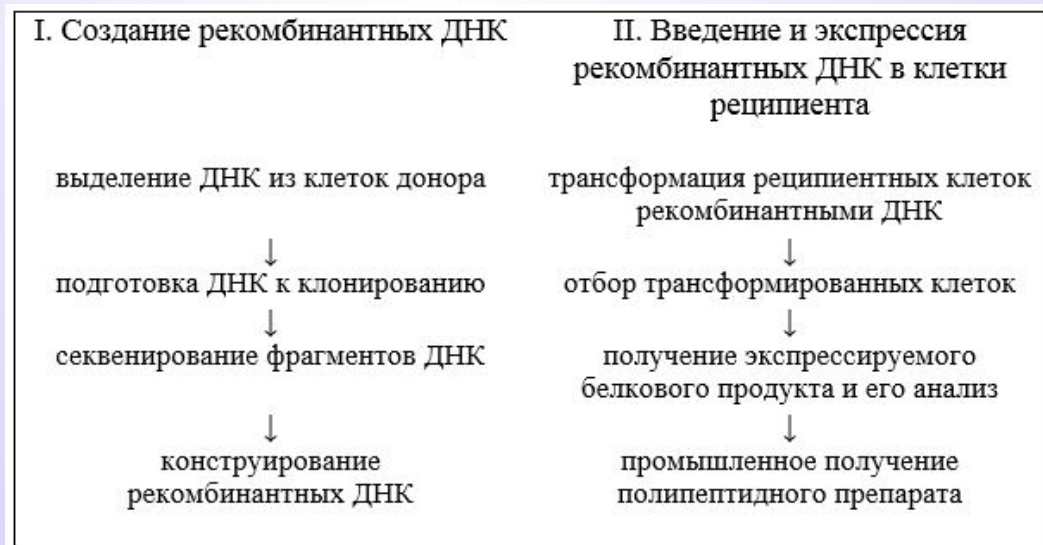
[На весь экран](#)

[Закреть](#)

## 2.2 Методы генетического улучшения биообъектов

**Основные этапы технологии рекомбинантных ДНК.** Совокупность экспериментальных методов, позволяющая осуществить перенос генетического материала из одного организма в другой, была названа *технологией рекомбинантных ДНК*. Этот подход был разработан на бактериях, в частности на кишечной палочке (*Escherichia coli*), в клетки которой вводили гены животных и человека и добивались их репликации. В связи с этим технология рекомбинантных ДНК включает как методы генной инженерии, так и методы генетики микроорганизмов.

Технология рекомбинантных ДНК включает два этапа, каждый из которых подразделен на ряд подэтапов, включающих определенные методы (рисунок 3).



**Рисунок 3** – Этапы технологии рекомбинантных ДНК

Конечной целью технологии рекомбинантных ДНК является синтез нужных белков для применения в медицине и фармацевтической промышленности, синтез белков-ферментов для генно-инженерных исследований. Получаемые



Начало

Содержание

◀ ▶

◀◀ ▶▶

Страница 27 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

полипептидные препараты имеют высокую степень чистоты, относительно недороги, кроме того, их трудно было бы получить иным путем. К числу таких препаратов относятся интерфероны, инсулин, соматотропин, белки, кодируемые вирусом гепатита В и возбудителем малярии человека, используемые в качестве антигенов и некоторых вакцин, а также ДНК-полимераза I, ДНК-лигаза *E. coli*, обратная транскриптаза.

Разработка технологии рекомбинантных ДНК стала возможной благодаря развитию технологического подхода к наследственной информации и возникновению генетической инженерии.

Годом рождения нового стратегического направления в биотехнологии – **генетической инженерии** – считается 1972 г., когда П. Берг получил в условиях *in vitro* первую рекомбинантную (гибридную) молекулу ДНК (рекДНК) путем объединения линейных фрагментов ДНК фага лямбда ( $\lambda$ dvgal) кишечной палочки и вируса (SV40) обезьян с помощью искусственно созданных у них «липких» концов. В следующем году С. Коэн и Г. Бойер с сотрудниками обнаружили, что фрагменты ДНК с «липкими» концами можно получить более простым способом – обработкой ДНК рестрицирующими эндонуклеазами. Эти открытия послужили толчком для бурного развития генетической инженерии.

Методы генетической инженерии позволяют управлять наследственностью и жизнедеятельностью организмов, а также придавать им новые полезные признаки, ранее не наблюдавшиеся в природе.

**Совершенствование биообъектов методами индуцированного мутагенеза, селекции, клеточной инженерии.** Вопрос улучшения штаммов микроорганизмов на основе фундаментальных знаний об организации их генома и молекулярно-биологических механизмах реализации основных функций, в первую очередь связанных с синтезом целевого продукта, не теряет своей актуальности.

В настоящее время в биотехнологических процессах используются тысячи штаммов с различными свойствами из сотен видов микроорганизмов, которые первично были выделены из природных источников, а затем улучшены с помощью различных методов.

**Индукцированный мутагенез** – метод, в котором наследственные модификации у продуцентов возникают под действием мутагенных факторов (ультрафиолетовое,



Начало

Содержание



Страница 28 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

рентгеновское и гамма-излучения, определенные химические вещества и др.). Недостатки связаны с трудоемкостью, случайным характером образующихся мутаций и отсутствием сведений о характере возникающих изменений.

**Селекция** – это создание высокоактивных вариантов продуцентов, характеризующихся наследственными полезными признаками, лучше подходящими к конкретным условиям производства. В селекции продуцентов применяют традиционные (отбор, индуцированный мутагенез) и новейшие методы клеточной и генетической инженерии, позволяющие получать измененные варианты, у которых признаки претерпели модификации в нужном направлении.

**Отбор** – основной метод, использующийся в ступенчатой селекции. На каждом этапе отбора из популяции микроорганизмов выделяются наиболее активные варианты (спонтанные или индуцированные мутанты), из которых на следующем этапе отбирают новые, более эффективные штаммы и т. д.

**Клеточная селекция** – это процесс выделения клеток определенного типа в культуре с помощью селективного фактора в *условиях in vitro*. В качестве селекционного фактора используют химические соединения (соли в высоких концентрациях, гербициды и др.), которые добавляют в питательную среду, либо изменяют условия культивирования (высокая или низкая температура, неблагоприятное значение pH, освещенность и др.). Различают следующие разновидности клеточной селекции: позитивная (отбор устойчивого к фактору типа клеток), негативная (отбор выживших метаболически неактивных клеток, гибель делящихся), тотальная (отдельное тестирование всех клеточных клонов), визуальная (выделение определенного типа клеток из популяции визуально или с помощью биохимических методов). Клеточная селекция предполагает, что если отобранные в условиях *in vitro* клетки устойчивы к селективному фактору, то и регенерированные из них растения будут устойчивы к данному фактору *in vivo*.

**Гибридизация соматических клеток** – слияние протопластов, изолированных из соматических клеток растений различных видов, с целью создания новых форм. Соматическая гибридизация позволяет скрещивать филогенетически отдаленные виды растений, которые невозможно скрестить обычным половым путем, создавать гибриды из трех и более родительских клеток.



Начало

Содержание



Страница 29 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

**Способы улучшения объектов биотехнологии методами генетической инженерии.** Генетическая инженерия связана с целенаправленным созданием в условиях *in vitro* новых форм биологически активных ДНК, генетически новых форм клеток и целых организмов с помощью различных методов переноса генов.

Основной задачей генетической инженерии является создание в условиях *in vitro* **рекомбинантных молекул ДНК** посредством соединения фрагментов ДНК, которые в природе чаще не сочетаются. Причиной невозможности естественного генетического обмена между разными видами является отсутствие гомологии в нуклеотидных последовательностях их ДНК. Посредством же методов генной инженерии можно осуществить обмен генами между эволюционно отдаленными геномами, равно как и введение в клетку гена, принадлежащего другому виду.

Для создания организмов, обладающих необычными сочетаниями признаков, разработаны различные методы манипулирования генами в условиях *in vitro* на основе природных явлений, связанных с перемещением отдельных генов, их групп или сегментов.

**Инструменты генетической инженерии** – это три типа ферментов: **рестриктазы, ДНК-лигазы и ДНК-полимеразы.**

**Рестриктазы** представляют собой специфический класс эндонуклеаз бактерий, из которых они были выделены в 1968 г. В. Арбером. В настоящее время показано, что рестриктазы могут кодироваться не только хромосомной, но и плазмидной ДНК бактерий, а также и геномом бактериофагов. Рестриктазы – ферменты рестрикции, которые разрезают ДНК по определенным нуклеотидным последовательностям, называемым сайтом рестрикции. Каждая из рестриктаз узнает свой сайт рестрикции и разрезает нуклеотидную последовательность ДНК либо внутри сайта узнавания (распознаваемого участка), с которым они связываются, либо в непосредственной близости от него. Таким образом, при действии конкретной рестриктазы одна и та же нуклеотидная последовательность ДНК будет всегда образовывать одинаковый набор фрагментов. Основными ферментами, используемыми в генетической инженерии для получения рекомбинантных ДНК, являются рестриктазы II типа. Отличительной их особенностью является то, что у них сайты узнавания и места рестрикции совпадают, т. е. с сайта узнавания начинается расщепление молекулы ДНК данным ферментом. Сайт рестрикции рестриктаз II типа представлен



Начало

Содержание



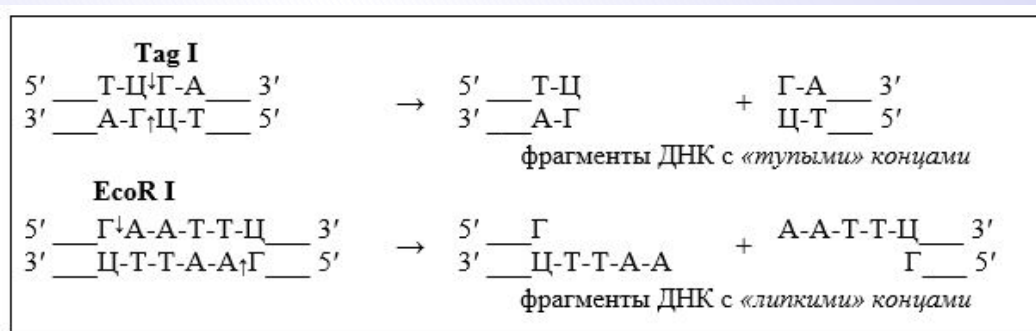
Страница 30 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

симметричными при повороте на 180° нуклеотидными последовательностями двуцепочной ДНК – *палиндромами*. Палиндромы могут быть любых размеров, но в генетической инженерии используют в основном те, которые состоят из 4, 5, 6 реже 8 п. н. Рестриктазы II типа могут расщеплять ДНК как по оси симметрии сайта рестрикции, так и со смещением, с образованием так называемой «ступеньки». В первом случае образуются **фрагменты ДНК с «тупыми» (ровными) концами**, а во втором – с **«липкими»** (на концах имеются выступающие одноцепочные участки) (рисунок 4).



**Рисунок 4** – Действие рестриктаз Tag I и EcoR I на ДНК с указанием участка распознавания и сайта рестрикции

Фрагменты, полученные под действием рестриктаз, разделяют с помощью метода электрофореза в агарозном или полиакриламидном гелях. *Метод электрофореза* основан на распределении по длине гелевой пластинки фрагментов ДНК, движущихся с различной скоростью в электрическом поле к положительно заряженному полюсу. Электрофоретическая подвижность рестрикционных фрагментов ДНК линейно связана с логарифмом его относительной молекулярной массы. После окрашивания геля бромистым этидием, который связывается с ДНК, выявляется набор полос, каждая из которых соответствует рестрикционному фрагменту. Молекулярную массу разделенных фрагментов ДНК определяют калибровкой с помощью маркерных фрагментов с известными молекулярными массами. Обработка образца ДНК определенной рестриктазой всегда дает один



Начало

Содержание



Страница 31 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

и тот же набор фрагментов. Если использовать несколько рестриктаз и сначала обработать ДНК каждой из рестриктаз в отдельности, затем их смесями и определить размер полученных рестриктов методом гель-электрофореза, можно построить **рестрикционную карту молекулы ДНК**, на которой показан порядок следования сайтов рестрикции различных рестриктаз.

**ДНК-лигазы** – ферменты, осуществляющие соединение фрагментов ДНК путем восстановления фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами. Этот процесс называется **лигированием**. Объединение фрагментов ДНК с одноименными «липкими» концами, т. е. объединение любых двух фрагментов (независимо от происхождения), образовавшихся под действием одной и той же рестриктазы, происходит за счет образования водородных связей между однонитевыми участками комплементарных нуклеотидов. После такого объединения для восстановления целостности двойной спирали используют ДНК-лигазу.

**Общая схема эксперимента по генетической инженерии.** Основные подходы, используемые в эксперименте по генетической инженерии, могут быть сгруппированы в три этапа (рисунок 5).

<b>Выделение ДНК, получение генов</b>	<b>Включение гена в вектор</b>	<b>Введение вектора в клетки</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• химический синтез</li> <li>• ферментативный синтез</li> <li>• отбор из банка генов</li> <li>• экстрагирование из клеток донора</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• выбор вектора</li> <li>• конструирование рекомбинантных ДНК</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• трансформация</li> <li>• конъюгация</li> <li>• трансдукция</li> <li>• методы прямого переноса</li> </ul>

**Рисунок 5** – Общая схема эксперимента по генетической инженерии

Эксперимент по генетической инженерии начинается с выделения ДНК и получения генов. Успех на данном этапе зависит прежде всего от изученности



Начало

Содержание



Страница 32 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



нужного исследователю гена и его положения в геноме, от разработки методов выделения иРНК этого гена, от существования доноров, у которых этот ген особенно активен, что позволяет выделить достаточное количество его иРНК с целью синтеза на ее матрице нужного гена с помощью обратной транскриптазы. В связи с этим существует и несколько путей получения нужного гена.

Химический синтез гена фенилаланиновой тРНК дрожжей размером в 77 п. н. впервые был осуществлен в 1968 г. в лаборатории Г. Кораны. В настоящее время химическим методом из-за его высокой стоимости, трудоемкости и длительности синтезируют только небольшие гены (до 100 нуклеотидов) с известной нуклеотидной последовательностью (например, ген гормона человека инсулина), а также ДНК-зонды.

Ферментативный синтез генов стал возможным после открытия у ретровирусов фермента – обратной транскриптазы, РНК-зависимой ДНК-полимеразы или ревертазы, – который синтезирует двунитчатую ДНК на матрице однонитчатой РНК. Такой подход синтеза гена может быть реализован только в случае доступности зрелой эукариотической иРНК, обратная транскрипция которой позволит получить *in vitro*, лишённую интронов кДНК. Однако выделить иРНК по каждому гену в чистом виде практически невозможно, кроме тех клеток и тканей, в которых этот ген избирательно активно экспрессируется.

Отобрать нужный фрагмент ДНК с интересующим геном из банка генов, представляющего собой набор клонированных генов данного организма, можно с помощью ДНК-зонда, представляющего короткий (20–30 п. н.) одноцепочечный фрагмент ДНК, нуклеотидная последовательность которого комплементарна искомому гену.

Нужный ген или фрагмент может быть получен путем непосредственного расщепления экстрагированной из клеток донора геномной ДНК под действием подходящей рестрикционной эндонуклиазы. Такой подход наиболее распространен при поиске интересующих исследователя генов с целью их дальнейшего клонирования.

Выделенный фрагмент ДНК может быть секвенирован, т. е. может быть определена его нуклеотидная последовательность химическим либо ферментативным методом.



Начало

Содержание



Страница 33 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

Дальнейшая работа с отобранным геном (фрагментом ДНК) связана с включением его в состав вектора. *Векторами* называют молекулы ДНК, способные акцептировать чужеродную ДНК и обеспечивать ее репликацию, экспрессию и/или трансформацию (перенос в другой организм).

Идеальными векторными молекулами, созданными самой природой, оказались *плазмиды*, представляющие собой небольшие кольцевые молекулы ДНК, автономно реплицирующиеся в бактериальной клетке. В качестве исходного материала для векторов используют, помимо плазмид, бактериофаги, мобильные генетические элементы, вирусы. В настоящее время создано большое число векторов.

К векторной молекуле предъявляются следующие требования:

- 1) вектор должен содержать уникальный **сайт рестрикции**, в который может быть осуществлена вставка фрагмента чужеродной ДНК;
- 2) вектор должен обладать определенной **емкостью**, при этом иметь небольшой размер и не абортировать встроенный фрагмент ДНК;
- 3) вектор должен реплицироваться в определенных клетках за счет имеющейся нуклеотидной последовательности – **точки начала репликации (ori-сайт)**;
- 4) вектор должен содержать последовательность **маркерного гена**, облегчающего селекцию клеток, несущих векторную конструкцию, так как при встраивании в область маркерного гена чужеродного фрагмента ДНК его целостность нарушается и определяемый им признак исчезает.

**Векторные системы, применяемые для клонирования** в клетках прокариотических организмов, можно подразделить на три группы: **плазмидные, фаговые, плазмидно-фаговые (космиды и фазмиды)**.

*Плазмидные векторы* конструируются на основе **плазмид**. Впервые плаزمида в качестве вектора была использована в лаборатории П. Берга. Эксперименты проводились с небольшой плазмидой кишечной палочки pSC101, несущей ген устойчивости к тетрациклину. Она содержала только один сайт рестрикции для EcoR I. Под действием рестриктазы кольцевая плазмида превращалась в линейную молекулу с «липкими» концами. Такую ДНК плазмиды pSC101 смешивали с фрагментом ДНК золотистого стафилококка, полученного с помощью той же рестриктазы. ДНК-лигаза объединяла чужеродные фрагменты в единую рекомбинантную молекулу ДНК. Затем такой рекомбинантной плазмидой



Начало

Содержание

◀ ▶

◀◀ ▶▶

Страница 34 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

трансформировали клетки *E. coli*. Клетки с рекомбинантной плазмидой отбирались на селективной среде с тетрациклином. Этот исторический опыт показал, что различные фрагменты чужеродных про- и эукариотических ДНК могут быть встроены в геном реципиента с целью придания ему новых свойств, а плазмиды обладают всеми основными свойствами, которые позволяют их использовать в качестве **векторов**.

По мере развития методов генетической инженерии совершенствовались и плазмидные векторы. Широкое распространение в 1980-е гг. получил плазмидный вектор pBR322. Данная плазида обладает рядом свойств, необходимых для векторов: содержит уникальные сайты рестрикции для различных **рестриктаз**, несет два **маркерных гена** для селекции на бактериальных средах.

Многие годы успешно применяется еще один класс плазмидных векторов типа pUC. Их отличительной особенностью является наличие в области маркерного гена полилинкера – участка множественного клонирования, представляющего собой синтетический олигонуклеотид, содержащий сайты рестрикции для наиболее часто используемых рестриктаз.

**Плазмидные векторы**, созданные для клонирования, имеют один важный недостаток – небольшую емкость. В таких векторах можно клонировать фрагменты ДНК длиной до 10 т. п. н., поэтому для клонирования фрагментов чужеродной ДНК большей длины были разработаны фаговые векторы, позже космиды – особый тип векторов, сочетающий свойства плазмиды и фага. В реципиентной клетке, инфицированной молекулой рекомбинантного фагового вектора, образуется потомство, которое лизирует клетку и будет инфицировать соседние клетки.

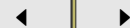
**Фаговые векторы** для *E. coli* сконструированы на основе двух бактериофагов – фага  $\lambda$  и M13. При получении фаговых векторов используется то обстоятельство, что вся центральная часть молекулы ДНК фага  $\lambda$  может быть заменена чужеродным фрагментом ДНК размером 10–21 т. п. н. При этом длина полученной рекомбинантной ДНК фага не должна быть меньше 30 т. п. н. и больше 52 т. п. н.

Для клонирования более длинных генов размером 30–45 т. п. н. были сконструированы специальные векторы с большой емкостью – **космиды**, представляющие собой гибридные молекулы, которые характеризуются плазмидным типом репликации и обладают способностью упаковываться в условиях



Начало

Содержание



Страница 35 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

*in vitro* в головки фага  $\lambda$ . Космиды, по существу, являются **плазмидными векторами**, имеющими лишь *cos*-сайт фага  $\lambda$ , необходимый для осуществления эффективной упаковки рекомбинантной ДНК *in vitro*. Истинными гибридами плазмиды и фага являются **фазмиды** – линейные молекулы ДНК, на концах которых расположены сегменты ДНК фага  $\lambda$ , содержащие все гены, требующиеся для инфекции, а средняя часть представлена плазмидной ДНК. Функции репликации как фага, так и плазмиды в фазмидах полностью сохранены и обычно реализуются при различных температурах.

Стратегия введения вектора, содержащего нужный ген, в клетки реципиента основана на изучении механизма и разработке методов генетической трансформации. **Генетическая трансформация** представляет собой перенос ДНК неполовым путем от клеток донора к клеткам реципиента, в результате чего реципиентные клетки приобретают новые или усиленные наследственные свойства и признаки. В качестве реципиентной клетки могут быть использованы клетки бактерий, грибов, растений и животных.

Трансформация бактерий плазмидными векторами основана на их компетентности, т. е. способности акцептировать чужеродную ДНК. Изначально только некоторые бактерии обладают этим свойством, поэтому разработан ряд методов, позволяющих индуцировать компетентность бактериальных клеток, тем самым повысить частоту трансформации.

**Метод химической обработки** бактериальных клеток  $\text{CaCl}_2$  приводит к локальному разрушению клеточной стенки, что способствует проникновению экзогенной ДНК.

**Метод электропорации** заключается в кратковременном экспонировании бактериальных клеток в интенсивном электрическом поле, в результате чего в клеточной оболочке возникают поры, через которые проникает векторная ДНК.

**Конъюгация** – это метод, основанный на способности некоторых плазмид переходить из донорной бактериальной клетки в реципиентную. Поскольку большинство плазмид, используемых при создании рекомбинантных ДНК, не обладают способностью к конъюгации, то в донорную клетку дополнительно вводят плазмиду с конъюгативными функциями. Когда такая клетка находится в непосредственной близости от реципиентной клетки, то сначала в нее переходит конъюгативная плаزمида, а затем обеспечивает перенос векторной плазмиды.



Начало

Содержание



Страница 36 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**Технология получения трансгенных организмов и их практическое использование.** Технология получения трансгенных организмов базируется на технологии рекомбинантных ДНК, представленной на рисунке 3, которая по сути является схемой эксперимента по генетической инженерии, позволяющей сконструировать нужный ген, доставить его в клетку организма и обеспечить устойчивую экспрессию.

**Трансгенный (генетически модифицированный) организм** – организм, содержащий чужеродный генетический материал, введенный с помощью методов генной инженерии.

Инсулин стал первым белком человека, который был в 1985 г. промышленно синтезирован в генетически модифицированной *E. coli* штамма K12. Общая схема генно-инженерного способа получения проинсулина человека с последующим его ферментативным расщеплением в инсулин *in vitro* включает следующие основные этапы (рисунок 6):

- 1) синтез фрагмента ДНК, кодирующего структуру проинсулина, состоящего из В, С и А-цепей;
- 2) встраивание синтезированного гена проинсулина в экспрессирующую **плазмиду** (pBR322) под промотор гена, кодирующего лидерный пептид (например, в проксимальную часть гена  $\beta$ -галактозидазы);
- 3) трансформация полученных рекомбинантных плазмид в *E. coli*;
- 4) синтез препроинсулина, представляющий собой гибридный белок, состоящий из лидерного пептида и проинсулина (например, препроинсулин, содержащий на N-конце участок  $\beta$ -галактозидазы, соединенный через метионин с проинсулином), который накапливается в тельцах включения;
- 5) расщепление с помощью бромцианина препроинсулина, который далее *in vitro* под действием ферментативного отщепления центральной С-цепи последовательно превращается в инсулин.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 37 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

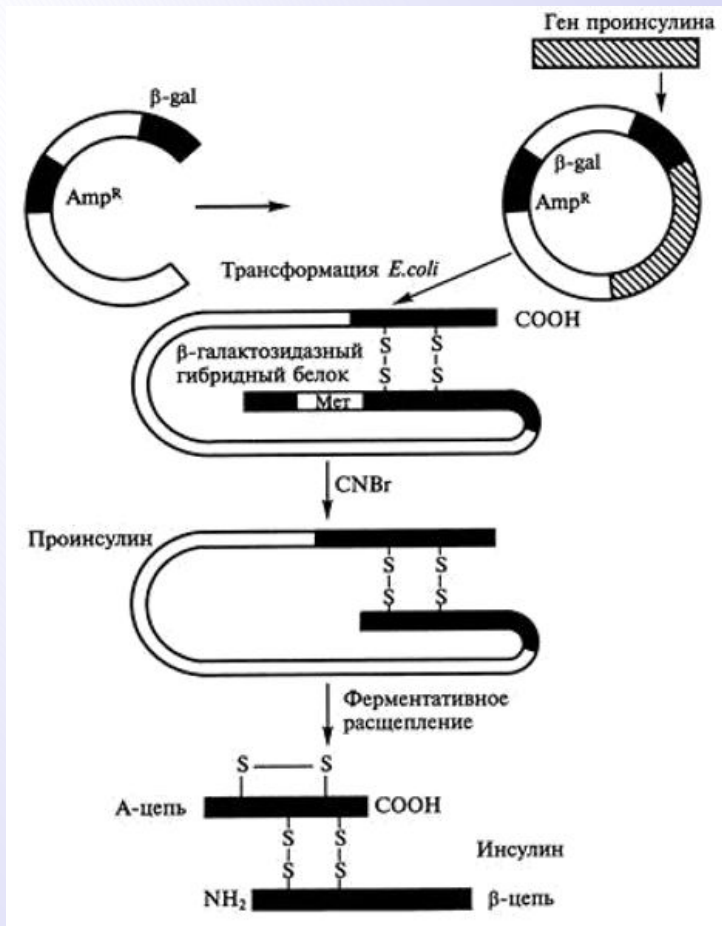


Рисунок 6 – Схема генно-инженерного синтеза инсулина  
(по Т. А. Егоровой и др., 2003)



Начало

Содержание



Страница 38 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

### 2.3 Особенности культивирования биообъектов

**Устройство и основные конструкторские детали ферментеров и биореакторов.** Взаимодействие биообъекта (продуцента) с субстратом и образование целевых продуктов происходит в биореакторе (ферментере), составляющем центральное звено аппаратного оформления биотехнологического процесса.

*Биореактор* – изолированная система, в которую вместе с питательной средой вводят биологический объект, где создаются оптимальные условия для роста продуцента или накопления синтезируемого им продукта. Биореактор называют *ферментером* в том случае, если основным биотехнологическим процессом, протекающим в нем, является ферментация.

Биореакторы изготавливаются в двух вариантах: биореакторы для нестерильных условий культивирования (например, ферментация при пивоварении, производство пекарских дрожжей) и биореакторы для асептических процессов (например, производство антибиотиков, аминокислот, полисахаридов, ферментов, белка одноклеточных организмов).

Современные биореакторы – многофункциональные устройства, обладающие следующими системами:

- 1) аэрирования;
- 2) эффективного перемешивания питательной среды;
- 3) пеногашения;
- 4) теплообмена;
- 5) контроля и регулировки биотехнологического процесса;
- 6) стерилизации.

Наиболее распространенной конструкцией является биореактор с механическим перемешиванием, технологическое оформление которого представлено на рисунке 7.

Для равномерного распределения пузырьков воздуха по всему объему биореактора используются мешалки. Механические мешалки с центральным валом и лопастями, число которых 6, реже 8, расположенными на нем в несколько ярусов, обеспечивают равномерное перемешивание больших объемов среды. При интенсивном перемешивании культуральной среды часто происходит ее вспенивание,



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 39 из 144](#)

[Назад](#)

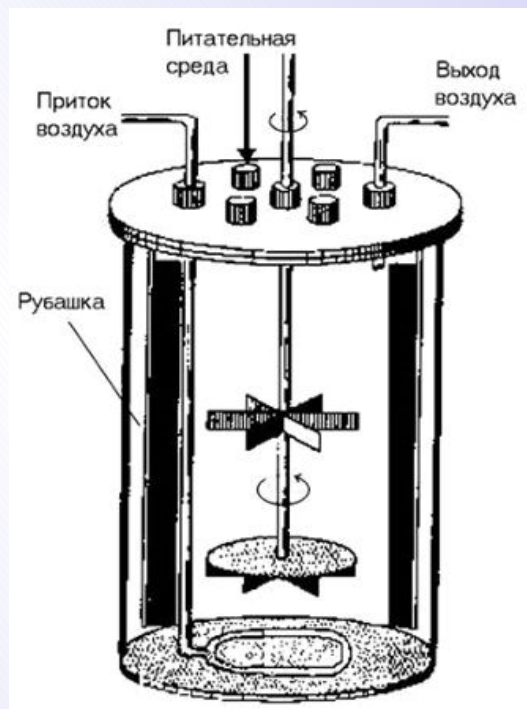
[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

поэтому используют систему пеногашения в виде механических сбивателей пены (диски, лопасти, барабаны, сепараторы), располагающиеся в верхней части реактора, либо химических реагентов.

Жизнедеятельность и метаболическая активность клеток в значительной степени зависит от температуры, поэтому система теплообмена позволяет сохранить постоянной температуру на протяжении всего времени культивирования продуцента.

Теплообмен осуществляется с помощью трубок, образующих рубашку биореактора, по которым подается горячая либо холодная вода. Контроль условий культивирования проводят по таким параметрам, как плотность популяции клеток продуцента, температура и pH среды, содержание в ней кислорода. Одним из главных требований, предъявляемых к биореакторам, является создание асептических условий культивирования. Поэтому биореакторы конструируют как герметичные емкости из нержавеющей стали, которые перед заполнением стерилизуют паром под давлением. Во время функционирования в биореактор подаются все составляющие биотехнологического процесса, также стерилизованные. Применяется термический способ стерилизации для оборудования и питательных сред, а также фильтрационный способ – для подаваемого воздуха.



**Рисунок 7** – Биореактор с механическим перемешиванием



Начало

Содержание



Страница 40 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть





В настоящее время биореакторы используют для культивирования не только микроорганизмов, но и растительных и животных клеток, в связи с чем постоянно совершенствуется их технологическое оформление. В частности, введены в эксплуатацию биореакторы с барботажной аэрацией. Разрабатываются новые способы аэрации, основанные на подаче воздуха через специальные полипропиленовые мембраны. Совершенствуются системы теплообмена и пеногашения.

*Ферментация* – процесс, в котором происходит преобразование исходного сырья в продукт с использованием биохимической деятельности микроорганизмов или культивируемых изолированных клеток многоклеточных организмов. Первоначально термин *ферментация* применялся только к процессам, протекающим в анаэробных условиях. В настоящее время специализированные ферментационные технологии проводят как в аэробных, так и анаэробных условиях.

В промышленности внедрены два основных типа ферментации: периодическая и непрерывная.

*Периодическая ферментация* представляет собой закрытую систему, когда культивирование продуцента производят в течение ограниченного времени, на протяжении которого в питательную среду не добавляют и не удаляют какие-либо компоненты, кроме газовой фазы. По мере образования достаточного количества продукта, ферментацию останавливают.

*Непрерывная (проточная) ферментация* представляет собой открытую систему, характеризующуюся постоянной подачей питательной среды в ферментер и удалением из него отработанной культуральной среды с продуктами биосинтеза и частью культуры продуцента. Этот тип ферментации является более продолжительным и сопровождается постоянным перемешиванием для равномерного распределения свежей среды. Непрерывную ферментацию используют для промышленного получения белка одноклеточных организмов, антибиотиков, органических растворителей. При этом стоимость получения продукта ниже, чем при периодической ферментации.

При разработке новых биотехнологических процессов важным этапом является масштабирование. Под *масштабированием* понимают поэтапное воспроизведение результатов, полученных на оборудовании одного размера или

Начало

Содержание



Страница 41 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

одной конструкции, при проведении того же процесса в аппаратах другого размера или конструкции. В биотехнологии масштабирование осуществляют в трех типах установок (лабораторных, пилотных (опытно-конструкторских) и промышленных), различающихся объемом ферментационного аппарата.

В **лабораторных установках** (объем до 10 л) проводят научные исследования, в которых определяется принципиальная возможность получения целевого продукта, изучение новых продуцентов, экспериментальное моделирование процесса. На данном уровне разрабатывается лабораторный регламент, в котором определяется способ получения продукта и все относящиеся к нему материалы. Важно при отработке определенных параметров ферментации в лабораторных установках ориентироваться на те промышленные ферментеры, которые будут использоваться в производстве. Такой подход позволит скорее приблизиться к успешному решению вопросов, связанных с определением скорости роста продуцента, эффективности утилизации субстрата и образования целевого продукта, с расчетом скорости газообмена и др.

На **пилотных установках** (объем до 100 л и более) отрабатываются все технологические детали процесса, создается оборудование, уточняются технико-экономические показатели, обучается персонал. Также осуществляется наработка опытных партий продукта в количестве, необходимом для проведения испытаний свойств продукта. Итогом этого этапа является разработка технических условий (ТУ) на продукт, регламентирующих его качественные и количественные характеристики, а также разработка технологической и аппаратурной схем промышленного производства, описание последовательности проведения операций.

На последнем этапе проектируется и строится **промышленная установка** по масштабируемому производству. Создается пусковой регламент, который действует до тех пор, пока в промышленных условиях не будут воспроизведены показатели, предусмотренные в опытно-конструкторской документации. После чего создается производственный регламент.

**Кривая роста популяции клеток, характеристика отдельных фаз.** При периодической ферментации рост и развитие клеток продуцента происходит в виде последовательности фаз, отражающих количественные и качественные изменения их биомассы в зависимости от факторов среды, в которой она



[Начало](#)

[Содержание](#)



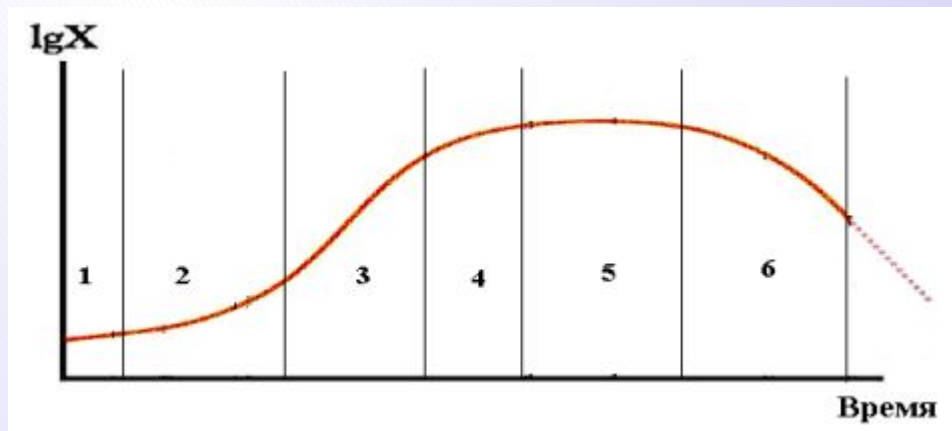
[Страница 42 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

культивируются. Графическое отражение процесса называется кривой роста. *Кривая роста* отражает зависимость логарифма числа клеток продуцента ( $\lg X$ ) от длительности культивирования и имеет S-образную форму (рисунок 8).



**Рисунок 8** – Кривая роста популяции клеток при периодическом культивировании:

- 1 – индукционная фаза; 2 – фаза линейного роста;
- 3 – фаза экспоненциального роста; 4 – фаза замедления роста;
- 5 – стационарная фаза; 6 – фаза отмирания клеток

*Индукционная (латентная) фаза* является первой и отражает процессы, связанные с приспособлением клеток продуцента к условиям культивирования, синтезом адаптивных ферментов, синтезом веществ, необходимых для роста. В этот период размножение клеток не происходит. Продолжительность фазы зависит от состава питательной среды, возрастного состава клеток засевной дозы продуцента.

В *фазу линейного роста (фазу ускорения)* клетки начинают делиться с постепенно возрастающей скоростью. В этот период происходит активный синтез первичных метаболитов (аминокислот, нуклеотидов, полисахаридов и др.), необходимых для роста популяции продуцента.

*Фаза экспоненциального роста* характеризуется неоднократным удвоением численности клеток, происходящим через одинаковые промежутки времени, при



Начало

Содержание



Страница 43 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

этом удельная скорость роста остается постоянной. Клетки обладают высокой биохимической активностью.

*Фаза замедления роста* начинается вследствие увеличения плотности популяции продуцента. По мере роста биомассы продуцента в среде постепенно уменьшается количество питательных веществ, накапливаются продукты обмена, затрудняется транспорт кислорода. Это приводит к замедлению скорости деления клеток и увеличению времени генерации.

*Стационарная фаза* наступает тогда, когда число жизнеспособных клеток достигает максимума и перестает возрастать, поскольку скорость размножения клеток становится равной скорости отмирания. В этот период происходит синтез вторичных метаболитов. *В фазу отмирания* биомасса клеток продуцента уменьшается по причине истощения питательной среды и накопления в ней токсичных продуктов метаболизма.

Одним из основных параметров роста популяции клеток микроорганизма-продуцента является выход продукта ( $Y$ ) или **экономический коэффициент**, показывающий соотношение между приростом массы клеток и потребляемым субстратом при культивировании (1):

$$Y = X - X_0 / (S_0 - S), \quad (1)$$

где  $S_0$  и  $S$  – начальная и конечная концентрация субстрата.

Экономический коэффициент имеет четкий физический смысл, характеризующий степень перехода энергии, заключенной в субстрате, в целевой продукт. Затраты энергии субстрата, которые не проявляются в приросте продукта, считаются непродуктивными и должны быть устранены после выявления причин. Первичная оценка биотехнологического процесса по перечисленным параметрам проводится на стадии лабораторных установок и далее уточняется при масштабировании на пилотных и промышленных стадиях. В целом при разработке и оптимизации биотехнологических производств ориентируются на разработку простых и технически надежных процессов, на использование дешевых энергоносителей и сырья, на повышение выхода продукта, на разработку недорогих методов переработки отходов и очистки стоков.



Начало

Содержание



Страница 44 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**Культивирование клеток высших растений.** Идея о возможности культивирования изолированных клеток растений *в условиях in vitro* была выдвинута Г. Хаберландом в 1902 г., а первые успешные методы культивирования изолированных органов, тканей и клеток были разработаны лишь в 1934 г. Ф. Уайтом и Р. Готре. Сущность метода культивирования изолированных тканей и клеток заключается в выделении *экспланта* (фрагмента ткани или органа) из интактного растения и переносе с соблюдением правил асептики на питательную среду, содержащую минеральные соли, сахара, витамины и фитогормоны. Источниками экспланта могут быть вегетативные и генеративные органы растения. Клетки и ткани экспланта при культивировании на питательной среде в условиях *in vitro* через некоторое время претерпевают процесс дедифференцировки с последующим формированием первичного **каллуса** (каллусной ткани).

*Дедифференцировка* – это потеря клеточных структур, выполняющих специфические функции, и возвращение дифференцированных клеток в меристематическое состояние, в котором они сохраняют способность к делению. У интактных растений дедифференцировка и образование каллусной ткани происходит при поранении растения вследствие образования раневых гормонов. Индукторами дедифференцировки и процессов деления клетки в условиях *in vitro* служат добавленные в питательную среду гормоны – ауксины и цитокинины. Переход клетки в условиях *in vitro* к дедифференцированному состоянию и активным клеточным делениям обусловлен изменением активности генов (эпигенной изменчивостью).

*Каллус (каллусная ткань)* – это ткань, возникшая путем неорганизованной пролиферации (размножения) клеток растений, утративших специализацию. Сам процесс образования каллуса называется *каллусогенезом*. Каллусная ткань – основной тип ткани, получаемой при культивировании в условиях *in vitro* изолированных клеток и тканей растений. Каллусная клетка имеет свой цикл развития и повторяет развитие любой клетки (деление, растяжение, дифференцировка, старение, отмирание). Для того чтобы не происходило старение и отмирание каллусных клеток, через каждые 4–6 недель на свежую питательную среду переносят первичный каллус, возникший на эксплантах – фрагментах ткани или органа, которые были выделены и помещены на питательную среду. Эту



Начало

Содержание



Страница 45 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

операцию называют *пассированием*. При регулярном пассировании способность к делению может поддерживаться в течение десятков лет.

Каллусные клетки имеют много общего с нормальными клетками растений, составляющими структуру растительного организма.

1. Рост каллусных клеток подчиняется общим закономерностям и описывается ростовой кривой Сакса. Ростовая кривая каллусных клеток имеет S-образную форму и включает пять фаз, подобно кривой роста популяции микробных клеток, приведенной на рисунке 8.

2. Каллусные клетки сохраняют многие физиолого-биохимические черты, свойственные нормальным клеткам, например способность к синтезу вторичных метаболитов, морозостойкость, устойчивость к высоким температурам, засолению и др.

3. Каллусным клеткам свойственна также фотопериодическая реакция, что связано с сохранением активности фитохрома.

Вместе с тем каллусные клетки обладают свойствами, отличающими их от нормальных клеток:

1) физиологическая асинхронность, т. е. рост каллусных клеток происходит асинхронно, неорганизованно и является неограниченным, в связи с этим в каллусной ткани присутствуют различные по возрасту клетки;

2) генетическая гетерогенность, т. е. генетическая нестабильность клеток каллусной ткани, выражающаяся в различной ploидности, в появлении хромосомных aberrаций, генных мутаций;

3) более длительный клеточный цикл, чем у клеток растения, произрастающего в открытом грунте;

4) митохондрии в каллусной клетке так же, как и в меристематической, являются слабо развитыми, в них мало крист, что проявляется в снижении аэробного дыхания и усилении процессов брожения;

5) наряду с изменением характера дыхания в каллусных клетках происходит сдвиг в сторону пентозофосфатного пути, который является источником пентоз, необходимых для делящихся клеток.

Кроме культуры каллусных тканей выделяют суспензионную культуру и культуру протопластов. *Суспензионная культура* представляет собой отдельные



Начало

Содержание



Страница 46 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

клетки или небольшие группы клеток, выращиваемые во взвешенном состоянии в жидкой питательной среде. *Культура протопластов* – растительные клетки, лишенные клеточных оболочек, при регенерации которых, переходят в культуру клеток.

Используют два типа культивирования. *Поверхностное культивирование* происходит на агаризированной (твердой) питательной среде. При *глубинном культивировании* клетки либо протопласты распределяются по всему объему жидкой питательной среды.

Ход нормального развития клеток растений полностью меняется *в условиях in vitro*. Остановка реализации исходной генетической программы клеток и тканей при культивировании в условиях *in vitro* приводит к дедифференцировке и пролиферации их в новом направлении. Признаки, характеризующие прохождение культивируемыми клетками отдельных этапов морфогенеза, еще недостаточно изучены, что не позволяет в настоящее время использовать культуру клеток и тканей в полной мере.

Морфогенез считается одним из самых сложных биологических явлений, обусловленных тотипотентностью растительной клетки.

*Тотипотентность* – отличительное свойство растительной клетки, на основании которого любая клетка, содержащая полный набор генов и обладающая одинаковыми потенциальными возможностями, подобно зиготе, может дать начало фертильному растению. Однако свойство тотипотентности не всегда реализуется, так как потенциальные возможности клеток разных типов проявляются неодинаково. В некоторых из них гены в сильной степени репрессированы, в связи с чем проявление тотипотентности становится ограниченным.

Различные типы культур клеток, тканей и органов растений используются для решения ряда практических задач, связанных с созданием генетического разнообразия исходного материала (клеточная селекция, гибридизация соматических клеток) и ускорением селекционного процесса (преодоление прогамной и постгамной несовместимости растений при отдаленной гибридизации, сохранение в растущем состоянии ценного коллекционного материала растений при пониженных температурах, микроклональное размножение и оздоровление и др.).



Начало

Содержание



Страница 47 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**Культивирование клеток и тканей животных.** Основоположником техники культивирования клеток животных считают Р. Гаррисона, который в 1907 г. показал возможность культивирования животных клеток вне организма в условиях, необходимых для их жизнедеятельности.

Для культивирования могут использоваться клетки различных органов и тканей животных, а также различные типы опухолевых клеток. Клетки животных и человека выращивают на специальных питательных средах, основными компонентами которых являются минеральные соли, аминокислоты, сахара, витамины. Культивирование производят обычно в виде культуры клеточных суспензий либо в виде монослоя культуры одиночных клеток, прикрепленных к субстрату. Различают три основных типа культур животных клеток. *Первичные культуры* – культуры, полученные при изолировании из организма и существующие на питательной среде до их первого пассирования. Характеризуются слабой пролиферацией. Обычно неоднородны, так как представлены несколькими типами клеток той ткани, из которой были выделены. *Ограниченные (диплоидные) культуры* – культуры, поддерживаемые в течение определенного количества пассажей, а затем трансформирующиеся в постоянную культуру. Представляют однородную популяцию клеток, сохраняющих диплоидный набор хромосом во время деления. *Постоянные культуры* – культуры, содержащиеся в условиях *in vitro* длительное время благодаря обновлению питательной среды. С течением времени теряют требовательность к качеству субстрата, накапливают спонтанные изменения генетического материала.

Практическое применение культуры клеток животных и человека началось в 1949 г., когда была впервые продемонстрирована возможность выращивания вирусов в культивируемых клетках. В настоящее время применение метода клеточных культур позволяет наращивать вирусы в необходимых количествах для получения вакцин.

В 1960 г. Ж. Барским было обнаружено, что культивируемые соматические клетки мышей в условиях культуры могут сливаться друг с другом, образуя гибридные жизнеспособные клетки. Позднее было установлено, что гибриды соматических клеток животных возникают довольно редко, однако присутствие определенных факторов может способствовать увеличению частоты слияния клеток,



Начало

Содержание



Страница 48 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



в том числе и межвидовых гибридных клеток. В 1975 г. впервые Г. Келером и К. Мильштейном был разработан способ гибридизации лимфоцитов мышей, предварительно иммунизированных антигеном, и культивируемых опухолевых клеток костного мозга, с образованием гибридомы. **Гибридомы** соединили в себе способность лимфоцита секретировать антитела одного типа (так называемые моноклональные антитела) и способность опухолевых клеток к неограниченному размножению на питательных средах. Метод получения **моноклональных антител** оказался перспективным и до сих пор является одним из востребованных в биотехнологическом производстве.

Разработка методов клеточной инженерии по манипуляции с половыми клетками и эмбрионами позволила перевести воспроизведение животных с желаемым генотипом на новый уровень и решить проблему лимитирующего фактора, снижающего эффективность производства продуктов животного происхождения на промышленной основе. Применение метода длительного хранения половых клеток в замороженном состоянии позволило решить проблему рационального использования производителей. Метод трансплантации эмбрионов позволяет ускорить разведение животных с желаемыми наследственными признаками. Разработанные методы длительного хранения и транспортировки эмбрионов еще больше повышают потенциальные возможности этого метода.

Установленная в 1997 г. группой шотландских ученых под руководством Я. Уилмута возможность воспроизведения млекопитающих, на примере овцы Долли, путем развития из реконструированных яйцеклеток, ядро которых заменено на ядро соматической клетки, позволила разработать методологию **клонирования** различных видов животных. Клонирование может помочь сохранить уникальные генотипы ценных пород животных, предотвратить проблему близкородственных скрещиваний редких животных, находящихся в зоопарках.

Методы клеточной инженерии используются в настоящее время в пчеловодстве, шелководстве, рыбоводстве. Такие методы, как стимуляция созревания гамет, искусственное осеменение, позволяют более целенаправленно и эффективно вести селекцию.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 49 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

### Раздел 3. Типы загрязнений окружающей среды

**Общее понятие о загрязнении окружающей среды.** Под *загрязнением окружающей среды* понимают привнесение новых, не характерных для нее физических, химических и биологических агентов (загрязнителей) либо превышение в ней естественного многолетнего уровня этих агентов.

*Загрязнители окружающей среды* – это несвойственные (новые) для среды физические, химические и биологические агенты либо характерные для нее агенты, но находящиеся в объемах, превышающих естественно сложившийся многолетний (фоновый) уровень их присутствия.

По происхождению рассматривают два типа загрязнения:

- *естественное загрязнение*, возникающее в результате действий природных явлений без участия людей;
- *антропогенное загрязнение*, связанное с человеческой деятельностью, главной составной частью которого является техногенное загрязнение, обусловленное деятельностью промышленных производств.

В зависимости от природы загрязнителя различают четыре типа загрязнений окружающей среды:

- 1) механическое – засорение веществами, не оказывающими физико-химического воздействия;
- 2) химическое – изменение химических свойств среды, влияющее на экосистемы;
- 3) физическое – трансформация физических параметров среды (повышение температуры вследствие выбросов нагретых газов и паров; нарушение естественной освещенности; увеличение интенсивности шума сверх природного уровня; изменение электромагнитных свойств среды; повышение уровня содержания радиоактивных веществ);
- 4) биологическое – подавление развития и гибель отдельных видов, нарушение функционирования естественных биоценозов; распространение в экосистемах чуждых для них видов микроорганизмов, размножаемых в больших количествах в промышленных условиях; приобретение микроорганизмами патогенных свойств.

По пространственному признаку различают *глобальное* (обнаруживаемое в любой точке планеты как угодно далеко от его источника), *региональное*



Начало

Содержание



Страница 50 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

(обнаруживаемое в пределах значительных территорий, но не охватывающее всей планеты) и *локальное* (наблюдаемое на небольшой территории, ограниченной пределами населенного пункта, предприятия и т. п.) загрязнения. По видам компонентов окружающей среды рассматривают, во-первых, загрязнения атмосферы, гидросферы или литосферы (на глобальном уровне) и загрязнения атмосферного воздуха, поверхностных и подземных водоемов и почвы (на локальном уровне).

**Понятие о предельно допустимой концентрации (ПДК) отдельных веществ.** Решение задач обеспечения безопасности населения и объектов окружающей среды базируется на *концепции ПДК (предельно допустимых концентраций)* загрязнителей (поллютантов), согласно которой под ПДК вещества понимается такая его концентрация в атмосфере, воде, почве, продуктах питания, не оказывающая вредного воздействия на живых организмов, включая человека. Параметры ПДК являются необходимым инструментом регламентирования содержания вредных веществ в объектах производственной и окружающей среды, а также нормирования антропогенной нагрузки на окружающую среду. С другой стороны, концентрации ПДК загрязнителей играют важную роль в оценке качества среды. Экспериментальное обоснование ПДК является сложной, трудоемкой и дорогостоящей процедурой. Разработаны санитарно-гигиенические критерии качества воды, атмосферного воздуха и почвы.

Основным принципом для установления ПДК является принцип пороговости вредного действия химического вещества.

*Порог действия вредного вещества* – это такая минимальная концентрация его в объекте внешней среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология.

Установленные ПДК отдельных веществ позволяют:

- 1) определить количество предельно допустимых выбросов (ПДВ) конкретных веществ на производствах;
- 2) провести медико-профилактическую оценку влияния загрязнения атмосферного воздуха, воды на состояние здоровья населения;



Начало

Содержание



Страница 51 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

3) использовать их в качестве эталона для оценки превышения фактического загрязнения установленного норматива при проведении мониторинга качества окружающей среды;

4) планировать и реализовывать мероприятия по охране окружающей среды и проводить экспертизу оценки их эффективности.

Существующая система нормирования диапазонов эффективных концентраций **полютантов** на основе установления их ПДК не лишена недостатков. В частности, отсутствует учет эффективного комбинирования вредных веществ (синергизма, антагонизма, суммации). Недоучитываются токсические эффекты трансформации загрязняющих веществ в водных экосистемах приводящие к тому, что промежуточные продукты превращений оказываются более токсичными, чем исходные загрязняющие вещества. В связи с выше обозначенными и рядом других недостатков ведется разработка подходов экологического нормирования антропогенной нагрузки загрязняющими веществами.

**Нефть и отходы ее переработки как один из основных факторов загрязнения окружающей среды.** *Нефть* – сложная смесь парафиновых, нафтеновых и реже ароматических углеводородов – является одним из наиболее опасных **поллютантов**. Объемы добычи нефти ежегодно увеличиваются. При добыче, транспортировке и переработке углеводородов нефти в нефтепродукты (бензин, керосин, мазут, парафин, битум, бензол, толуол и др.) возникают аварийные ситуации и технологические потери, в результате чего загрязняется окружающая природная среда, и в первую очередь, объекты гидро- и литосферы. Следует отметить, что разливы нефти и нефтепродуктов более опасны на воде, чем на почве.

В почве присутствуют микроорганизмы, способные окислять углеводороды нефти, благодаря чему постепенно происходит деструкция нефтяных загрязнений. Процесс этот длительный, самоочищение почвы осуществляется на протяжении 5–6 и более лет [8, с. 249]. При сильном загрязнении или в нарушении аэрации почвы, либо в тех случаях, когда нефть проникает в почву на большую глубину, возникает потребность в удалении нефтяных загрязнений. В настоящее время разработаны различные методы ликвидации нефтяных загрязнений почвы и поверхностных загрязнений воды, в том числе и биологические (см. раздел 8).



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 52 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

**Основные региональные экологические проблемы Республики Беларусь.** Экологическая ситуация на территории нашей страны относительно благополучная, однако действуют факторы, вызывающие проблемные ситуации, связанные с загрязнением окружающей среды и деградацией природно-ресурсного потенциала. Они обусловлены, во-первых, функционированием национальной экономики и, в первую очередь, производственного комплекса, во-вторых, трансграничным переносом загрязняющих веществ, в-третьих, наличием на территории страны унаследованных проблем, не решенных в прошлом.

По данным Национальной системы мониторинга окружающей среды Республики Беларусь, проблема радиоактивного загрязнения территории является наиболее масштабной по занимаемой площади.

В структуре выбросов, загрязняющих атмосферный воздух, основную роль играют такие вещества, как оксид углерода, углеводороды и оксиды азота.

В структуре загрязняющих воду веществ выделяют железо, марганец и медь. По данным мониторинга поверхностных вод Департамента по гидрометеорологии, в водах регистрируется повышенное содержание цинка, нитритного азота, аммонийного азота, нефтепродуктов.

Деградация почв происходит в результате их прямого разрушения, главным образом при ведении различных строительных работ и добыче полезных ископаемых, а также вследствие развития эрозионных процессов преимущественно на пахотных угодьях. Для торфяных почв в случае их использования под пашню характерна ускоренная минерализация органического вещества. Наряду с развитием эрозионных процессов в Беларуси проявляются и такие негативные изменения почв, как снижение их плодородия из-за недостаточного внесения удобрений. Подобные изменения отмечаются примерно в половине районов страны. Химическое загрязнение почв имеет место преимущественно в городах и зонах их влияния, в придорожных полосах транспортных магистралей, в зонах влияния полигонов складирования отходов, в местах нефтедобычи и на сельскохозяйственных землях. В городах основными загрязнителями почв выступают нефтепродукты и тяжелые металлы и, в меньшей степени, – сульфаты. Среди тяжелых металлов ведущая роль принадлежит кадмию, свинцу и цинку.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 53 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

Одной из проблем является проблема отходов: из общего объема отходов 96,4 % приходится на отходы калийного производства, а 2,1 % составляют отходы фосфогипса Гомельского химического завода, оставшийся процент составляют коммунальные отходы.

**Экологические проблемы Брестской области.** На территории Брестской области преобладает равнинный рельеф с породами легкого механического состава – песчаными и супесчаными, а также торфяными, что создает предпосылки для развития дефляционных процессов. Область выделяется максимально высокой долей осушенных земель, составляющей 21,8 % (почти четверть территории), что в 1,3 выше средней величины (16,4 %) по стране. В структуре пахотных угодий 11 % составляют торфяные почвы, что является наивысшим для Беларуси показателем. Более 3/4 из них относятся к маломощным торфяным почвам. Соответственно, проблема минерализации торфяных почв проявляется в Брестской области с наибольшей остротой.

Неглубокое залегание грунтовых вод обуславливает их низкую устойчивость к загрязнению. Для подземных вод Брестской области характерно самое высокое в стране содержание железа.

Основной вклад в ухудшение качества вод, протекающих по территории области рек, вносят тяжелые металлы – цинк, медь, марганец и железо общее, повышенное содержание которых обусловлено, как правило, природными факторами, а также аммонийный и нитратный азот и соединения фосфора.

Зона радиоактивного загрязнения в Брестской области занимает около 11 % территории.

Брестская область играет исключительно важную роль в сохранении биологического разнообразия. Особо охраняемые природные территории занимают 14,5 % ее общей площади, что почти в 2 раза выше среднего для Беларуси значения.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 54 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

## Раздел 4. Биоиндикация

**Применение биологических методов для оценки качества окружающей среды. Экологические основы биоиндикации.** Традиционные методы экологического мониторинга, как правило, сводятся к химическому контролю концентрации загрязняющих веществ и констатации факта ее соответствия или несоответствия требованиям, установленным нормативными документами. Зачастую они не позволяют провести комплексную оценку фактического влияния производственной деятельности на окружающую среду, а ориентация на санитарно-гигиенические показатели (ПДК) – объективно оценить состояние экосистем.

Методы биоиндикации более информативны в части определения прямой реакции экосистемы на антропогенное воздействие, а экологический мониторинг с применением данных подходов позволяет получать более объективные результаты и проводить количественную оценку процессов восстановления объектов окружающей среды, оценивать уровень эффективности природоохранных мероприятий.

В литературе встречается множество определений понятия биоиндикация. Главные различия заключаются в том, какой компонент природной среды является объектом мониторинга. В целом же *биоиндикация* – это оценка качества природной среды по состоянию населяющих ее живых организмов. Живые организмы или сообщества организмов, жизненные функции и наблюдаемые изменения которых тесно коррелируют с определенными факторами среды и которые могут применяться для их оценки, называются *биоиндикаторами*.

При биоиндикации может учитываться разный уровень реакции ответа биосистем на антропогенные воздействия:

- биохимические и физиологические реакции на вредные факторы (молекулярный, клеточный, организменный уровни);
- морфометрические, биометрические отклонения (клеточный, организменный уровень);
- фаунистические и хорологические (размещение ареалов обитания) изменения (организменный и популяционный уровни);
- изменение биоценозов.

Повышение уровня организации живой материи при биоиндикации может



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 55 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

приводить к усложнению, неоднозначности биологического отклика на воздействие антропогенных факторов, поскольку они могут сочетаться с природными факторами.

Поэтому в качестве объектов выбираются организмы, наиболее чувствительные к исследуемым техногенным воздействиям.

**Биоиндикаторы и их чувствительность.** В зависимости от времени развития биоиндикационных реакций выделяются различные типы чувствительности организмов:

I тип – биоиндикатор проявляет быструю реакцию, продолжающуюся некоторое время, после чего перестает реагировать на загрязнение;

II тип – биоиндикатор в течение длительного времени линейно реагирует на воздействие возрастающей концентрации загрязнения;

III тип – после быстрой сильной реакции наблюдается ее затухание: сначала резкое, затем постепенное;

IV тип – под влиянием загрязнения реакция биоиндикатора постепенно становится все более интенсивной, но при достижении максимума постепенно затухает;

V тип – реакция и типы неоднократно повторяются, возникает осцилляция биоиндикаторных параметров.

Различают биоиндикацию: пассивную и активную, неспецифическую и специфическую, прямую и косвенную.

При пассивной биоиндикации у свободно живущих организмов исследуются видимые (заметные) изменения или отклонения от нормы, являющиеся признаками стрессового воздействия. При активной анализируют те же самые воздействия на тест-организмы, находящиеся в стандартных условиях на исследуемой территории.

Неспецифический биоиндикатор реагирует одинаково на различные антропогенные факторы; при специфической биоиндикации те или иные изменения можно связать только с одним фактором.

При прямой биоиндикации фактор среды действует непосредственно на биологический элемент; при косвенной – наблюдаемые изменения у биоиндикатора происходят под влиянием других непосредственно затронутых элементов.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 56 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)



Чувствительные биоиндикаторы реагируют значительным отклонением текущего состояния от нормы. У аккумулятивных биоиндикаторов результаты воздействий проявляются постепенно, без быстро проявляющихся нарушений. Пример последних – накопление тяжелых металлов растениями-аккумуляторами, двустворчатыми моллюсками и т. п.

### **Биоиндикация в экологическом мониторинге. Объекты биоиндикации.**

Применение методов биоиндикации позволяет определить совокупное воздействие стрессовых факторов на качество среды. Включение методов биоиндикации в программы производственного экологического мониторинга позволит облегчить интерпретацию получаемых данных, повысить точность оценки состояния окружающей среды и достоверность прогноза развития экологической ситуации.

Установившаяся зарубежная практика показывает, что проведение мониторинга на основе методов биоиндикации может быть относительно недорогим мероприятием по сравнению с химическим контролем. В настоящее время в странах СНГ применение методов биоиндикации как основного инструмента производственного экологического мониторинга не востребовано в связи тем, что сравнительной базой контроля состояния окружающей среды являются концентрации загрязняющих веществ. В США и странах ЕС биоиндикация как метод контроля качества среды имеет более значимый характер. Особенно ярко это выражено при мониторинге состояния поверхностных вод, где осуществлен переход от химического контроля к биологическому, основанному на системе биоиндикации. Основной причиной перехода является тот факт, что сообщества водных организмов отражают совокупное воздействие факторов среды на качество поверхностных вод.

Биоиндикация является составной частью биомониторинга, выполняя функции экспресс-метода оценки качества окружающей среды, хотя и мало специфичного, но весьма эффективного в регистрации возникшего экологического напряжения. Существует несколько подходов к индикации экологических условий. Основаны они на использовании либо абсолютных стандартов сравнения (например, системы не подверженные воздействию антропоических факторов, находящиеся в фоновом состоянии), либо относительных стандартов (корреляции с пространственно-временными изменениями антропоических факторов среды). Для реализации этих задач используются разнообразные средства, объекты и материалы, применение



[Начало](#)

[Содержание](#)

[◀](#) [▶](#)

[◀◀](#) [▶▶](#)

Страница 57 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

которых зависит от типа анализируемой среды, экосистемы, а также возможностей исследователей.

Разработаны методики по биоиндикации атмосферного воздуха, преимущественно основанные на наблюдении реакций растений (например, хвойных), лишенофлоры (лишайники) и бриофлоры (мхи). При биоиндикации водных экосистем чаще всего рассматриваются состав и численность донной (бентосной) беспозвоночной фауны, зоопланктона, рыбной фауны. Для контроля загрязнения почвы используются почвенная микро- и мезофауна, растительность, а также микроорганизмы.

При выборе биотических индикаторов в качестве критериев используют знания о биологии, биогеографии и экологии организмов, их чувствительность, редкость вида, методические особенности работы с организмами и др.

В идеале следует прибегать к «спектрам» биоиндикаторов, которые включают представителей разных трофических уровней и типов питания, различные жизненные формы и стадии развития.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 58 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Раздел 5. Биотестирование

**Биотестирование как метод оценки токсичности химических веществ и природных сред.** *Биотестирование* – процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих нарушением жизненно важных функций об изменениях в среде. По сути биотестирование является активной биоиндикацией.

Биотестирование предполагает использование в контролируемых (лабораторных) условиях биологических тест-объектов для выявления и оценки действия факторов окружающей среды (в том числе и токсических) на организм, его отдельную функцию или систему организмов.

*Тест-объекты* – организмы, используемые при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др.

Тест-объекты должны удовлетворять ряду требований:

- накопление загрязняющих веществ не должно приводить к гибели тест-организмов;
- численность тест-организмов должна быть достаточной для отбора, т. е. без влияния на их воспроизводство (редкие и исчезающие виды даже при их высокой чувствительности не могут служить тест-объектами);
- биотесты должны быть генетически однородны;
- должна быть обеспечена легкость взятия проб;
- должна реализоваться относительная быстрота проведения тестирования;
- биотесты должны обеспечивать получение достаточно точных и воспроизводимых результатов;
- тест-организмы должны быть одновозрастными и характеризоваться, по возможности, близкими свойствами;
- диапазон погрешностей измерений (по сравнению с классическими или эталонными методами тестирования) не должен превышать 20–30 %;
- при выборе тест-организмов предпочтение следует отдавать регистрации индикаторных процессов: функциональных, этологических, цитогенетических изменений биоты, а не только изменению ее структуры, численности или биомассы.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 59 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

Наиболее распространенными биологическими тест-объектами являются: микроорганизмы (энтеробактерии, сальмонеллы, псевдомонады, дрожжи и др.); водоросли; простейшие и низшие животные (планктонные рачки); клеточные культуры и ранние зародыши экспериментальных животных при культивировании *in vitro*; растения; насекомые и другие группы беспозвоночных, включая кольчатых червей; позвоночные животные (рыбы и др.).

**Зависимость «доза – эффект» как основа оценки результатов биотестирования.** В рамках биотестирования фиксируются эффекты любых факторов, включая токсические, как природного, так и антропогенного происхождения. В результате биотестирования дается диагностическая оценка состояния биологической системы, подверженной воздействию изучаемого фактора. Близкие задачи решает экологическая токсикология, которая на основе оценки эффектов токсических факторов на биосистемы разрабатывает оценки риска антропогенного влияния. Близость изучаемых объектов предопределяет близость методических подходов этих наук в исследовании токсического действия веществ жизненно необходимых (эндогенных), но поступающих в организмы в избыточном количестве, или полностью чужеродных (ксенобиотики, поллютанты).

В настоящее время разработаны различные виды методов оценки токсичности химических веществ, включающие острые, подострые и хронические исследования. Основное различие между ними состоит в применяемых дозах и продолжительности воздействия химического вещества.

*Острой* называется интоксикация, развивающаяся в результате однократного или повторного действия веществ в течение ограниченного периода времени (как правило, до нескольких суток).

*Подострой* называется интоксикация, развивающаяся в результате непрерывного или прерываемого во времени (интермитирующего) действия токсиканта, продолжительностью до 90 суток.

*Хронической* называется интоксикация, развивающаяся в результате продолжительного (иногда годы) действия токсиканта.

Спектр проявлений токсического процесса определяется строением токсиканта. Однако выраженность развивающегося эффекта является функцией количества действующего агента. Для обозначения количества вещества, действующего на биологический объект, используют понятие «доза».



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 60 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

Зависимость «доза – эффект» может быть прослежена на всех уровнях организации живой материи: от молекулярного до популяционного. При этом в подавляющем большинстве случаев будет регистрироваться общая закономерность: с увеличением дозы увеличивается степень повреждения системы; в процесс вовлекается все большее число составляющих ее элементов. В зависимости от действующей дозы практически всякое вещество в определенных условиях может оказаться вредным для организма. На проявление зависимости «доза – эффект» оказывает существенное влияние внутри- и межвидовая изменчивость организмов. Действительно, особи, относящиеся к одному и тому же виду, существенно отличаются друг от друга по биохимическим, физиологическим, морфологическим характеристикам. Эти отличия в большинстве случаев обусловлены их генетическими особенностями. Еще более выражены, в силу тех же генетических особенностей, межвидовые различия. В этой связи дозы конкретного вещества, в которых оно вызывает повреждение организмов одного и того же и, тем более, разных видов, порой очень существенно различаются. Следовательно, зависимость «доза – эффект» отражает свойства не только токсиканта, но и организма, на который он действует. На практике это означает, что количественную оценку токсичности, основанную на изучении зависимости «доза – эффект», следует проводить в эксперименте на различных биологических объектах и обязательно прибегать к статистическим методам обработки получаемых данных.

Наиболее часто используемые тесты на острую токсичность включают определение средней летальной (смертельной) дозы (ЛД<sub>50</sub>) соединения. ЛД<sub>50</sub> определена как «статистически полученное выражение разовой дозы вещества, которая вызывает гибель 50 % животных».

В качестве критериев опасности применяются величины среднесмертельных доз (ЛД<sub>50</sub>) и концентраций (ЛК<sub>50</sub>), определяемых на лабораторных животных при трех основных путях поступления (введение в желудок, аппликация на кожу, ингаляция) в условиях однократного воздействия.

Таким образом, экспериментально установив и рассчитав значение среднесмертельных уровней химического вещества, можно отнести изученное вещество к соответствующему классу опасности, что имеет важное практическое значение.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 61 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

К сожалению, в различных странах действуют свои системы классификации химических веществ по классу токсичности и опасности. Эксперты многих стран мира и международных организаций признали проблему унификации существующих классификаций токсичности и опасности химических соединений приоритетной на международном уровне.

**Оценка качества вод методом биотестирования.** Цель биотестирования – выявление на гидробионтах степени и характера токсичности воды (водных вытяжек), загрязненной биологически опасными веществами, и оценка возможной опасности этой воды для водных и других организмов.

Основной принцип практического лабораторного биотестирования природных и сточных вод, реализуемый в развитых странах, – применение одновременно 3–4 методов с тест-организмами, представляющими разные трофические группы: бактерии, осуществляющие процессы самоочищения; водоросли и высшие растения – первичные продуценты, дающие начало большинству пищевых цепей в водоеме; дафнии, один из основных фильтраторов и седиментаторов в пресных водоемах.

Общие требования к тест-объектам – относительная быстрота проведения биотеста и получение достаточно точных и воспроизводимых результатов. При биотестировании в лабораторных условиях тест-объекты должны легко культивироваться, быть генетически однородными по отношению к изучаемому фактору воздействия, иметь невысокую способность к адаптации к неблагоприятным факторам, при этом необходимо использовать стандартизированные лабораторные методики, питательные среды, учитывать возраст и жизненный цикл развития тест-объектов.

В соответствии с требованиями нормативных документов, биотестирование проводится на базе аттестованных лабораторий, обладающих необходимым набором проверенных приборов, реактивов и квалифицированным персоналом.

В процедуре биологического тестирования различают:

- 1) *острые биотесты*, выполняемые на различных тест-объектах по показателям выживаемости, продолжительностью от нескольких минут до 24–96 ч;
- 2) *краткосрочные хронические тесты* длительностью 7 суток, которые заканчиваются, как правило, после получения первого поколения тест-объектов;



Начало

Содержание



Страница 62 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

3) *хронические тесты*, в которых измеряются характеристики тест-объектов, охватывающие несколько поколений. Хроническая токсичность среды проявляется через некоторое время в виде нарушений жизненных функций организмов, плодовитости, продуктивности, хода развития и возникновения патологических состояний (токсикозов), уродств (мутаций) в потомстве, сокращения продолжительности жизни.

Процедура биотестирования состоит из следующих этапов:

- отбор, транспортировка, хранение анализируемого материала (осадков сточных вод, почв, отходов и т. д.);
- приготовление водной вытяжки и/или серии разбавлений анализируемого материала;
- постановка эксперимента;
- обработка результатов эксперимента;
- контроль погрешности методики токсикологического анализа.

Постановка эксперимента является основным этапом биологического тестирования. Широко распространенными в тестировании качества воды являются биотестирование с использованием ракообразных и водорослей, биотестирование по хемотаксической реакции инфузорий, ферментативной активности бактерий и метод клеточного микроэлектрофореза.

Анализ изменения выбранной тест-функции у тестируемого объекта позволяет сделать вывод о токсичности среды.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 63 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Раздел 6. Биологическая очистка сточных вод

### 6.1 Аэробная очистка сточных вод

**Основные показатели загрязненности сточных вод. Цель и нормативы очистки сточных вод.** *Сточные воды* – воды, отводимые после использования в бытовой и производственной деятельности человека.

По источнику загрязнения выделяют два вида сточных вод:

- 1) *бытовые (хозяйственно-фекальные) сточные воды*, которые образуются в жилых помещениях и общественных зданиях и отличаются относительным постоянством состава;
- 2) *производственные сточные воды*, которые характеризуются неравномерностью притока и непостоянством состава, поскольку их объем и состав зависят от профиля производственных процессов.

По химическому составу сточная вода представляет собой раствор органических и неорганических (минеральных) веществ, набор и концентрация которых обусловлены ее происхождением.

Санитарно-химический анализ сточной воды предполагает определение более двадцати показателей. Основными показателями загрязненности сточных вод важными для организации биологической очистки являются биохимическая потребность в кислороде (БПК), химическая потребность в кислороде (ХПК) и взвешенные вещества.

**БПК** – количество растворенного в сточной воде кислорода (в мг/л), которое потребляется введенными в нее микроорганизмами за определенный промежуток времени.

Определяют показатели БПК<sub>5</sub> (за 5 суток), БПК<sub>20</sub> (за 20 суток) и БПК<sub>полн</sub> (количество O<sub>2</sub>, потребленное микроорганизмами, при полном окислении органических загрязнителей, как правило за 25 суток).

**ХПК** – количество кислорода (в мг/л), которое необходимо для полного окисления химическим путем всех содержащихся в сточной воде органических загрязнений до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.



Начало

Содержание



Страница 64 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



Численные значения показателей загрязненности сточной воды возрастают в следующем порядке:  $БПК_5 < БПК_{20} < БПК_{полн} < ХПК$ . Применение биологической очистки сточной воды будет тем эффективнее, чем меньше разница между значениями  $БПК_5$  и  $ХПК$ .

Отношение  $БПК_{полн}/ХПК$  характеризует способность загрязнений сточных вод к биохимическому окислению и составляет 0,86 для бытовых сточных вод [8, с. 8].

*Взвешенные вещества* – нерастворенные вещества сточных вод, представляющие собой механические взвеси. По ним определяют количество образующегося осадка.

Под очисткой сточных вод понимают обработку сточных вод с целью разрушения и/или удаления из них загрязняющих веществ.

Целевыми параметрами очистки сточных вод являются:

- 1) снижение показателей  $БПК$  и  $ХПК$ ;
- 2) снижение содержания взвешенных веществ;
- 3) удаление различных вредных веществ;
- 4) улучшение органолептических свойств;
- 5) обеспечение эпидемиологической безопасности.

В Республике Беларусь Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды совместно с Министерством здравоохранения ежегодно издается «Государственный водный кадастр. Водные ресурсы, их использование и качество вод». В кадастре приводятся и анализируются данные о состоянии природных (поверхностных и подземных) вод, об использовании водных ресурсов, о количестве и составе загрязнений, поступающих в природные источники со сточными водами, сведения об очистных сооружениях городов. Согласно водному кадастру, в нашей республике образуется более 1 300 млн м<sup>3</sup> сточных вод в год [8, с. 6].

**Сравнительная характеристика биологических методов очистки сточных вод с механическими, физико-химическими, химическими. Классификация методов биологической очистки сточных вод.** Различают четыре группы методов очистки сточных вод (рисунок 9).

*Механические методы* используют на первом этапе очистки сточных вод для удаления взвешенных веществ, нерастворенных органических и минеральных примесей путем отстаивания и фильтрации сточных вод.



Начало

Содержание



Страница 65 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



Механические	Химические	Физико-химические	Биологические
<ul style="list-style-type: none"><li>• отстаивание</li><li>• фильтрация</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• нейтрализация</li><li>• окисление</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• коагуляция</li><li>• флотация</li><li>• сорбция</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• аэробная</li><li>• анаэробная</li></ul>

**Рисунок 9** – Методы очистки сточных вод

*Химические методы* (нейтрализация, окисление) применяют на завершающем этапе очистки сточных вод перед подачей в систему оборотного водоснабжения либо перед спуском в водоем.

*Физико-химические методы* (коагуляция, флотация, сорбция) применяют как самостоятельные методы очистки сточных вод предприятий, так и в сочетании с другими методами.

*Биологическая очистка сточных вод* основана на способности микроорганизмов использовать в качестве питательных веществ многие органические и неорганические соединения, содержащиеся в сточных водах.

Биологическую очистку сточных вод осуществляют в естественных условиях (*поля орошения, поля фильтрации, биологические пруды*) и в специализированных очистных сооружениях (*биофильтры, аэротенки*).

Биотехнологическая очистка сточных вод с участием сообщества микроорганизмов, образующих активный ил, представляет собой отдельное производство в общей схеме очистных сооружений (рисунок 10).

Биологическая очистка имеет следующие преимущества, обусловленные особенностями жизнедеятельности микроорганизмов:

- широкий спектр удаляемых органических и неорганических соединений, в том числе токсичных;
- образование простых конечных продуктов (в аэробных условиях – диоксид углерода, нитраты, сульфаты, в анаэробных условиях – метан, аммиак, сероводород);
- отсутствие вторичного загрязнения воды [8, с. 26].

Начало

Содержание

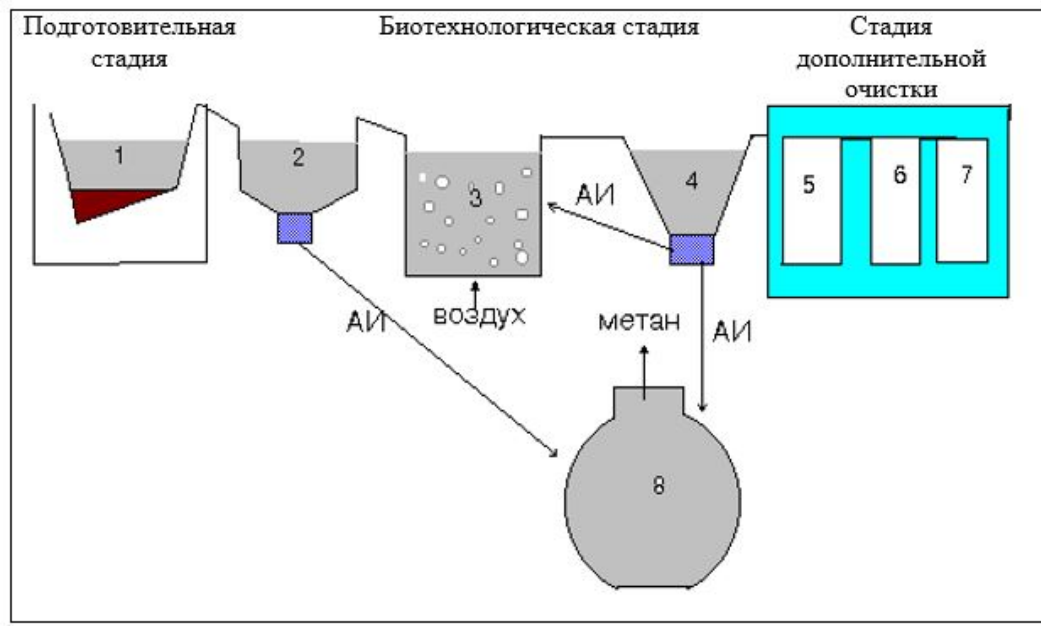


Страница 66 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



**Рисунок 10** – Одноступенчатая схема очистки сточных вод:

- 1 – механическая очистка; 2 – первичный отстойник; 3 – аэротенк;  
 4 – вторичный отстойник; 5 – биологические пруды; 6 – осветление;  
 7 – реагентная обработка; 8 – метантенк; АИ – активный ил

### Типы очистных сооружений в естественных и искусственных условиях.

Очистка сточных вод в естественных условиях осуществляется: в биологических прудах по принципу самоочищения воды; на полях орошения и фильтрации по принципу самоочищения почвы.

*Биологические пруды* предназначены для очистки хозяйственно-бытовых, производственных и поверхностных сточных вод, содержащих преимущественно органические загрязнители, а также для глубокой очистки сточных вод после биологической очистки; представляют собой котлованы прямоугольной формы, располагающиеся на грунтах со слабой фильтрацией. Самоочищение сточных вод в биопрудах осуществляется за счет анаэробного разложения загрязнений



Начало

Содержание



Страница 67 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

в придонных слоях, а также окисления растворенных органических веществ в средней зоне благодаря деятельности микроорганизмов, ассимиляции растениями загрязнителей у поверхности [8, с. 29]. Биопруды эффективны при ясной и теплой погоде, а в холодное время года работают как емкостные сооружения для сбора оседающих примесей.

*Поля орошения и фильтрации* – это сооружения, предназначенные для биологической очистки сточных вод в грунте. Поля орошения используют для очистки сточных вод и выращивания сельскохозяйственных (в основном, технических) культур, поля фильтрации – только для очистки сточных вод. Представляют собой участки с песчаной и супесчаной почвой. Сточная вода проходит через слой почвы, содержащий аэробные бактерии, которые образуют биологическую пленку. В процессе фильтрации через слой почвы органические загрязнения задерживаются на био пленке и разлагаются микроорганизмами до минеральных соединений. Эти процессы наиболее интенсивно происходят в почве на глубине от 0,1 до 0,4 м [5, с. 122]. Данный тип сооружений для очистки сточных вод в естественных условиях имеет небольшую производительность.

Основное достоинство естественных способов очистки – дешевизна строительства и эксплуатации таких сооружений. Однако интенсивность окислительных процессов в них более низкая, чем в искусственных сооружениях (аэротенках, биофильтрах), в которых создаются аэробные и анаэробные условия.

*Аэротенки* – это очистные сооружения биологической очистки сточных вод активным илом. Представляют собой резервуары из металла, железобетона или пластмассы глубиной 3–6 м с механической или пневматической подачей воздуха для аэрации. Воздух перемешивает обрабатываемую жидкость с активным илом и насыщает ее кислородом, необходимым для жизнедеятельности бактерий, простейших и некоторых беспозвоночных. Аэротенки применяются для очистки сточных вод от широкого диапазона загрязнителей [8, с. 30].

*Биофильтры* – это очистные сооружения, которые предназначены для очистки сточных вод с использованием биоценоза прикрепленных форм микроорганизмов. Биофильтры могут быть круглой или прямоугольной формы, заполненные загрузкиочным материалом, на котором развиваются микроорганизмы, образуя **био пленку**. В зависимости от вида загрузкиочного материала, который должен



Начало

Содержание



Страница 68 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

быть устойчивым к разрушению и безвредным для микроорганизмов, различают биофильтры с объемной и плоскостной загрузкой. В качестве объемной загрузки применяют щебень, гальку, гравий, керамзит и другие пористые материалы. Для плоскостной загрузки используют металлические сетки, пластмассовые пленки и др.

*Вторичные отстойники* – сооружения для обработки осадков сточных вод, а именно для разделения иловой смеси и очищенной сточной воды и/или отделения биопленки.

Биологическая очистка бытовых и производственных сточных вод нашла очень широкое распространение. В Германии в эксплуатацию введены около 10 000 очистных сооружений, из которых подавляющее большинство (96 %) используют активный ил [10, с. 112]. В Республике Беларусь функционирует более 140 сооружений биологической очистки, в том числе 72 сооружения производительностью более 1 млн м<sup>3</sup> очищаемой воды в год, на которых проходит очистку 90 % общего стока по стране [8, с. 27].

**Характеристика процессов аэробной очистки сточных вод.** *Аэробная очистка сточных вод* протекает в аэротенках (от 6 до 30 ч) и включает следующие стадии:

- 1) адсорбция органических загрязняющих веществ активным илом;
- 2) внутриклеточное расщепление сорбированных загрязнений;
- 3) разделение возросшей биомассы активного ила и очищенной воды во вторичном отстойнике.

Утилизация органических загрязняющих веществ в аэротенках происходит за счет жизнедеятельности аэробных микроорганизмов, находящихся либо в свободном, либо в структурированном в виде хлопьев состоянии, формирующем активный ил. Образование хлопьев в аэротенках имеет важное практическое значение, так как хлопья в отличие от одиночных микробных клеток значительно быстрее и полнее выпадают в осадок, отделяемый от очищенной воды в отстойнике.

Формирование *активного ила* происходит в результате «слипания» (флокуляции) микробных клеток за счет выделяемых ими гелеподобных высокомолекулярных соединений, а также вследствие закрепления клеток на поверхности частичек взвешенных веществ, поступающих в аэротенк со сточной водой. Хлопья ила извлекают загрязнения из сточных вод за счет химического или



Начало

Содержание



Страница 69 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

физико-химического взаимодействия. Затем в клетках микроорганизмов активного ила происходит биохимическое окисление изъятых органических загрязнений в процессе аэробного дыхания. При этом небольшое количество растворенных сорбированных органических веществ минерализуется, а большая их часть превращается в микробную биомассу и извлекается на стадии разделения в виде осадка во вторичном отстойнике.

**Показатели работы биологических очистных сооружений.** Показатели, по которым оценивают режим работы очистных сооружений сточных вод, определены техническим кодексом установленной практики (ТКП 17.06-13-2015 (33140)). Основными показателями для всех сооружений биологической очистки являются БПК<sub>5</sub> и ХПК.

Сооружения биологической очистки сточных вод со специально создаваемыми аэробными условиями проектируются на эффективный режим работы, благодаря которому остаточная концентрация примесей в очищенной воде не должна превышать 15 мг/л по БПК<sub>5</sub> и 70 мг/л по ХПК (ТКП 45-4.01-202-2010 (02250)).

В связи с тем, что процесс очистки протекает с участием кислорода, который необходим для дыхания микроорганизмов, важной технической характеристикой сооружений биологической очистки является *содержание растворенного O<sub>2</sub>* в сточной воде. Данный показатель отражает какое количество кислорода в растворенном состоянии вводится в единицу объема аэротенка в единицу времени в результате непрерывной аэрации и выражается в кг/м<sup>3</sup>·ч. *Концентрация растворенного O<sub>2</sub>* в сточной воде для протекания процесса аэробной очистки должна быть не менее 2 мг/дм<sup>3</sup>.

Применительно к работе аэротенков используют параметр *окислительная мощность*, показывающий какое количество органических загрязнений в расчете на БПК может утилизироваться в единицу времени массой активного ила, находящейся в единице объема аэротенка.

Таким образом, окислительная мощность является как показателем нагрузки на активный ил, так и показателем потенциальной эффективности разложения органических загрязняющих веществ. Окислительная мощность на городских сооружениях биологической очистки может изменяться от 0,1 до 1,5 кг БПК/(м<sup>3</sup>·сут) [8, с. 52].



Начало

Содержание

◀ ▶

◀▶

Страница 70 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Важно при организации работы сооружений биологической очистки контролировать рабочую концентрацию микроорганизмов. Установлено, что для любого уровня загрязненности воды существует оптимальная *концентрация микроорганизмов* (или *доза ила*), которая должна поддерживаться в аэротенке. Если фактическая концентрация активного ила не соответствует оптимальной, то это приводит к снижению эффективности очистки и ухудшению работы отстойников, в частности уменьшается полнота отделения взвешенных веществ от биологически очищенной воды.

**Основные группы организмов и их роль в процессах очистки сточных вод.** Биологическая очистка сточных вод в очистных сооружениях осуществляется детритным путем, как и самоочищение в природных водных экосистемах, но вместе с тем имеет ряд особенностей.

Во-первых, в природных водных системах складываются устойчивые сообщества различных видов, выполняющих определенные функции. Причем одну и ту же функцию могут выполнять различные организмы. Стабильность биоценоза зависит от видового состава популяций и от способности различных видов сообщества дублировать функции друг друга. В сообществах организмов очистных сооружений биологической очистки сточных вод видовой состав беднее, а количество трофических уровней не превышает трех [5, с. 108]. В процессах аэробной очистки сточных вод участвуют гетеротрофные бактерии, сапротрофные простейшие, а также инфузории, колероватки и черви.

Первый трофический уровень очистных сооружений преимущественно составляют гетеротрофные бактерии, а также, в меньшем количестве, сапротрофные простейшие и свободно плавающие ресничные инфузории. Они потребляют органические вещества сточных вод, подвергают их деструкции и синтезируют на их основе вещества своей биомассы.

Второй трофический уровень занимают голозойные свободно плавающие инфузории и колероватки, питающиеся бактериями и сапротрофными простейшими.

Третий трофический уровень представляют прикрепленные и хищные инфузории, колероватки и черви (нематоды и олигохеты), питающиеся голозойными инфузориями и частицами активного ила.



Начало

Содержание



Страница 71 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Во-вторых, природные водные экосистемы характеризуются относительно стабильными условиями, что обуславливает устойчивое существование сформировавшегося видового состава автохтонной биоты. В процессе биологической очистки структура биоценоза активного ила меняется в зависимости от условий развития и взаимоотношения различных групп, определяемых наличием питательного субстрата, условиями аэрации и продолжительностью очистки.

Большое количество органических загрязнений требует включения в процесс очистки сточных вод всех указанных выше трофических уровней. В этом случае в ходе очистки в биоценозе активного ила наблюдается последовательное развитие популяций от организмов с сапрозойным способом питания до организмов-хищников. При меньшем количестве загрязнений процесс очистки может быть ограничен вторым и третьим, а при очень малом количестве загрязнений может включать только третий уровень питания. При таких вариантах очистки сточных вод значительных изменений в микробном составе ила не происходит.

#### **Характеристика и состав микробиоты активного ила и биопленки.**

*Активный ил* представляет собой бурые хлопья, состоящие из большого числа микроорганизмов, заключенных в слизь. В сложной структуре гетеротрофных микроорганизмов активного ила, связанных трофическими и метаболическими процессами, доминирующая роль принадлежит прокариотам. Индикаторное значение для процесса очистки сточных вод в **аэротенке** имеют три группы бактерий: аэробные флокулирующие, хламидобактерии и цианобактерии.

Определяющее значение в образовании хлопьев активного ила принадлежит бактериям рода *Zoogloea*, в первую очередь *Zoogloea ramigera*, клетки которой обладают способностью синтезировать в большом количестве капсульный полисахарид. Капсульное вещество играет значительную роль в очистке, поскольку обуславливает сорбцию органических и неорганических соединений, а также клеток, которые сами не способны к хлопье-образованию, но участвуют в разложении загрязнений [8, с. 35].

Основными микроорганизмами, выделенными из активного ила, являются бактерии семейства *Pseudomonadaceae*, среди которых доминирует род *Pseudomonas*. Метаболические особенности псевдомонад позволяют им разлагать практически все существующие природные органические соединения, причем в деструкции



Начало

Содержание



Страница 72 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



синтетических соединений они также лидируют. К числу часто встречающихся палочковидных бактерий активного ила относятся также представители родов *Bacillus*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Alcaligenes* и др.

В активном иле присутствуют хламидобактерии, представленные преимущественно родом *Sphaerotilus*. Они образуют скопления клеток в виде длинных нитей, окруженных защитным полисахаридным чехлом. Из активного ила также выделены цианобактерии (*Cyanobacterium*) родов *Anabaena*, *Microcystis*, *Nostoc*, которые переходят к гетеротрофному питанию.

Массовое развитие нитчатых форм хламидобактерий и цианобактерий, а также чрезмерное увеличение мицелиальных грибов является одной из причин *вспухания активного ила* – неблагоприятного явления, нарушающего способность активного ила к седиментации.

В состав активного ила кроме бактерий, небольшого количества мицелиальных грибов и дрожжей всегда входят простейшие, представленные четырьмя классами: саркодовые (*Sarcodina*), жгутиковые (*Flagellata*), ресничные инфузории (*Ciliata*) и сосущие инфузории (*Suctorina*). Основная функция простейших заключается в регулировании и поддержании на определенном уровне численности бактерий путем их поедания. Следует отметить, что простейшие более чувствительны к изменениям технологического режима в аэротенке, в частности к недостаточной аэрации, повышению токсичности стока, изменениям поступающих загрязнителей.

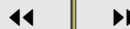
Термином «*биопленка*» обозначают слизистый матрикс на поверхности носителя, состоящий преимущественно из полисахаридов, которые удерживают в пределах единой структуры клетки микроорганизмов. Микробиота биопленки по составу сходна с активным илом, но может отличаться количественным соотношением отдельных групп микроорганизмов. По сравнению с активным илом аэротенка концентрация микроорганизмов в биопленке биофильтров выше более чем в 10 раз.

**Способы утилизации активного ила.** Выполнивший свою функцию **активный ил** в аэробных условиях аэротенка должен быть отделен от очищенной воды во вторичном отстойнике. Эффективность этого процесса на практике определяется заблаговременно еще в аэротенке по способности активного ила к осадждению. Поскольку нарушение седиментационных свойств ила приводит к ухудшению показателей, регламентирующих качество очищенной воды.



Начало

Содержание



Страница 73 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Поэтому при эксплуатации очистных сооружений эту способность ила регулярно контролируют по показателю «иловый индекс» на выходе из аэротенка во вторичный отстойник.

*Иловый индекс* – это объем, который занимает 1 г активного ила (по сухой массе) после отстаивания в мерном цилиндре на 1000 см<sup>3</sup> в течение 30 минут. Оптимальное значение илового индекса находится в пределах от 50 до 150 см<sup>3</sup>/г (ТКП 17.06-13-2015 (33140)), любое отклонение нежелательно. Значение илового индекса указывает на состояние условий эксплуатации очистных сооружений и жизнедеятельности ила.

На величину илового индекса влияет величина дозы ила в аэротенке. Так, повышение дозы ила излишнему его накоплению в иловой зоне вторичного отстойника приводит к загниванию, и возникает проблема увеличения его выноса с очищенной водой. Кроме того, высокий прирост биомассы активного ила увеличивает затраты на обезвоживание и утилизацию его избыточного количества.

Осадок активного ила после отделения от воды во вторичном отстойнике разделяют на три разные по объему части. Большую часть, т. н. циркуляционный ил, возвращают обратно в систему очистки сточных вод (рисунок 10). Избыток илового осадка либо направляется на переработку анаэробным путем в метантенк (более предпочтительный путь), либо поступает на иловые площадки, где обезвоживается и вывозится на поля.

**Пути совершенствования систем аэробной очистки сточных вод.** Основной задачей совершенствования **аэробной очистки воды** является максимальное изъятие загрязнений из сточной воды, а именно полная или частичная очистка от веществ, подверженных биохимическому разложению, нитрификация, денитрификация, удаление соединений фосфора, очистка от специфических примесей.

Преимущественной является разработка трехступенчатой системы очистки сточных вод, которая включает:

- 1) биологическую деградацию фосфатов;
- 2) биологическую нитрификацию – превращение азотсодержащих органических соединений в аммиак, а затем в нитриты и нитраты;
- 3) денитрификацию – превращение нитрата в N<sub>2</sub> и N<sub>2</sub>O.



Начало

Содержание



Страница 74 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Показателем для улучшения аэротенков является их **окислительная мощность**. Чем выше численное значение окислительной мощности, тем большее количество загрязнений может быть изъято в данном аппарате в единицу времени. С этой целью модифицируют конструкцию элементов, обеспечивающих интенсивность массообмена между потоком вводимого в аэротенк воздуха и находящейся в нем сточной водой, либо модифицируют аэротенк в окситенк, где для аэрации используют чистый кислород. Однако следует помнить, что основным функционирующим составляющим в таких сооружениях являются микроорганизмы, от концентрации и активности которых зависит фактически достигаемая окислительная мощность. Поэтому для достижения потенциально заложенного в конструкции аэротенка показателя окислительной мощности и обеспечения эффективного его функционирования необходимо строгое соблюдение технологических параметров (температура, значение рН сточной воды, отсутствие токсичных соединений в концентрациях, ингибирующих жизнедеятельность микроорганизмов, наличие биогенных элементов, концентрация растворенного кислорода в сооружениях аэробной очистки и т. д.).

## 6.2 Анаэробная очистка сточных вод. Образование биогаза

**Основные стадии разложения органического вещества в анаэробных условиях и группы микроорганизмов, их осуществляющие.** Важность анаэробного способа в системе очистки сточных вод обусловлена возможностью практически полной переработки стоков с высоким уровнем загрязнения в метан и  $\text{CO}_2$  при сравнительно небольшом выходе образования биомассы. *Анаэробная очистка* применяется для сбраживания высококонцентрированных стоков, а также осадка из первичного отстойника и избытка активного ила, образующегося в аэротенках. Анаэробная очистка позволяет получить биогаз и органическое удобрение, содержащее минерализованный в процессе бактериальной ферментации азот и фосфор.

Анаэробная очистка осуществляется в аппаратах различного конструктивного исполнения, называемых *метантенками*.



Начало

Содержание



Страница 75 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



По сравнению с аэробной очисткой сточных вод очистка в анаэробных условиях происходит значительно медленнее (более 20 суток). Осуществляет анаэробную очистку смешанный консорциум присутствующих в сточной воде микроорганизмов, основанный на синтрофных взаимодействиях. Микробиота метантенков представлена в основном бактериями. Протисты и грибы присутствуют в небольшом количестве и не играют особо значительной роли в анаэробной очистке.

Анаэробное разложение органики представляет трехступенчатый процесс. На первой стадии сложные органические вещества (биополимеры) расщепляются с участием гидролитических бактерий, принадлежащих к родам *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Lactobacillus* и др., на более простые олиго- и мономеры, которые затем сбраживаются преимущественно до органических кислот,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ . Между гидролизом и кислотообразованием нет четкой границы, так как обладающие гидролитической активностью микроорганизмы используют продукты гидролиза для накопления биомассы. Из-за широкого видового разнообразия кислотогенные бактерии-броидильщики достаточно устойчивы к изменениям условий среды метантенка.

На второй стадии, идущей параллельно с первой, ацетогенные бактерии восстанавливают  $\text{CO}_2$  до ацетата, конвертируют продукты кислотогенной стадии в ацетат. Большинство ацетогенных бактерий относится к эубактериям родов *Acetobacterium* и *Clostridium*. Фактически ацетогенные бактерии подготавливают субстрат, пригодный для жизнедеятельности метанообразующих бактерий, завершающих сложный процесс распада органического вещества в анаэробных условиях.

На третьей стадии функционируют преимущественно метаногенные архебактерии (*Methanobacter*, *Methanococcus*, *Methanogenum*, *Methanothrix*, *Methanosarcina* и др.), способные продуцировать метан и  $\text{CO}_2$  из уксусной кислоты. Метанообразующие бактерии характеризуются низкими скоростями роста и размножения, что сказывается на продолжительности анаэробной стадии очистки сточных вод.

**Образование биогаза.** *Биогаз* – это продукт естественного анаэробного процесса. Природный газ на две трети состоит из  $\text{CH}_4$  и на треть из  $\text{CO}_2$ . В нем также содержатся небольшие количества  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  и других газов [10, с. 114].

Начало

Содержание

◀ ▶

◀◀ ▶▶

Страница 76 из 144

Назад

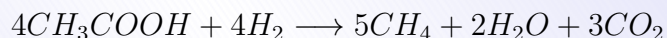
На весь экран

Закрыть

Биогаз, образующийся при анаэробной очистке сточных вод, имеет сходный состав (см. раздел 9). Точный состав его может быть определен методом газовой хроматографии.

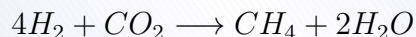
*Метаногенез* – катаболический анаэробный процесс, в котором главным продуктом является метан, а энергия запасается на уровне окислительного фосфорилирования. Роль метаногенеза в окружающей среде связана с процессами биоконверсии углерода и водорода.

Осуществляют метаногенез около 50 видов анаэробных метаногенных бактерий. Преимущественно для хемогетеротрофных метаногенов в качестве источников углерода и энергии выступают органические соединения, из которых наиболее важным является ацетат.



Метаногенные бактерии 90–95 % используемого углерода превращают в метан, и только 5–10 % углерода расходуется на прирост биомассы.

Хемолитотрофные метаногены используют в качестве доноров электронов водород, а роль конечного акцептора электронов играет  $CO_2$ :



Метаногенные бактерии чувствительны к температуре и pH среды. Активность метаногенеза повышается в термофильных условиях при слабощелочной реакции среды (pH 6–8).

В связи с этим при получении биогаза эффективным является проведение аэробной очистки сточных вод в двух аппаратах. Первый аппарат служит для подготовительных стадий, связанных с разложением сложных органических веществ и образованием ацетата при pH 6,0–6,5 и пониженной температуре, а во втором создаются необходимые условия для культивирования метаногенных бактерий.

**Анаэробные биореакторы первого и второго поколения.** В технологических процессах анаэробной очистки сточных вод и переработки избыточного ила в настоящее время используются биореакторы двух поколений.

Анаэробным биореактором первого поколения является метантенк, предназначенный для получения биогаза сбраживанием сельскохозяйственных отходов и осадков сточных вод.



Начало

Содержание



Страница 77 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Анаэробные биореакторы второго поколения – аппараты с неподвижным слоем биомассы микроорганизмов. В биореакторах второго поколения низкая удельная метаболическая активность метанового биоценоза компенсирована высокой концентрацией биомассы в аппарате. Бактерии прикрепляются к носителям силами химико-биологического средства, поверхностного натяжения при добавлении ПАВ и других способами. В результате оседания частиц в нижней части реактора образуется зона повышенной концентрации биомассы. Загрязненные воды поступают в реактор снизу вверх, а образующийся в результате метагенеза газ обеспечивает перемешивание реакционной среды. В верхней части реактора расположен газоуловитель.

В связи с низким приростом биомассы анаэробного биоценоза в настоящее время уделяется большое внимание разработке и производству специальных видов носителей для закрепления (иммобилизации) микроорганизмов и тем самым повышения их концентрации в биореакторе.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 78 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Раздел 7. Биологическая очистка газозвудушных выбросов

**Основные пути загрязнения газозвудушных выбросов производств и методы их очистки.** К загрязняющим атмосферу относятся вещества, содержащиеся в превышающих фоновые концентрациях, которые могут оказать неблагоприятное воздействие на человека, животных и растения, а также здания и сооружения, материалы и оборудование.

Загрязняющие атмосферу вещества объединяют в группы:

- 1) аэродисперсные системы, состоящие из твердых или жидких частиц, взвешенных в воздушной среде (пыль, туман, дым);
- 2) газообразные вещества (оксиды серы, оксиды азота, сероводород, аммиак, оксиды углерода и др.);
- 3) пары веществ (летучие растворители, углеводороды и их галогенопроизводные, ароматические углеводороды и др.) [5, с. 168].

Основными источниками загрязнения атмосферы являются:

- предприятия нефтеперерабатывающей, химической, пищевой промышленности;
- автотранспорт;
- большие сельскохозяйственные предприятия;
- отстойники сточных вод;
- установки по обеззараживанию и утилизации отходов.

Причинами выбросов загрязнителей в атмосферу являются:

- 1) отсутствие или неэффективная локализация источников выделения газов и пыли;
- 2) недостаточная герметичность, конструктивные недостатки производственного оборудования, его техническая неисправность;
- 3) неправильное ведение технологических процессов и др.

Для предотвращения попадания загрязнений в атмосферу используются технологии на основе физико-химических и биологических методов.

*Физические методы* основаны на абсорбции из газозвудушных выбросов примесей твердыми поглотителями либо жидкостями.



Начало

Содержание



Страница 79 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

*Химические методы* включают озонирование, прокалывание, каталитическое дожигание и хлорирование воздуха.

*Биологические методы* очистки воздуха основаны на способности микроорганизмов разрушать широкий спектр веществ и соединений до конечных продуктов –  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Важным преимуществом биотехнологической очистки воздуха также является возможность удаления микроорганизмами широкого спектра загрязнителей, содержащихся даже в низких концентрациях в обычных условиях. Большинство токсических загрязнителей атмосферы может быть разрушено монокультурами микроорганизмов. Например, представители рода *Nocardia* эффективно разрушают стерины и ксилон, *Mycobacterium* – винилхлорид и др. Однако для повышения эффективности биологического метода применяют смешанные культуры, имеющие больший каталитический потенциал, следовательно, большую деструктурирующую способность. Так аэробное окисление восстановленных газов осуществляется газотрофами – водородными, серными и тионовыми бактериями, нитрификаторами, карбоксидактериями, метано- и метилотрофами. Они составляют сообщество бактериального фильтра.

**Установки для микробиологической очистки газовой воздушных выбросов и их эффективность.** Существует три основных типа установок для биологической очистки газовой воздушных выбросов: биофильтры, биоскрубберы и биореакторы с омываемым слоем.

*Биофильтры* для очистки воздуха сконструированы по принципу водоочистных биофильтров. В биофильтрах отработанный воздух пропускается через слой наполнителя, на поверхности которого находятся микроорганизмы. Загрязнения сорбируются материалом фильтрующего слоя и разлагаются микроорганизмами. В качестве фильтрующего слоя используются материалы природного происхождения (торф, солома, почва, кора и опилки древесины, компост и др.), которые имеют высокую влагоемкость и являются источниками минеральных веществ для микроорганизмов. В зависимости от формы биофильтры подразделяются на плоские и многоярусные. Достоинствами биофильтров являются простота конструкции и небольшие энергозатраты, недостатками – низкая концентрация биомассы и, следовательно, невысокая производительность (количество кубометров очищаемого воздуха в час). Из-за ограничения толщины фильтрующего слоя биофильтры занимают большие площади.



Начало

Содержание



Страница 80 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



*Биоскрубберы* – абсорбционные аппараты (абсорберы, скрубберы), в которых орошающей жидкостью (абсорбентом) служит водная суспензия микроорганизмов. Находящиеся в газовой воздушной выбросах загрязняющие вещества абсорбируются водой, а затем расщепляются микроорганизмами. Учитывая, что биохимические реакции протекают с относительно невысокой скоростью, в составе газоочистной установки предусматривается промежуточная емкость для очистки воды. Она выполняется в виде отдельного реактора либо komponуется в нижней части скруббера. Микроорганизмы находятся либо во взвешенном состоянии (по типу аэротенка), либо закреплены на насадке. Биоскрубберы для очистки газовой воздушной выбросов находятся в постоянной эксплуатации на ряде предприятий Республики Беларусь: ПО МТЗ, РУП МАЗ (бутанол, ксилол, толуол, этилбензол, n-алканы из окрасочной камеры), ОАО «Мостовдрев» и др. [8, с. 265].

*Биореактор с омываемым слоем* представляет собой промежуточное решение между биоабсорбером и биофильтром. Рабочим элементом в биореакторе являются клетки микроорганизмов, иммобилизованные на искусственных (чаще полимерных) носителях. Насадка может иметь различную форму (кольца, трубки, шарики, волокна, ерши и т. д.). Микроорганизмы расположены на поверхности насадки в виде биопленки. Принцип действия биореактора с омываемым слоем заключается в том, что при прохождении загрязненного воздуха через слой насадки, подлежащие деструкции, распределяются между газовой фазой и водной пленкой, покрывающей элементы насадки, за счет диффузии доставляются к биопленке и разрушаются в ней. Скорость процесса газоочистки в биореакторе с омываемым слоем может лимитироваться либо скоростью диффузии загрязнений из газовой фазы через водную пленку к поверхности биопленки, либо скоростью их деструкции микроорганизмами. Скорость диффузии зависит от природы индивидуальных веществ и разности концентраций на внешней и внутренней границах водной пленки, скорость деструкции определяется активностью ферментов микроорганизмов. Если происходит полное разрушение прориффундировавшего через водную пленку вещества, значит процесс протекает в диффузионном режиме. Подтверждением этого является отсутствие влияния природы носителя и концентрации биомассы на эффективность функционирования биореактора.

В процессе газоочистки слой насадки орошается водой, содержащей минеральные соли и микроэлементы, необходимые для питания микроорганизмов. В орошающей



Начало

Содержание



Страница 81 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

воде корректируется значение рН. Вода циркулирует в системе, из заборника на орошение подается насосом, по мере загрязнения направляется на очистку и заменяется свежей.

После установок биологической очистки в очищенном воздухе накапливается влага, которую удаляют перед выбросом его в атмосферу. Роль каплеотделителя часто выполняет слой насадки без микроорганизмов в биореакторе или биоскруббере.

Значительное ужесточение контроля состава отработанных и выхлопных газов в последние десятилетия привело не только к созданию различных типов установок для очистки воздуха, но и к расширению масштабов их использования. Наиболее часто применяемыми, но менее эффективными являются биофильтры. Биореакторы с омываемым слоем являются наиболее перспективными аппаратами для биологической очистки газовых выбросов. Они характеризуются значительно более высокой удельной производительностью, чем остальные типы установок, что обусловлено высокой концентрацией биомассы в рабочем объеме реактора вследствие создания благоприятных условий для иммобилизации микроорганизмов на развитой поверхности применяемых носителей. Кроме того, они более компактны, чем биофильтры и абсорбционно-биохимические установки, по сравнению с биоскрубберами требуют меньше воды для орошения.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 82 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Раздел 8. Биоремедиация почв

**Классификация методов ремедиации почв. Основные факторы, влияющие на выбор способа ремедиации почв.** Восстановление изначальных показателей почвы при ликвидации последствий загрязнения принято называть *ремедиацией*. Под *биоремедиацией* понимают оздоровление почвы, связанное с удалением загрязнителей посредством использования метаболического потенциала биологических объектов.

Ремедиацию почв проводят различными методами.

*Механические методы* (извлечение, захоронение, вспашка и др.) являются первичными мероприятиями в системе ремедиации почв.

*Физико-химические методы* (промывка, экстракция растворителями, сорбция, сжигание и др.) основаны на деструкции, нейтрализации и удалении загрязнителей на основе физико-химических взаимодействий с вводимым реагентом, сорбентом.

*Биологические методы* очистки почв предполагают для разложения, извлечения загрязнителей использование различных организмов (микроорганизмов, растений, грибов и др.).

В настоящее время существует два основных подхода к очистке загрязненных почв и грунтов – очищение почв на месте (*in situ*) и очищение почв на специальных предприятиях (*ex situ*).

Выбор метода ремедиации почв определяется в первую очередь типом загрязнителя. Основными антропогенными веществами, загрязняющими почву, являются углеводороды минеральных масел, бензол, толуол, ксилол и этилбензол, ароматические углеводороды, хлорсодержащие углеводороды. В отличие от ароматических и хлорсодержащих углеводородов, углеводороды минеральных масел, бензол, толуол, ксилол и этилбензол, достаточно легко подвергаются биологической деградации [10, с. 118]. Возможность биологической деградации веществ, загрязняющих почву, определяется многими факторами, в частности их растворимостью, а также структурой самой почвы.

**Биологические методы ремедиации почв.** Биоремедиация предполагает разработку технологий, направленных на использование биохимического потенциала аборигенных, адаптированных или модифицированных биологических



Начало

Содержание



Страница 83 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

систем, прежде всего микроорганизмов, для деградации или детоксикации поллютантов.

Биоремедиация обладает большими потенциальными возможностями для предотвращения загрязнения окружающей среды и борьбы с уже имеющимся загрязнением. По сравнению с другими методами очистки окружающей среды биоремедиация гораздо дешевле. Кроме того, только биологические методы ремедиации почв эффективны при рассеянном загрязнении, как в случае с пестицидами, применяемыми на огромных площадях, загрязнениями нефтью и нефтепродуктами.

Различают следующие методы биоремедиации почв.

**Биостимулирование** – активизация жизнедеятельности автохтонной микробиоты почвы путем внесения питательных веществ.

**Биоаугментация** – введение в почву селективно приспособленных природных штаммов или генетически измененных микроорганизмов, способных оперативно справиться с простыми и/или сложными загрязняющими веществами.

**Биоконцентрирование** – накопление веществазагрязнителя в локальной зоне путем адсорбции или иммобилизации биообъектами.

**Биовыщелачивание** – избирательное извлечение микроорганизмами (бактериями или грибами) химических элементов из многокомпонентных соединений посредством их растворения в водной среде. Благодаря биовыщелачиванию осуществляют извлечение ценных компонентов (например, меди, урана и других) или вредных примесей (например, мышьяк в рудах черных и цветных металлов) из руд и отходов производства.

**Обработка в биореакторах** – деструкция загрязнений из транспортированной в биореакторы почвы, где созданы оптимальные условия для развития микроорганизмов.

**Фиторемедиация** – использование растительных организмов для *in situ* (на месте) восстановления загрязненных почв.

**Технологии фиторемедиации.** Среди биологических объектов растения первыми были использованы для ремедиации почв на полях орошения. Биологическая роль растений в восстановлении загрязненных почв заключается в их физиологических способностях получения необходимых минеральных элементов



Начало

Содержание



Страница 84 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

из окружающей среды. Так корни, благодаря продуцируемому растением хелатным агентам и индуцированному изменению pH среды, окислительно-восстановительным реакциям, способны растворять и поглощать необходимые микроэлементы из глубоких слоев почвы. В процессы поглощения и перемещения по растительному организму вовлечены также токсичные элементы, чьи химические свойства сходны с химическими свойствами необходимых растениям элементов.

Основными фиторемедиационными технологиями являются:

1) ризофилтрация (фитофилтрация) – избирательная адсорбция или осаждение растворенных веществ, находящихся в растворе, окружающем корневую зону, на поверхности корней растений;

2) фитоэкстракция (фитоаккумуляция) – поглощение и накопление опасных загрязнителей (соли тяжелых металлов) в надземных частях растений, которые могут быть собраны и сожжены для получения энергии и утилизации металла из пепла;

3) фитоиспарение (фитоволатизация) – вынос поллютантов (Pb, As, Se) из почвы посредством их трансформации растениями в летучие формы и транспирации в атмосферу;

4) фитостабилизация – перевод химических соединений в корневой зоне определенных видов растений в менее подвижную и активную форму, что предотвращает миграцию загрязняющих веществ в почве;

5) фитодеградация и фитотрансформация – разложение или изменение через метаболические процессы растениями и симбиотическими организмами преимущественно органической части загрязнений;

6) фитостимуляция – стимуляция растениями развития симбиотических микроорганизмов, принимающих участие в процессе очистки.

Следует отметить, что большинство растений не накапливают микроэлементы сверх необходимых потребностей обмена веществ. Исключение составляют растения-гипераккумуляторы, которые могут поглощать и концентрировать в надземных органах токсичные ионы металлов в больших количествах. Ключевое значение растения-гипераккумуляторы металлов имеют для фитоэкстракции и фитомайнинга – разновидности технологии фитоаккумуляции, позволяющей извлекать из субстрата (в частности отвалов горнодобывающей промышленности)



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 85 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

экономически ценные металлы. К важным качествам растений-гипераккумуляторов металлов относят следующие способности: формирование большого количества надземной биомассы в течении одного вегетационного сезона, простота уборки, рост и развитие в неблагоприятных условиях, в первую очередь обусловленных особенностями субстрата (например, экстремальной кислотностью, высокой плотностью, высоким содержанием солей, низким содержанием гумуса, фосфора, калия и др.).

**Микроборемедиация. Биопрепараты для ликвидации нефтяных загрязнений.** Использование микроорганизмов для очистки сточных вод уже давно стало обыденной процедурой, но для очистки почвы микроорганизмы стали применяться сравнительно недавно.

Стратегия *микроборемедиации* – использования микроорганизмов для восстановления загрязненных территорий – осуществляется по двум главным направлениям – экстенсивному и интенсивному.

*Экстенсивные методы* микроборемедиации основаны на стимулировании деятельности аборигенных микроорганизмов биоценоза путем внесения питательных веществ непосредственно в очищаемый участок почвы. *Интенсивные методы* основаны на интродукции активных микроорганизмов-деструкторов, которые ранее были выделены и отселектированы микробиологически или модифицированы генно-инженерными методами, в загрязненную почву в виде суспензии свободных или иммобилизованных на специальных носителях клеток.

Наиболее опасными поллютантами, присутствующими в почве и воде, являются нефть и нефтепродукты, источником которых является неорганизованная хозяйственная деятельность (см. раздел 3). При деструкции нефтяных загрязнений почвы следует учитывать то, что в нестерильных аэрируемых почвах присутствуют микроорганизмы, способные окислять углеводороды. К ним относятся представители родов *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*. В случаях повышения опасности при сильном загрязнении или в отсутствии воздуха, или при проникновении нефти в почву на большую глубину эффективным считается применение биопрепаратов.

Изготовление препаратов на основе бактерий для разложения нефтяных загрязнений включает три стадии [8, с. 251]:



Начало

Содержание



Страница 86 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

- 1) получение чистых культур микроорганизмов-деструкторов, активно потребляющих углеводороды нефтяных загрязнений;
- 2) наращивание биомассы микроорганизмов-деструкторов;
- 3) концентрирование и сушка с целью получения стабильного при хранении препарата.

К настоящему времени отечественными и зарубежными учеными разработано довольно большое число препаратов, включающих различные сочетания нефтеокисляющих микроорганизмов. В Республике Беларусь разработан и внедрен на территории Новополоцкого отделения нефтепровода «Дружба» препарат «Родобел-Т», представляющий собой ассоциацию микроорганизмов, активно утилизирующих углеводороды нефти. Содержит представителей гидрофильных и липофильных автохтонных микроорганизмов, что обеспечивает возможность его действия на границе водно-нефтяного слоя и в толще загрязнителя.

Для интенсификации процесса деструкции компонентов нефти разрабатывают *биосорбенты* – препараты в виде иммобилизованных на носителе штаммов-деструкторов. В качестве носителей применяют сорбенты нефтепродуктов из природных (торф, перлит, керамзит и др.) и искусственных (полипропилен, полиуретан и др.) материалов. Перспективным является расширение носителей за счет вторичных материалов, например, карбонизата – макропористого материала, образующегося в результате термического обезвреживания избыточного активного ила. Это позволит не только использовать ресурсный потенциал отходов, но и минимизировать негативное их воздействие на объекты окружающей природной среды.

После очистки почвы или водоема с помощью биосорбентов их подвергают регенерации или утилизации. С этой целью сначала производят отжим нефтепродуктов, их термическую отгонку, отмывку растворителями либо сжигание сорбата.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 87 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

## Раздел 9. Биоэнергетика

**Биоэнергетика. Получение биотоплива из возобновляемых источников: проблемы и перспективы.** *Биоэнергетика* – современное направление науки и отрасли производства, изучающее и использующее механизмы и закономерности преобразования энергии в процессах жизнедеятельности организмов, энергетические процессы в биосфере, а также процессы, связанные с образованием биомассы и ее использования для получения энергии в промышленных целях.

Под *биомассой* понимают общую массу органических веществ, создаваемых и преобразовываемых в результате деятельности живых организмов. Биомассу подразделяют на первичные продукты, к которым относят все продукты, возникающие при прямом использовании солнечной энергии в процессе фотосинтеза, и вторичные продукты – продукты преобразования или разложения органической массы животных. Таким образом, все продукты растительного и животного происхождения, используемые для создания энергии, называют *возобновляемым сырьем*.

Под *биоэнергией* понимают энергию, произведенную из биомассы. По значимости и объемам производимой биоэнергии приоритетным направлением является использование различных видов растительного сырья для получения биодизельного топлива, этанола, метанола и биогаза.

*Биотопливо* – это топливо, получаемое из биомассы термохимическим или биологическим способом.

По агрегатному состоянию биотопливо подразделяют на твердое, жидкое и газообразное.

*Твердое биотопливо* – это дрова, древесные топливные гранулы (пеллеты) и топливные брикеты.

Для получения самого распространенного вида твердого топлива – дров – используют энергетические леса. В их состав включают быстрорастущие породы древесины, кустарников и трав (ива, тополь, эвкалипт, акация, сахарный тростник, кукуруза и др.). Период ротации энергетического леса (от срезания до срезания) составляет 4–6 лет.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 88 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)



Древесные топливные гранулы (пеллеты) – это топливный продукт, изготовленный прессованием древесных отходов (опилок, щепы, коры, некондиционной древесины и др.), соломы, отходов сельского хозяйства (навоза, куриного помета, лузги подсолнечника, ореховой скорлупы) и другой биомассы.

Топливные брикеты – высушенные и брикетированные энергоносители биологического происхождения (например, навоз) и биологические отходы с минимальной степенью подготовки к сжиганию (опилки, щепа, кора, лузга, солома, шелуха и т. д.).

*Жидкое (моторное) биотопливо* – перспективный класс биотоплива (биоэтанол, биометанол, биодизель), применяемый в основном в двигателях.

Биоэтанол – этанол, который получают в ходе переработки растительного сырья (кукурузы, рапса, сахарной свеклы, сахарного тростника) средствами технологий, в основе которых лежит использование естественных биологических процессов (брожения). Экологический эффект применения биоэтанола в качестве топлива – снижение выбросов диоксида углерода (так называемого парникового газа).

Биометанол – метанол, получаемый посредством биологического преобразования морского фитопланктона. Данный вид биотоплива считается одним из самых перспективных, так как отличается от других более высокой выработкой биомассы, отсутствием серьезных требований к производственной площадке и высоким уровнем энергоотдачи.

Биодизель – вид биотоплива, для производства которого используются жиры растительного, микробного и животного происхождения (а также получаемых из них эфиров). Сырьем для производства биодизеля может выступать пальмовое, рапсовое, соевое и другие масла, отходы пищевой промышленности, а также морские водоросли. Общемировое производство биодизеля в последние годы увеличивается, что характеризует данный вид биотоплива как один из наиболее востребованных.

*Газообразное биотопливо* (биогаз, биоводород) – продукт, получаемый в результате брожения биомассы или использования иных термо- и биохимических процессов, направленных на ее переработку. Наиболее распространенный вид газообразного биотоплива – биогаз, одной из разновидностей которого является биоводород.

В энергетике применяют классификацию биотоплива по поколениям.



Начало

Содержание



Страница 89 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

*Биотопливо первого поколения* производится из любого сельскохозяйственного сырья посредством применения традиционных технологий (близкие к естественным, биологические и термохимические процессы, такие как брожение). В настоящий момент, вопросы дальнейшего наращивания оборотов производства биотоплива первого поколения вызывают во всем мире ожесточенные дискуссии. К этому виду топлива относятся биоэтанол (производится из сахарного тростника, кукурузы, пшеницы и т. д.) и биодизель (получаемый из масляничных культур – сои, рапса, пальмы, подсолнечника).

Очевидно, что для их производства требуется использование качественных пахотных земель, разнообразная тяжелая сельскохозяйственная техника, а также удобрения и пестициды. Эти факты делают производство биотоплива прямым конкурентом пищевого сектора экономики страны-производителя.

*Биотопливо второго поколения* производится из непищевого сырья (отработанные жиры и растительные масла, биомасса деревьев и растений). Технологически производство биотоплива второго поколения представляет собой процесс получения топлива посредством переработки целлюлозы и лигнина, содержащихся в древесной или волокнистой биомассе. Преимущество такого биотоплива второго поколения заключается в том, что сырье (растения), необходимое для производства, может выращиваться на менее благоустроенных, по сравнению с биотопливом первого поколения, землях. Для их производства требуется минимум техники, удобрений и пестицидов. Основной недостаток производства кроется в свойствах самого сырья: лигноцеллюлоза древесины – сложный полимерный углевод, требующий большего числа химических превращений и, соответственно, энергии для получения из него жидких топлив. Условная эффективность производства энергии из биомассы биотоплив первого и второго поколений одинакова и составляет примерно 50 %. Из лигноцеллюлозы растений получают два основных вида топлива: биоэтанол и бионефть. Таким образом, можно сделать вывод, что производство биотоплива второго поколения в настоящий момент является очень капиталоемким процессом, так как соответствующие технологии пока весьма дороги. Чтобы довести стоимость производства биотоплива второго поколения до уровня рентабельности, всей биотопливной отрасли предстоит пройти большой путь.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 90 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

*Биотопливо третьего поколения* производится из водорослей. Перспективность этого направления развития биотопливной отрасли связана со спецификой состава водорослей (в них содержится высокая доля жиров – наиболее энергоемких органических соединений) и средой обитания. Дополнительным преимуществом водорослей является то, что с одной технологической площадки можно собирать до 35 урожаев в год.

Биотехнологические способы получения энергоносителей основаны на способности микроорганизмов в процессе жизнедеятельности преобразовывать энергию, заключенную в субстрате, в энергию (биогаз), используемую в промышленных целях.

**Биометаногенез как процесс ликвидации отходов и экологический метод получения энергоносителей.** С начала энергетического кризиса 70-х гг. XX века анаэробный метод, который долгое время применялся для переработки отходов животноводства и осадков водоочистительных станций, стал активно применяться для получения биогаза из навоза.

**Биогаз** представляет собой смесь, состоящую из 65 % метана и 30 % углекислого газа, 1 % сероводорода и незначительных примесей азота, кислорода, водорода и оксида углерода (II).

Основным процессом, приводящим к получению биогаза, является биометаногенез, который производят в специальных биогазовых установках, основными элементами которых являются метантенки. Перечень сырья, пригодного для получения биогаза, весьма широк. В основном это органические отходы, такие как фекальные осадки, навоз, птичий помет, пивная дробина, свекольный жом, трава, бытовые отходы, а также отходы рыбных, забойных производств (кровь, жир, кишки) и осадки сточных вод. Кроме того, биогаз можно производить из энергетических культур – силосной, а также водорослей.

Анаэробное сбраживание органических отходов происходит в две стадии. На стадии кислотообразования сложные органические вещества при температуре 30–35 °С преобразуются в процессе ферментации в органические кислоты (масляную, пропионовую, молочную), которые в дальнейшем превращаются в уксусную кислоту, водород и углекислый газ. Осуществляют первую стадию различные бактерии, среди которых доминируют клостридии, энтеробактерии и



Начало

Содержание



Страница 91 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

стрептококки. На метаногенной стадии с помощью метановых бактерий происходит синтез метана из водорода и углекислого газа, а также из уксусной кислоты (см. раздел 6.2).

**Метантенки** могут работать в двух режимах загрузки:

1) проточной (непрерывной), когда органические отходы загружают через определенные промежутки времени (до 10 раз в сутки), при этом удаляют такое же количество сброженной массы;

2) периодической, когда используют два метантенка, которые загружают по очереди.

Биогаз образуется по истечении 5–10 суток, при достижении максимального количества постепенно снижается до минимума.

**Метаногенез** требует затрат тепловой энергии для его осуществления, поскольку происходит при повышенных температурах до 60 °С с оптимумом 50–53 °С. При эксплуатации метантенка следует поддерживать температурный режим стабильным. В связи с этим экономическая эффективность биометаногенеза зависит от климата региона.

Для ускорения процесса брожения используют следующий подход. Часть сброженной в метантенке биомассы выводят из него и смешивают с вновь поступающим сырьем, при этом разложение органических веществ начнется еще до того, как они попадут в метантенк. Это дает возможность сократить основной цикл с пяти суток до одних.

Для Республики Беларусь, как энергозависимой страны, широкомасштабное внедрение биотехнологического способа получения биогаза имеет стратегическое значение. В каждом районе республики имеется от одного до четырех животноводческих и птицеводческих комплексов, отходы которых могут быть использованы для производства биотоплива. Кроме того, переработка отходов в биогазовых установках позволит ежегодно получать органоминеральные удобрения.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 92 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закреть](#)

## Раздел 10. Биотехнология и экологизация сельского хозяйства

### Использование достижений биотехнологии в сельском хозяйстве.

Освоение и развитие биотехнологических методов привело к переоценке значимости химических методов, широко используемых в сельскохозяйственном производстве. Применение *пестицидов* (гербицидов, инсектицидов, фунгицидов, зооцидов) – химических средств защиты растений – востребовано коммерческими интересами, ориентированными на увеличение выхода продукции растениеводства с единицы посевной площади, ее сохранности и устойчивости к транспортировке. При этом не учитывается существенное снижение таких качеств получаемой продукции, как микроэлементный состав, полезность и безопасность для здоровья потребителей. Кроме того, химические препараты, уменьшая численность вредителей, снижают активность и вызывают гибель полезных видов насекомых, тем самым создают условия для беспрепятственного размножения нейтральных видов, которые могут стать вредными. В районах длительного применения пестицидов происходит рост числа устойчивых к ним вредителей и патогенов, наблюдается нарушение равновесия в экосистемах и биоценозах. Накопление пестицидов в почвах, воде, повышенное их содержание в растениях и поступление в организм человека и животных становится глобальной проблемой. Интенсификация сельского хозяйства в мире связана с наращиванием средств защиты растений. Подобная тенденция существует и в Республике Беларусь. По данным РУП «Институт защиты растений» с 2001 по 2010 гг. объемы применения средств защиты растений возросли в четыре раза. Самую большую долю в структуре пестицидов занимают гербициды. За ними по убыванию следуют фунгициды, протравители и инсектициды. Учет применения средств защиты растений ведет ГУ «Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений».

**Пестицидную нагрузку** в общем количестве действующих веществ (далее – д. в.) пестицидов (кг) на 1 га сельскохозяйственных земель в мире оценивает Организация экономического сотрудничества и развития (OECD) и представляет эти данные на доступных интернет-сайтах, также она отражена в данных EUROSTAT. Республика Беларусь по объемам применения средств защиты растений (1,0 кг д. в. на 1 га пахотных земель и земель под постоянными культурами) находится на уровне таких



Начало

Содержание



Страница 93 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

стран, как Польша, Норвегия, Финляндия, Нидерланды, Венгрия, Норвегия, Чехия с показателями 0,6–1,4 кг д. в. пестицидов/га. Следует отметить, что показатель пестицидной нагрузки, выражаемый в кг д. в. пестицидов, приходящихся на 1 га сельскохозяйственных земель, не обязательно отражает вредное влияние средств химизации на окружающую среду, поскольку потенциальная опасность в большей мере зависит от таких основных факторов, как класс пестицида, токсичность, персистентность, почвенные и погодные условия, способ его внесения. Поэтому не всегда средства защиты растений, применяемые в больших объемах, можно считать более опасными и наоборот.

Приоритетным для Республики Беларусь является развитие органического земледелия, отвечающего принципам формирования «зеленой» экономики. Одним из показателей, который должен быть достигнут к 2030 г. в результате реализации этого направления, является не превышение общей пестицидной нагрузки в 2,5 кг пестицидов на 1 га пашни, в соответствии с постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 апреля 2015 г. № 361 «О некоторых вопросах предотвращения деградации земель (включая почвы)».

Обозначенная проблема химизации сельскохозяйственного производства, обеспокоенность потребителей качеством продуктов и возможным сохранением остатков пестицидов в готовых пищевых продуктах заставляет специалистов в области защиты растений обратить более пристальное внимание на существующие в природе биологические методы борьбы с возбудителями болезней, вредителями и сорной растительностью. Основная задача экологической биотехнологии в сельском хозяйстве заключается в расширении возможности эффективного использования биологических средств защиты растений и животных путем создания и организации производства веществ биогенного происхождения. Усилия биотехнологов также направлены на восстановление и улучшение почв, повышение их плодородия. Особая роль отводится биотехнологическим методам в поддержании разнообразия среды культивируемых видов и сохранения генетических ресурсов в целом.

**Принципы органического (экологического) сельского хозяйства.** К числу важнейших государственных приоритетов относится вопрос продовольственной безопасности и устойчивого развития сельского хозяйства. Стратегия устойчивого обеспечения населения продовольствием для полноценного



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 94 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

питания и здорового образа жизни определена постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 15 декабря 2017 г. № 962 «О Доктрине национальной продовольственной безопасности Республики Беларусь до 2030 г.». Данной Доктриной определены индикаторы экологической устойчивости сельскохозяйственного производства до 2030 г., среди которых: поддержание среднего уровня гумуса в почвах пахотных земель на уровне не менее 2,23 %; доведение до 3,0 % доли в общей площади сельскохозяйственных земель, используемых для получения органической продукции и др.

*Органическая продукция* – продукция, полученная в результате органического производства, т. е. непосредственного создания, переработки, сбора и заготовки с использованием способов, методов, технологий, предусмотренных национальным и международным законодательством в данной области, в том числе техническими нормативными правовыми актами. Производство и обращение органической продукции развиваются для обеспечения населения высококачественными продуктами питания, удовлетворяющими спрос потребителей на товары, которые производятся с применением технологий, безвредных для окружающей среды, и способствуют сохранению, укреплению и восстановлению здоровья населения.

*Органическое (экологическое) сельское хозяйство* представляет собой производственную систему, направленную на поддержание экологически безопасного состояния почвы и экосистем. Выделяют три основных принципа органического сельского хозяйства:

1) *органическое земледелие*, предполагающее использование экологических методов (соблюдение севооборота, применение органических удобрений и биоразлагаемых улучшителей почвы), которые позволяют получить плодородную и сбалансированную почву;

2) органическое растениеводство;

3) органическое животноводство.

Под *органическим растениеводством* понимают возделывание культурных сельскохозяйственных растений, которые не подверглись генно-инженерным изменениям, на незагрязненных химическими и радиоактивными веществами почвах, без применения химических удобрений, химических средств защиты растений.



Начало

Содержание



Страница 95 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**Органическое животноводство** – это разведение животных, для кормления которых используются корма растительного и животного происхождения, а также кормовые добавки минерального и микробного происхождения, полученные в результате производства органической продукции. При этом воспроизводство животных осуществляется естественным способом либо с применением искусственного осеменения при условии недопущения гормонального лечения или трансплантации эмбрионов. Для осуществления ветеринарных мероприятий применяются вещества растительного, животного и микробиологического происхождения, обладающие фармакологической или биологической активностью.

Выше обозначенные требования к процессам производства органической продукции – продуктам растительного, животного и микробиологического происхождения, предназначенные для употребления человеком в пищу или использования в качестве корма для животных – нормативно закреплены в Законе Республики Беларусь «О производстве и обращении органической продукции» от 9 ноября 2018 г. № 144-З.

**Биопестициды: методы получения, принцип действия, область применения.** Создание и применение высокоэффективных биологических средств защиты растений для сельского хозяйства – важнейшая задача, решение которой обеспечивает возможность снижения пестицидной нагрузки на агробиоценозы и улучшения экологической обстановки. В качестве альтернативы химическим пестицидам активно разрабатываются *биопестициды* – биологические средства, представляющие собой микробные препараты, направленные на защиту растений и являющиеся важным резервом повышения их урожайности.

Микробным препаратом называют препарат, содержащий живые клетки отобранных по полезным свойствам микроорганизмов, а также продукты их метаболизма, которые находятся или в культуральной жидкости, или адсорбированы на нейтральном носителе. Таким образом, основу биопестицидов составляют микроорганизмы – бактерии, грибы, вирусы.

При разработке биопестицидов отбор микроорганизма из природных источников проводится с учетом следующих свойств:

1) выраженная антагонистическая и энтомоцидная активность, основанная на биосинтезе антимикробных (против возбудителей как грибных, так и бактериальных болезней) и энтомоцидных метаболитов;



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 96 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)



2) высокая адаптационная способность и конкурентоспособность в микробоценозах, обусловленная низкой чувствительностью к биоценотическим факторам;

3) технологичность, связанная со способностью утилизировать дешевые и недефицитные источники питания, высокой скоростью роста, устойчивостью к бактериофагам;

4) устойчивость к пестицидам;

5) длительное сохранение стабильности фитозащитного действия;

6) экологичны в использовании, так как безвредны для человека и животных, не вызывают появления резистентных форм возбудителей болезней, не образуют токсичных соединений в окружающей среде, не требуют специальных мероприятий по обезвреживанию.

Микробные препараты, разрабатываемые в настоящее время для защиты растений от болезней, вредителей и сорняков, могут быть отнесены к трем основным группам – биоинсектициды, биофунгициды и биогербициды. Технология производства этих препаратов различается в зависимости от природы и физиологических особенностей микроорганизмов.

**Биоинсектициды** созданы на основе выделенных и селективированных штаммов-интродуцентов бактерий либо грибов, инфицирующих насекомых. Энтомопатогенные бактерии принадлежат к семействам *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacillaceae*. Большинство промышленных штаммов принадлежит к роду *Bacillus*, и основная масса препаратов (свыше 90 %) изготовлена на основе спорообразующей бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt), белки которой токсичны для различных насекомых, включая вредителей полей, лесов, садов и виноградников. Биоинсектициды относятся к препаратам кишечного действия. Попадая с пищей в кишечный тракт насекомого, они вызывают его заболевание, а затем гибель. Препараты на основе бактерий проявляют эффективное действие только при высокой пищевой активности насекомого-вредителя. Действие препарата ограничено обработанными участками растений.

Технология получения биоинсектицидов на основе энтомопатогенных бактерий построена на их периодическом аэробном глубинном культивировании в строго



Начало

Содержание



Страница 97 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

стерильных и контролируемых условиях. Цель процесса – получение максимального выхода бактерий и накопление токсина. Технология культивирования включает все типичные стадии для микробиологического производства: выращивание инокулята (посевного материала), промышленное культивирование в ферментере, концентрирование культуральной жидкости, сушка, стандартизация и фасовка готового препарата в виде порошка либо пасты. Рентабельность процесса обеспечивается сравнительно невысокой продолжительностью (36–42 ч) культивирования на недорогом субстрате.

Особую группу составляют биоинсектициды на основе грибов, поражающих широкий круг насекомых. В промышленной биотехнологии наиболее часто используют отдельные штаммы в основном трех родов: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Entomophthora*. Грибные патогены продуцируют разнообразные биологически активные вещества, усиливающие их патогенность. Инфекционным материалом грибов при разработке биопестицидов преимущественно являются конидии. Действие препарата начинается с контакта споры (конидии) с наружными покровами насекомого. Конидии могут развиваться как на поверхности кутикулы, так и прорасти в полость тела, при этом рост сопровождается образованием токсина. Заражение насекомых грибными патогенами, в отличие от микробных препаратов, может происходить на различных стадиях развития. Грибы быстро растут и обладают большой репродуктивной способностью. Происходит повторное заражение особей от контакта с инфицированными.

Основным промышленным способом получения конидий грибов является жидкофазное глубинное культивирование в условиях постоянного перемешивания и принудительной аэрации. Продолжительность культивирования составляет от 3 до 4 суток при температуре 25–28 °С. Культуральную жидкость подвергают сепарации или фильтрации. Выделенный концентрат направляют на распылительную сушку. Готовый биоинсектицид представляет собой порошок, состоящий из спор гриба. Также разработана технология поверхностного культивирования грибов на твердом питательном субстрате. Твердофазная ферментация является более естественной для грибов, поэтому конидии, полученные таким способом, обладают повышенной устойчивостью к таким стрессам, как высушивание и перепады температуры.



Начало

Содержание



Страница 98 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

Перспективность вирусных энтомопатогенных биопестицидов для защиты растений связана с их вирулентностью, узкой специфичностью, высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды и длительным сохранением активности в природе вне организма-хозяина. Поражение насекомых-вредителей вирусными препаратами происходит через пищеварительный тракт. В качестве активного начала такие препараты содержат особые образования – вирионы, внутри которых заключен генетический материал вируса. Попав с кормом в кишечник насекомого вирионы высвобождают ДНК, которая проникает в клетки организма, и в ядрах этих клеток начинается репликация новых вирусов, способных вновь поражать клетки до тех пор, пока насекомое не погибнет.

Отличительной особенностью технологии производства вирусных препаратов является то, что вирусы способны размножаться только в живой ткани организма-хозяина. В связи с этим производство вирусных препаратов начинается с разведения насекомого-хозяина на питательных средах. На стадии личинки заражают вирусом. После 7–9 суток, когда произойдет размножение вирусного материала в значительных количествах, собирают погибших личинок, высушивают, измельчают, затем выделяют вирусный материал и подвергают очистке.

Вследствие достаточной трудоемкости производства вирусные препараты немногочисленны среди биоинсектицидов.

**Биофунгициды** – биологически активные вещества органического происхождения, подавляющие жизнеспособность или вызывающие гибель фитопатогенов. Биологические фунгициды проникают в корни и листья, распространяются по тканям и обеспечивают биологическую защиту растений от бактериозов и микозов. Основу биофунгицидов могут составлять различные микроорганизмы: бактерии *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Enterobacter aerogenes*, микромицет *Trichoderma lignorum*, а также продуцируемые ими в процессе производственного культивирования биологически активные вещества и др.

Антагонистическая активность бактерий обусловлена кроме прямого подавления вредной микробиоты продуцированием веществ, которые повышают иммунитет вегетирующих культур. Механизм действия микромицетов заключается в подавлении развития фитопатогенных микроорганизмов путем воздействия на них прямым паразитированием либо конкуренцией за субстрат, выделением



Начало

Содержание



Страница 99 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

ферментов, антибиотиков и других биологически активных веществ – средств защиты растений от грибных болезней.

*Биогербициды* – препараты на основе микроорганизмов, патогенных для сорных растений, а также их ферментов. Наиболее часто используют грибные фитопатогены и грибные фитотоксины. Штаммы грибов способны утилизировать широкий спектр источников питания, их можно легко культивировать на искусственных питательных средах, что позволяет накапливать инфекционный инокулюм в промышленных масштабах. Кроме того, биогербициды, полученные на основе фитопатогенных грибов, высокоспецифичные, быстро распространяются в популяциях растений-хозяев. Разработаны и бактериальные фитопатогены, которые, в отличие от грибковых, более устойчивы к факторам внешней среды, но в меньшей степени поражают сорные растения.

Биопестициды, включая биогербициды, обладают замедленным действием и зачастую недостаточно высокой биологической эффективностью по сравнению с химическими препаратами.

Остается открытым вопрос, связанный с риском применения препаратов с биогербицидной активностью. В большинстве случаев риски, связанные с использованием биогербицидов, могут включать в себя такие проблемы, как воздействие на другие нецелевые организмы, проявляющиеся в виде конкуренции или замещения полезных микроорганизмов в природных сообществах, отдаленными эффектами действия этих веществ, а также кумуляцией веществ и их производных, которые могут быть токсичными для млекопитающих, и другие эффекты.

**Микробные биопрепараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных.** Для Республики Беларусь актуальность развития отечественного биотехнологического производства и широкого использования биопестицидов обусловлена, с одной стороны, необходимостью получения экологически безопасной сельскохозяйственной продукции и повышения ее конкурентоспособности на мировом рынке, а с другой – высокой стоимостью энергетических и сырьевых ресурсов для производства пестицидов. Важнейшие фундаментальные и прикладные исследования в области микробной биотехнологии в интересах экономики страны проводит Институт микробиологии НАН Беларуси. Учеными разработаны отечественные



Начало

Содержание



Страница 100 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

биопрепараты, производство которых налажено на ряде предприятий республики. Значимым событием явилось открытие 1 марта 2019 г. 1-го пускового комплекса Научно-производственного центра биотехнологий в Институте микробиологии НАН Беларуси по выпуску сухих форм пробиотических препаратов для кормопроизводства с проектной мощностью 20 тонн в год. Центр представляет собой биотехнологическое производство полного цикла, оснащенное современным технологическим оборудованием для ферментации микроорганизмов-продуцентов и получения различных товарных форм биопрепаратов. С вводом 2-го пускового комплекса мощности производства возрастут на 56 тонн жидких комплексных микробных препаратов для растениеводства.

Наиболее перспективные направления микробных биотехнологий для Республики Беларусь: создание биопрепаратов для сельского хозяйства (средства защиты растений; препараты, повышающие плодородие и урожайность сельскохозяйственных растений; пробиотики для сельскохозяйственных животных и птиц; консерванты для заготовки кормов) с использованием микроорганизмов; создание препаратов для пищевой и текстильной промышленности, лекарственных препаратов и диагностических средств, биотехнологии для защиты окружающей среды и ряд других. В настоящее время налажен выпуск ряда разрешенных к применению отечественных биопрепаратов инсектицидного и биофунгицидного действия.

Для минимизации риска при применении **биопестицидов**, создаваемые новые биопрепараты в обязательном порядке проходят испытания на токсичность для человека и других нецелевых организмов. Проведение исследований направлено на:

- 1) разработку методов обнаружения следовых количеств токсичных метаболитов биопестицидов в растениях и других объектах;
- 2) определение нормы расхода, концентрации, времени экспозиции, способов обработки препаратами, с целью минимизировать или исключить накопления их в пищевых цепях человека;
- 3) разработку диагностических тестов необходимых для регистрации и решения вопросов экологической безопасности биопестицидов;
- 4) разработку высокоточных методов анализа и оценки биохимического и токсического действия биопрепаратов.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 101 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Раздел 11. Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров

**Экологические проблемы, связанные с аккумуляцией в биосфере синтетических пластиков.** Одним из существенных техногенных открытий конца XIX и начала XX в. стало изобретение *пластмассы* (пластика) – искусственного материала, образуемого путем химических превращений (полимеризации и поликонденсации) из углеводородного (ископаемого) и природного сырья (биомассы). Широкое распространение синтетические пластики получили из-за ценных физико-химических и технологических свойств – это высокая прочность и износостойкость при малой плотности, низкая тепловая и электрическая проводимость, влагостойкость, устойчивость к действию кислот и оснований, способность сохранять приданную форму и ряда других, обусловленных различными химическими добавками при их синтезе свойствами. Несмотря на имеющиеся недостатки – плавление при нагревании с выделением токсических веществ, постепенное разрушение под действием света, воздуха и температуры – производство пластмасс и многоцелевое их использование в мире продолжает расти, в то время как их переработка значительно отстает, что порождает проблему пластикового загрязнения. В первую очередь, пластиковое загрязнение связано с расширением свалок и накоплением в окружающей среде изделий из небiorазлагаемых пластмасс. Если в 60-х гг. пластмассы составляли менее 1 % твердых бытовых отходов, то в начале 2000-х гг. их доля возросла более чем в 10 раз. Существенное изменение состава отходов обусловлено увеличением производства изделий из пластика, предназначенных для одноразового использования. Кроме того, огромный выпуск различных продуктов из трудно разрушаемых микроорганизмами синтетических полимерных материалов создает долговременную глобальную экологическую проблему.

В настоящее время для снижения негативных последствий аккумуляции в биосфере синтетических пластиков разрабатывается два основных подхода. Первый подход связан с утилизацией пластмасс путем сжигания, пиролиза и рециклизации. Однако, сжигание и пиролиз, происходящие при высокой температуре, являются дорогостоящими процессами, кроме того, добавки, входящие



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 102 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

в состав композиционных пластмасс, при термическом разложении приводят к образованию высокотоксичных веществ. Рециклизация, т. е. вторичная переработка пластмасс, в определенной степени решает вопрос утилизации пластика, при этом важна сортировка отходов по виду пластика.

В Республике Беларусь зарегистрировано около 100 организаций, перерабатывающих отходы пластмасс. При этом перерабатываются в основном отходы полиэтилентерефталата (ПЭТ-бутылки), полиэтилена (ПЭВД/PEHD, ПЭНД/PELD), а также полипропилена (ПП/PP). Кроме того, в республике есть мощности по переработке и других видов пластика: полистирола (ПС/PS), поливинилхлорида (ПВХ/PVS), АВС-пластика, но они либо ограничены, либо позволяют перерабатывать только чистые технологические отходы пластмасс.

Таким образом, снижение проблемы накопления отходов из синтетических пластиков возможно при сокращении использования пластмасс, за счет расширения объемов их вторичной переработки, а также переход на *биопластик* – полимерный материал, полученный из природного сырья и подвергающийся биоразложению.

### **Биопластики: направления разработки, перспективы использования.**

Биоматериалы представляют собой важную новую тенденцию, которая может помочь избежать загрязнения, вызванного неразлагающимися пластмассами. Можно выделить три направления, в которых проводятся разработки биопластиков.

1. Получение фоторазрушаемых полимерных материалов, деструкция которых начинается под действием света, а затем остатки разрушаются почвенными микроорганизмами.

2. Введение в композицию полимерных материалов соединений, легко утилизируемых микроорганизмами.

В Институте механики металлополимерных систем имени В. А. Белого НАН Беларуси разработана пленка композиционного состава на основе кукурузного крахмала, полиэтилена высокого давления и пластификатора. Такая пленка подвергается активной деструкции почвенными микроорганизмами как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

3. Получение биodeградируемых полимерных материалов путем микробного синтеза.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 103 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Заккрыть](#)

Примером могут служить полигидроксиалканоаты (ПГА/РНА) – полимеры, используемые для получения биodeградируемых пластмасс, в частности в производстве упаковочных материалов. Синтезировать ПГА способны некоторые археобактерии (*Archaeobacteria*) и определенные грамположительные и грамотрицательные бактерии, прежде всего *Alcaligenes eutrophus*, которые используют эти соединения как внутриклеточный источник углерода и энергии. Продуценты ПГА накапливают эти полиэфиры внутриклеточно в виде подвижных, аморфных, жидких гранул, которые могут наблюдаться как светоотражающие отложения или электросветящиеся тельца.

Из всех ПГА наиболее полно изучен и применяется в промышленном масштабе биосинтез поли- $\beta$ -гидроксibuтирата. Однако бактерии, синтезирующие его, имеют малую скорость роста и используют ограниченное число источников углерода, что делает производство дорогим. При переносе генов биосинтеза этого полимера в *Escherichia coli* получены быстрорастущие трансформанты, накапливающие поли- $\beta$ -гидроксibuтират до 95 % от сухой массы клеток.

Биопластики по способу получения классифицируют на три группы:

- биопластики, производимые на основе природных полимеров (крахмала, целлюлозы) возобновляемого сырья;
- биопластики, производимые на основе природных полимеров (с общим названием ПГА), синтезированных микроорганизмами;
- биопластики, производимые химическим синтезом на основе природных мономеров. Примером является полилактид (PLA).



Начало

Содержание



Страница 104 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



# Лабораторный практикум

## Тема 1. Методы генетического улучшения биологических объектов

1. Рассмотрите таблицу 1 и определите структуру и тип образуемых фрагментов ДНК (фрагмент ДНК с «липкими» или «тупыми» концами).

Таблица 1 – Нуклеотидные последовательности, расщепляемые некоторыми рестриктазами

Рестриктаза	Сайт узнавания (рестрикции) ДНК	Рестриктаза	Сайт узнавания (рестрикции) ДНК
BamI	5'-Г↓Г-А-Т-Ц-Ц-3' 3'-Ц-Ц-Т-А-Г↑Г-5'	HpaI	5'-Г-Т-Т↓А-А-Ц-3' 3'-Ц-А-А↑Т-Т-Г-5'
EcoRI	5'-Г↓А-А-Т-Т-Ц-3' 3'-Ц-Т-Т-А-А↑Г-5'	HpaII	5'-Ц-Ц↓Г-Г-3' 3'-Г-Г↑Ц-Ц-5'
HaeIII	5'-Г-Г↓Ц-Ц-3' 3'-Ц-Ц↑Г-Г-5'	NotI	5'-Г↓Ц-Г-Г-Ц-Ц-Г-Ц-3' 3'-Ц-Г-Ц-Ц-Г-Г-Ц↑Г-5'
HindIII	5'-А↓А-Г-Ц-Т-Т-3' 3'-Т-Т-Ц-Г-А↑А-5'	SmaI	5'-Ц-Ц-Ц↓Г-Г-3' 3'-Г-Г-Г↑Ц-Ц-Ц-5'

2. Имеется последовательность из 37 нуклеотидных пар двухцепочной ДНК следующего состава:

5' ЦТГААТТАГГАТЦЦАГГЦААТАГТГТГААТТЦАЦАТГ 3'

3' ГАЦТТААТЦЦТАГГТЦЦГТТАТЦАЦАЦТТААГТГТАЦ 5'

С помощью какой рестриктазы и на сколько частей можно разрезать эту ДНК?

3. Рестрикционный фермент Hpa I разрезает ДНК по последовательности ЦЦГГ. Насколько часто этот фермент будет разрезать двухцепочечную ДНК [4]?

4. Если последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК распределена случайным образом, то какова будет средняя длина фрагментов при разрезании ДНК рестриктазами, узнающими гексамерную последовательность?

5. Гаплоидный геном человека содержит около  $3 \times 10^9$  п. н. ДНК. Если вы порежете ДНК человека рестрикционным ферментом EcoRI, то сколько различных рестрикционных фрагментов будет получено?



Начало

Содержание



Страница 105 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

6. Геном кишечной палочки, представляющий собой одну кольцевую хромосому, содержит  $4,7 \times 10^6$  п. н. Его разрезали рестриктазой *NotI*. Сколько различных рестрикционных фрагментов будет получено [4]?

7. Ниже приведены последовательности двух фрагментов ДНК, выделенных из организмов разных видов:

- а) 5' АГЦАТАЦТГТГААТТЦАЦА 3'  
3' ТЦГТАТГАЦАЦТТААГТТГТ 5';
- б) 5' АТГААТТЦТТАГЦАТАЦ 3'  
3' ТАЦТТААГААТЦГТАТГ 5'.

С помощью каких ферментов можно получить гибридную молекулу ДНК из этих фрагментов?

8. Кольцевая плазмида pSC101 несет только один участок расщепления рестриктазой *EcoRI*. Какой из приведенных ниже фрагментов ДНК можно клонировать при помощи этой плазмиды [4]?

- а) 5' ЦЦГААТТЦАГАТГГТААГГЦААТАГТГТГААТТЦАЦА 3'  
3' ГГЦТТААГТЦТАЦАТТЦГТТАТЦАЦАЦТТААГТТГТ 5';
- б) 5' ЦЦТТАГГЦЦТГААТТААГГЦАТАГТГТГААТЦАЦАТГ 3'  
5' ГГААТЦГГАЦТТААТТЦГТТАТЦАЦАЦТТАГТГТАЦ 5'.

9. При помощи рестриктазы *BamI* получен фрагмент двухцепочной ДНК с «липкими» концами. Можно ли встроить данный фрагмент в плазмиду pBR322 (рисунок 11)? Как подтвердить, что фрагмент чужеродной ДНК встроился в плазмиду pBR322?

10. Имеется фрагмент двухцепочной ДНК следующего состава:
- 5' ТАГГАТЦАТТАААТАГТГГАТЦЦГТЗ'  
3' АТЦЦТАГГТААТТТАТЦТЦЦТАГГЦА 5'.

Можно ли встроить данный фрагмент в плазмиду pBR322 [4]?

11. В плазмиду pBR322 встроены фрагмент чужеродной ДНК. Трансформированные такой плазмидой бактерии растут на питательной среде с ампицилином, но не растут на питательной среде, содержащей тетрациклин. Какой известной вам рестриктазой можно вырезать чужеродную ДНК из плазмиды [4]?



Начало

Содержание

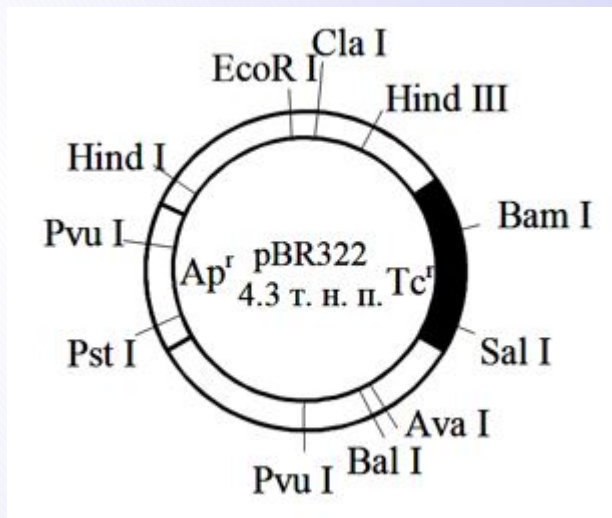


Страница 106 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



**Рисунок 11** – Вектор pBR322, схема расположения сайтов рестрикции:  
 $Ap^r$  и  $Tc^r$  – гены устойчивости к ампициллину и тетрациклину [4]

12. Рестриктазы  $Bam$ HI и  $Bgl$ II плавят последовательности Г-ГАТЦЦ и Т-ГАТЦА соответственно. Можно ли включить в сайты рестрикции  $Bam$ HI фрагменты ДНК, полученные  $Bgl$ II-рестрикцией? Если да, то почему? Если используемая плаزمида (вектор) содержит один сайт для рестрикции  $Bam$ HI, то на какой питательной среде можно осуществить селекцию бактерий, содержащих эту плазмиду?

13. На рисунке 12 показаны стадии формирования участка **рекомбинантной ДНК**. Подберите термины из приведенного списка, соответствующие буквенным обозначениям: ДНК-полимераза, плазмиды, плазмиды с «липкими» концами, ДНК-лигаза, рестриктаза, рекомбинантная ДНК, обратная транскриптаза.

14. Если взять для создания рекомбинантной ДНК ферменты от кишечной палочки, ДНК от картофеля, **плазмидный вектор** от агробактерии, то белки какого организма будут синтезироваться в трансформированной клетке реципиента?



Начало

Содержание

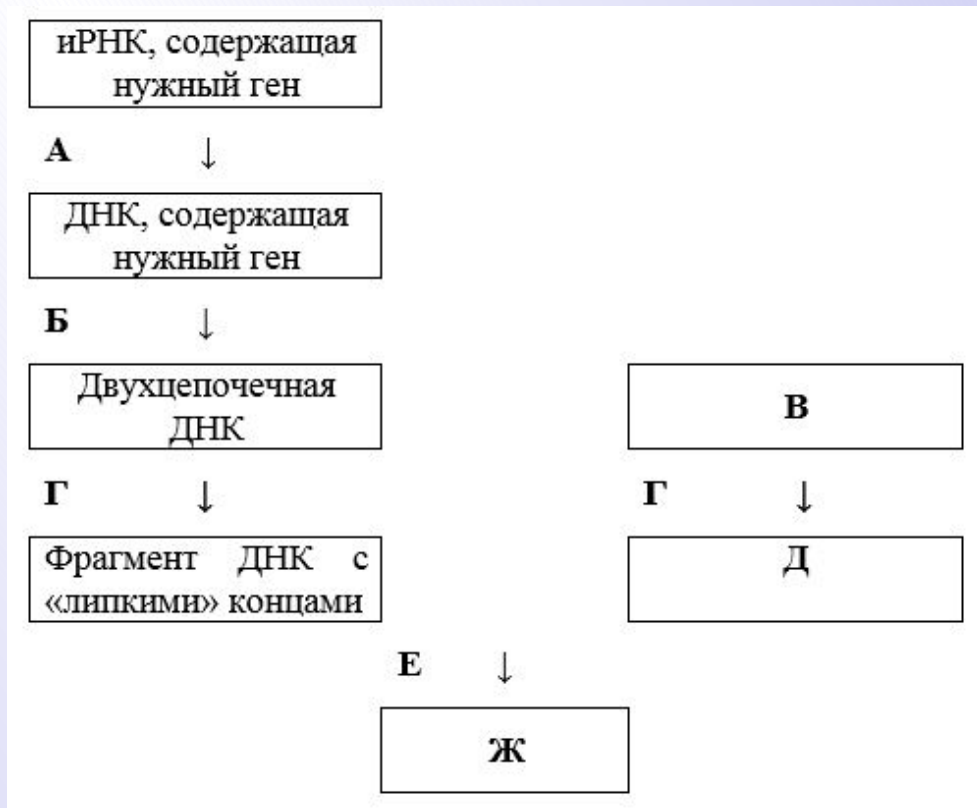


Страница 107 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



**Рисунок 12** – Этапы формирования рекомбинантной ДНК

15. Используя конспекты лекций и рекомендованную литературу [9; 10], проанализируйте рисунок 13 и внесите подписи вместо цифр.

16. Построить карту расположения участков узнавания эндонуклеаз рестрикции на линейной ДНК, если известно, что при действии на эту ДНК ферментом EcoR1 получаются три фрагмента длиной 850, 500 и 300 п. н., а BamH1 разрезает эту ДНК на фрагменты 950, 600 и 100 п. н. При совместном расщеплении данной ДНК указанными рестриктазами получается следующий набор фрагментов: 600, 400, 300, 250 и 100 п. н. [6].



Начало

Содержание



Страница 108 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

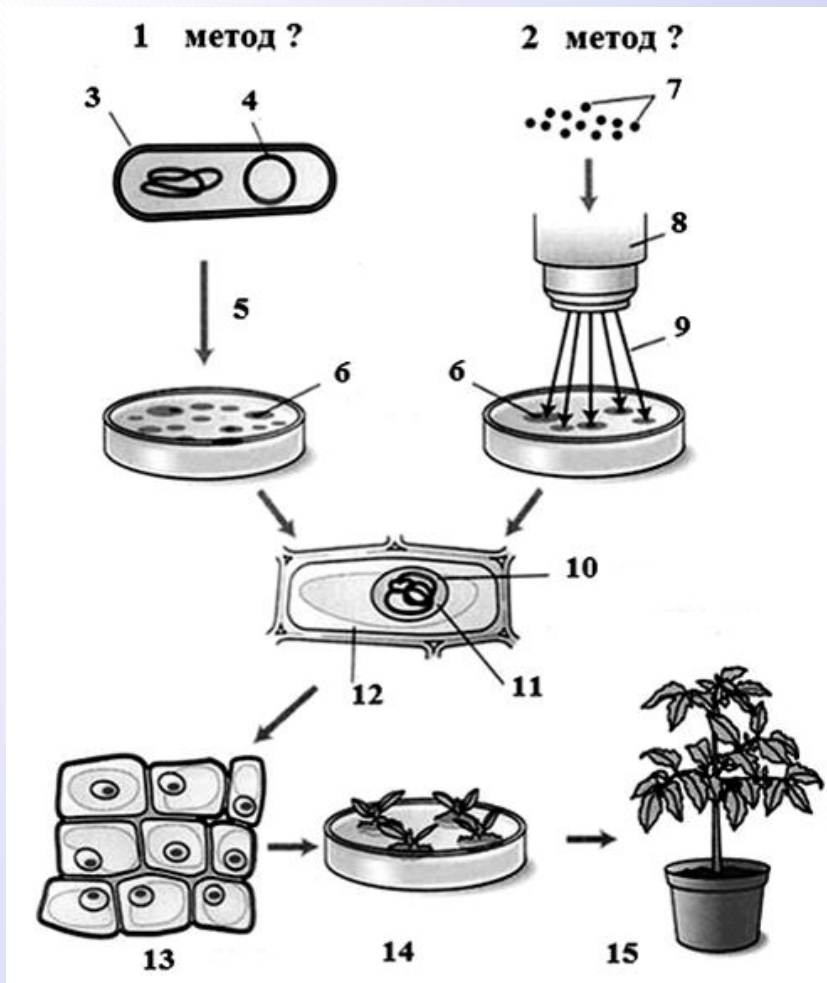


Рисунок 13 – Методы и этапы трансгеноза растений



Начало

Содержание



Страница 109 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

## Вопросы и задания для самоконтроля

1. Охарактеризуйте основные этапы технологии о конструирования рекомбинантных молекул ДНК.
2. Перечислите основные типы ферментов, использующихся в технике **генетической инженерии**, дайте краткую характеристику их предназначения.
3. В чем заключается ферментативное расщепление ДНК? Какова его технология?
4. Все ли **рестриктазы** производят ступенчатые разрывы в ДНК и зависит ли структура «липких» концов от вида рестриктазы?
5. Многие штаммы бактерий обладают одинаковыми ферментами, практически одинаково обеспечивающими их метаболизм. Между тем нуклеотидная специфичность систем рестрикции-модификации бактерий различна. Можете ли вы объяснить это явление?
6. Как производят разделение фрагментов ДНК после рестрикции?
7. Что такое **рестрикционные карты**? Каково их значение?
8. Что такое **вектор** и каковы основные характеристики векторов?
9. Какие биологические объекты являются исходным материалом для векторов?
10. Что такое **клонирование** генов?
11. Перечислите известные вам векторы, используемые в исследованиях по генной инженерии? Что является определяющим при выборе **вектора для клонирования**?
12. Каковы особенности **плазмиды** pBR322, позволяющей использовать ее в качестве вектора?
13. Охарактеризуйте особенности векторных систем для эукариотических организмов.
14. Каким образом соединяют клонируемый фрагмент ДНК с генетическим вектором?
15. Какова роль **ДНК-лигазы** в генетической инженерии?
16. Какими способами передается генетическая информация в естественных условиях клетками прокариот и эукариот?



Начало

Содержание



Страница 110 из 144

Назад

На весь экран

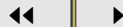
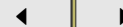
Закрыть

17. Охарактеризуйте основные методы совершенствования био-объектов.
18. На каком принципе основана селекция бактериальных клеток, содержащих **рекомбинантные молекулы ДНК**? Приведите один из примеров такой селекции.
19. Можно ли считать штамм *E. coli*, содержащий ген инсулина человека, новым видом бактерий?
20. Охарактеризуйте основные этапы создания **трансгенных организмов**.



Начало

Содержание



Страница 111 из 144

Назад

На весь экран

Закреть

## Тема 2. Особенности культивирования биологических объектов

### Задания

1. Ознакомьтесь с основными принципами организации биотехнологической лаборатории и правилами работы в ней.
2. Ознакомьтесь с устройством и работой основного оборудования, используемого для стерилизации (автоклава, сухожарового шкафа (электропечи)) и создания асептических условий во время работы со стерильными объектами (ламинарный шкаф).
3. Подготовьте лабораторную посуду, инструменты и вспомогательные материалы для стерилизации.
4. Ознакомьтесь с составом, техникой приготовления и стерилизации питательных сред, со стерилизацией исходного материала.
5. Рассмотрите рисунок 14 и назовите фазы (1–5) ростового цикла популяции клеток. Почему культивируемые клетки необходимо пассировать на свежие питательные среды?

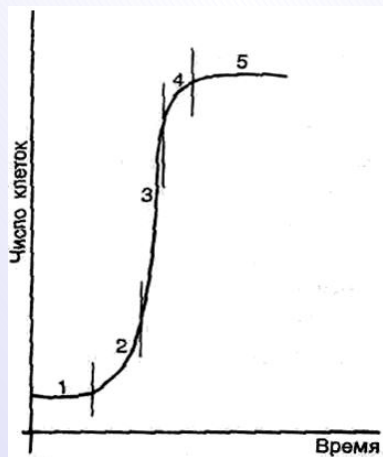


Рисунок 14 – Кривая ростового цикла популяции культивируемых клеток [1, с. 16]



Начало

Содержание



Страница 112 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



6. Выполните следующую лабораторную работу.

### Лабораторная работа «Микроклональное размножение пробирочных растений»

**Материалы и оборудование:** микроклоны растений; колбы со стерильной средой для активации апикальных и пазушных меристем; набор стерильных инструментов (пинцеты, скальпель); ламинарный бокс; камера для роста растений.

#### **Ход работы:**

1. В стерильных условиях ламинар-бокса разделите исходный побег растения на фрагменты с двумя и более пазушными почками.
2. Перенесите с помощью пинцета фрагменты побегов на питательную среду в колбы.
3. Проведите в течение 21 дня визуальные наблюдения за развитием пазушных и адвентивных побегов.
4. Сделайте соответствующие выводы.

#### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Каковы основные этапы подготовки биотехнологической лаборатории к работе?
2. В чем заключаются основные правила работы в биотехнологической лаборатории?
2. Чем отличается дезинфекция от стерилизации?
3. Как стерилизуют питательные среды и инструменты?
4. Назовите основные принципы создания питательных сред, используемых в биотехнологии?
5. Что такое **тотипотентность** растительной клетки? Как она реализуется в **условиях in vitro**?
6. Что такое **дедифференцировка** клеток и почему она является основой каллусогенеза?



Начало

Содержание



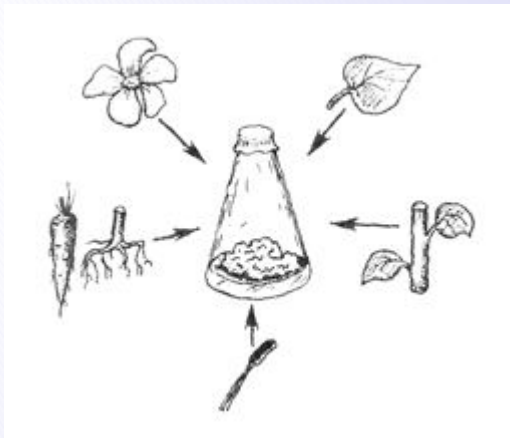
Страница 113 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

7. Пользуясь рисунком 15, назовите, из какого исходного материала и каким образом можно получить **каллусную ткань**? Что представляет собой каллусная ткань? Каковы возможности ее использования в биотехнологии?



**Рисунок 15** – Получение культуры каллусной ткани из различных эксплантов [9, с. 16]



Начало

Содержание



Страница 114 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

## Тема 3. Типы загрязнений окружающей среды

### Задания

1. Охарактеризуйте основные типы **загрязнения окружающей среды**.
2. Обоснуйте роль **экологической биотехнологии** в решении задач охраны окружающей среды.
3. Ознакомьтесь с основными методическими подходами определения **ПДК** в различных средах и расскажите в чем их особенности.
4. Выполните следующую лабораторную работу.

### Лабораторная работа

**«Определение количества выбросов в атмосферу загрязняющих веществ, поступающих от автотранспорта, расчетным методом»**

**Материалы и оборудование:** калькулятор, секундомер.

**Ход работы:**

1. Определите число единиц автотранспорта ( $N_i$ , шт.) (легковые автомобили, грузовые автомобили, автобусы, в том числе микроавтобусы), проезжающего по участку дороги ул. Бульвар Космонавтов длиной 300 м вблизи главного корпуса БрГУ имени А. С. Пушкина за 20 мин.

2. Рассчитайте общий путь ( $L_i$ , км), пройденный установленным числом единиц автотранспорта каждого типа за 20 мин по формуле (1):

$$L_i = N_i \cdot l, \quad (1)$$

где  $i$  – обозначение типа автотранспорта ( $i = 1$  для легковых автомобилей,  $i = 2$  для грузовых автомобилей,  $i = 3$  для автобусов);  $l$  – длина участка (по условию 0,3 км);  $N_i$  – число автомобилей каждого типа за 20 мин.

3. Рассчитайте количество сожженного топлива ( $Q_i$ , л) по средним нормам расхода топлива при движении для автотранспорта каждого типа по формуле (2):

$$Q_i = L_i \cdot q_i \quad (2)$$

где  $q_i$  – средний расход топлива в л на 1 км (0,11 л – для легковых автомобилей, 0,32 л – для грузовых автомобилей, 0,41 л – для автобусов).



Начало

Содержание



Страница 115 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

4. Определите объемы выбросов ( $V$ , л) трех загрязняющих веществ (угарного газа, углеводородов и диоксида азота), образующихся при сгорании в двигателе автотранспорта в зависимости от вида горючего, учитывая, что количество автомобилей с бензиновым двигателем в Беларуси составляет около 76 %, а с дизельным – 24 % [2]. Эмпирические коэффициенты ( $K$ ), определяющие выброс вредного компонента в выхлопных газах автомобилей в зависимости от вида топлива, приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Эмпирические коэффициенты выброса загрязняющих веществ

Вид топлива	Значение коэффициента ( $K$ )		
	$CO_2$	$C_5H_{12}$	$NO_2$
Бензин	0,6	0,1	0,04
Дизельное топливо	0,1	0,03	0,04

Массу загрязняющих веществ ( $m$ , г) рассчитайте по формуле (3):

$$m = V \cdot M / 22,4, \quad (3)$$

где  $M$  – молекулярная масса (для  $CO$  – 28, для углеводородов (пентана) – 72, для  $NO_2$  – 46).

5. Полученные результаты расчетов оформите в виде таблицы 5.

Таблица 5 – Схема записи результатов

Расчетный показатель	Тип автотранспорта		
	легковые автомобили	грузовые автомобили	автобусы
Число единиц ( $N_i$ , шт.)			
Общий путь ( $L_i$ , км)			
Расход топлива ( $Q_i$ , л):			
– общий			
– бензин			
– дизельное топливо			



Начало

Содержание



Страница 116 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть



Количество выбросов угарного газа ( $V$ , л/ м, г): <ul style="list-style-type: none"><li>– бензин</li><li>– дизельное топливо</li><li>– всего</li></ul>			
Количество выбросов углеводородов (пентана) ( $V$ , л/ м, г): <ul style="list-style-type: none"><li>– бензин</li><li>– дизельное топливо</li><li>– всего</li></ul>			
Количество выбросов диоксида азота ( $V$ , л/ м, г): <ul style="list-style-type: none"><li>– бензин</li><li>– дизельное топливо</li><li>– всего</li></ul>			

6. Сделайте вывод об экологической нагрузке автотранспорта на исследуемом участке за фиксированный период времени (20 мин), сравнив фактическую концентрацию загрязняющих веществ с максимальной разовой величиной ПДК, приведенной в постановлении Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Об утверждении и введении в действие нормативов предельно допустимых концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе и ориентировочно безопасных уровней воздействия загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных пунктов и мест массового отдыха населения» от 8 ноября 2016 г. № 113.

7. Предложите возможные подходы, содействующие решению экологических проблем, связанных с автотранспортом.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Какие виды **ПДК** одного и того же вещества выделяют для обеспечения санитарно-допустимых условий окружающей среды?

Начало

Содержание



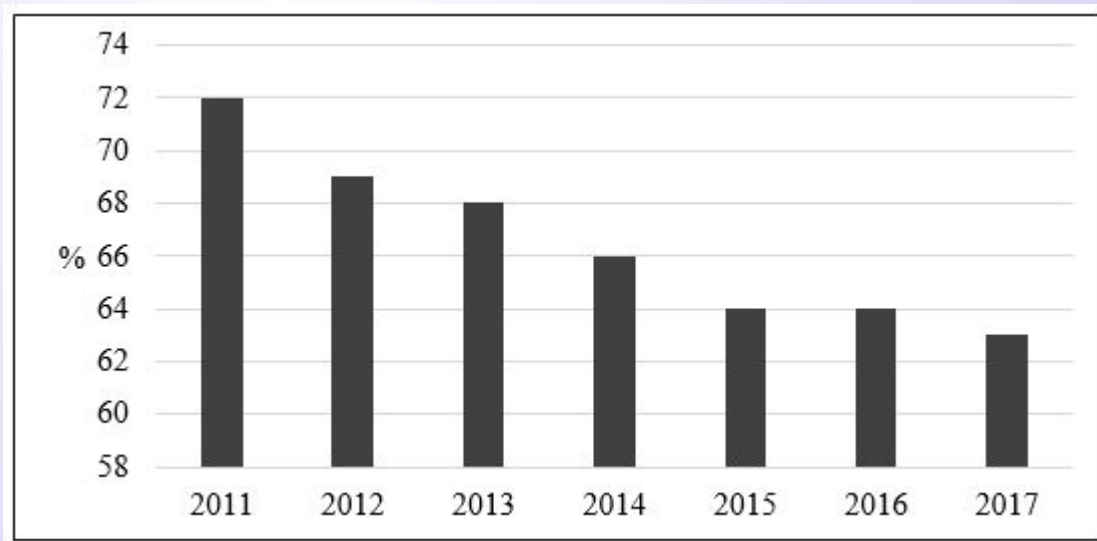
Страница 117 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

2. Проанализируйте данные, представленные Национальным статистическим комитетом Республики Беларусь, об удельном весе выбросов загрязняющих веществ от мобильных источников в общем объеме выбросов вредных веществ в атмосферный воздух (рисунок 16). Сделайте вывод о вкладе автотранспорта в загрязнение окружающей среды.



**Рисунок 16** – Динамика выбросов загрязняющих веществ в атмосферу от транспортных средств с 2011 по 2017 г.

### Темы для реферативных сообщений

1. **Нефть** и отходы ее переработки как один из основных факторов загрязнения окружающей среды.
2. Применение биологических методов для оценки качества окружающей среды.
3. Экологическая токсикология.



Начало

Содержание



Страница 118 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

## Тема 4. Аэробная и анаэробная очистка сточных вод. Образование биогаза

### Задания

1. Охарактеризуйте основные виды естественной очистки **сточных вод**.
2. Составьте схему одноступенчатой очистки сточных вод.
3. Охарактеризуйте процесс микробной очистки в **аэротенке**.
4. Опишите структуру биоты **активного ила** и охарактеризуйте взаимоотношения между микроорганизмами, его составляющими.
5. Определите преимущества **анаэробной очистки сточных вод**.
6. Выполните следующую лабораторную работу.

### Лабораторная работа

#### «Микроорганизмы активного ила»

**Материалы и оборудование:** предметные и покровные стекла, пипетки, световой микроскоп, проба активного ила.

#### **Ход работы:**

1. На предметное стекло нанесите 2–3 капли пробы активного ила, покройте покровным стеклом.
2. Проведите определение качественного состава микроорганизмов активного ила с помощью светового микроскопа.
3. Сделайте вывод о систематической принадлежности биоты активного ила.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Какие типы классификации сточных вод существуют?
2. Какие виды микроорганизмов часто встречаются в сточных водах?
3. Что такое **биофильтр** и для чего он предназначен?
4. Что представляют собой окситенки и в каких случаях они используются?



Начало

Содержание



Страница 119 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

## Темы для реферативных сообщений

1. Малые установки для локальных очистных сооружений.
2. Технологические схемы многостадийной биологической очистки сточных вод.
3. Анаэробные реакторы первого и второго поколения.
4. Факторы, влияющие на эффективность функционирования анаэробных реакторов.
5. Способы утилизации активного ила.
6. **Биотопливо третьего поколения.**



Начало

Содержание



Страница 120 из 144

Назад

На весь экран

Закреть



## Тема 5. Биоремедиация почв

### Задания

1. Охарактеризуйте методы очистки почв и перечислите преимущества биоремедиации.
2. Ознакомьтесь с алгоритмом обоснования ПДК вредных веществ в почве.
3. Ознакомьтесь с процедурой биологического тестирования почвы.
4. Обоснованно аргументируйте факторы, влияющие на выбор способа ремедиации почв.

### Вопросы и задания для самоконтроля

1. Что такое биоремедиация почв и в каких случаях необходимо ее применение?
2. Что такое ремедиация почв *in situ*?
3. Каковы способы ремедиации почв *ex situ*?
4. В чем состоят преимущества и недостатки фиторемедиации?

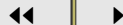
### Темы для реферативных сообщений

1. Биопрепараты для ликвидации нефтяных загрязнений.
2. Биопрепараты для рекультивации территорий и восстановления плодородия почв.



Начало

Содержание



Страница 121 из 144

Назад

На весь экран

Закреть

## Тема 6. Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров

### Задания

1. Определите экологические проблемы, связанные с аккумуляцией в биосфере синтетических **пластиков**.
2. Ознакомьтесь с информацией оператора вторичных материальных ресурсов по сортировке изделий из синтетических полимеров, на основании которой заполните таблицу 6.

Таблица 6 – Синтетические полимеры

Обозначение полимера	В каких изделиях можно встретить	Использование после переработки

3. Аргументируйте перспективность использования **биопластиков**.
4. Выполните следующую лабораторную работу.

### Лабораторная работа «Деполимеризация крахмала»

**Материалы и оборудование:** 100 мл 0,1 % крахмального клейстера, 20 % HCl, раствор Люголя, электроплитка, термостойкие колбы, мерный цилиндр, стакан химический, штатив с пробирками, пипетки.

#### **Ход работы:**

1. Поставьте в штатив шесть пробирок. Отлейте в первую пробирку 3 мл крахмального клейстера, широко применяемого для отделки тканей, изготовления клея и других технологических операциях. Добавьте в колбу с оставшимся (97 мл) крахмальным клейстером 5 мл 20 % HCl и нагрейте на плитке. После закипания отлейте из колбы 3 мл во вторую пробирку. Продолжите кипячение содержимого колбы, отливая из нее через каждые 5 минут по 3 мл в следующие пробирки [3, с. 176]. Термолиз и кислотный гидролиз приводят к случайной деполимеризации крахмала с образованием различных соединений – декстринов, представляющих



Начало

Содержание



Страница 122 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

собой продукты частичного расщепления крахмала. Дайте пробам в пробирках остыть, после чего разбавьте их водой.

2. Контроль расщепления крахмала осуществите йодом. Добавьте в каждую пробирку по 5 капель раствора Люголя. Окрашивание проб будет зависеть от степени полимеризации линейных декстринов. Если окрашивание проб йодом отсутствует, гидролиз можно считать окончанным.

3. Опишите полученные результаты опыта и сделайте вывод о причинах изменения окраски растворов, указав время, в течении которого произошел полный гидролиз крахмала.

5. На основании выполненной лабораторной работы спрогнозируйте процесс разложения биопластиков, созданных на основе крахмала.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Какой ценный энергетический носитель образуется при переработке твердых отходов?

2. От чего зависит биокаталитический потенциал микробного сообщества свалок бытовых отходов?

3. Каковы сходства и отличия биопластика от пластмассы?

3. В чем заключаются перспективы производства биопластика из возобновляемых источников сырья?

### **Темы для реферативных сообщений**

1. Создание методами генетической инженерии штаммов микроорганизмов с повышенной способностью к деструкции полимерных материалов.

2. Способы получения биопластика.

3. Биопластик в медицине.



*Начало*

*Содержание*



*Страница 123 из 144*

*Назад*

*На весь экран*

*Закреть*

## Список использованной литературы

1. Абрамова, З. И. Введение в генетическую инженерию : учеб. пособие / З. И. Абрамова. – Казань : Казан. ун-т, 2008. – 169 с.
2. Безопасность жизнедеятельности человека : учеб.-метод. пособие : в 3 ч. / И. А. Телеш [и др.]. – Минск : БГУИР, 2017. – Ч. 1. : Основы экологии и энергосбережения. – 94 с.
3. Биотехнология : учеб. и практикум для акад. бакалавриата : в 2 ч. / под общ. ред.: Н. В. Загоскиной, Л. В. Назаренко. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : Изд-во Юрайт, 2018. – Ч. 2. – 219 с.
4. Гончаренко, Г. Г. Основы генетической инженерии : метод. пособие / Г. Г. Гончаренко ; Гомел. гос. ун-т им. Ф. Скорины ; отв. ред. Л. В. Хотылева. – Гомель : ГГУ им. Ф. Скорины, 2003. – 118 с.
5. Ксенофонов, Б. С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии : учеб. пособие / Б. С. Ксенофонов. – М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2017. – 224 с.
6. Милютина, И. Л. Генная инженерия промышленно-важных продуцентов и целевых продуктов : метод. указания к самост. работе / И. Л. Милютина. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2011. – 19 с.
7. Принципы и методы экологической токсикологии / Д. Б. Гелашвили [и др.] ; под ред. проф. Д. Б. Гелашвили. – Н. Новгород : Изд-во ННГУ, 2016. – 702 с.
8. Ручай, Н. С. Экологическая биотехнология : учеб. пособие для студентов специальности «Биоэкология» / Н. С. Ручай, Р. М. Маркевич. – Минск : БГТУ, 2006. – 312 с.
9. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / В. С. Шевелуха [и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 2003. – 469 с.
10. Шмид, Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид ; пер. с нем. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2016. – 325 с.

## Тестовые задания

Тема «Объекты биотехнологии и ее сырьевая база»

Тема «Методы генетического улучшения биологических объектов»

Тема «Особенности культивирования биологических объектов»

Тема «Получение и перспективы использования биоразлагаемых биополимеров»



Начало

Содержание



Страница 124 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

## Вопросы к экзамену

1. Экологическая биотехнология как раздел общей биотехнологии, ее основные задачи.
2. Этапы возникновения и перспективы развития биотехнологии.
3. Роль экологической биотехнологии в решении проблем экологии.
4. Основные тенденции и перспективные направления развития биотехнологии в Республике Беларусь.
5. Характеристика объектов биотехнологии.
6. Имобилизованные биообъекты, преимущества их использования в биотехнологии.
7. Сырьевая база биотехнологии. Требования, предъявляемые к питательным субстратам, используемым в биотехнологических процессах.
8. Субстраты для культивирования биологических объектов.
9. Основные этапы технологии рекомбинантных ДНК.
10. Совершенствование биообъектов методами индуцированного мутагенеза, селекции, клеточной инженерии.
11. Способы улучшения объектов биотехнологии методами генетической инженерии.
12. Обобщенная схема эксперимента по генетической инженерии.
13. Технология получения трансгенных организмов и их практическое использование.
14. Устройство и основные конструкторские детали ферментеров и биореакторов.
15. Кривая роста популяции клеток, характеристика отдельных фаз.
16. Особенности культивирования клеток высших растений, клеток и тканей животных.
17. Общее понятие о загрязнении окружающей среды и предельно допустимой концентрации (ПДК) отдельных веществ-загрязнителей.
18. Нефть и отходы ее переработки как один из основных факторов загрязнения окружающей среды.
19. Основные региональные экологические проблемы Республики Беларусь.
20. Экологические проблемы Брестской области.



Начало

Содержание



Страница 125 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

21. Применение биологических методов для оценки качества окружающей среды. Экологические основы биоиндикации.
22. Биоиндикаторы и их чувствительность.
23. Биоиндикация в экологическом мониторинге. Объекты биоиндикации.
24. Биотестирование как метод оценки токсичности химических веществ и природных сред.
25. Зависимость «доза – эффект» как основа оценки результатов биотестирования.
26. Оценка качества вод методами биотестирования.
27. Основные показатели загрязненности сточных вод. Цель и нормативы очистки сточных вод.
28. Сравнительная характеристика методов очистки сточных вод. Классификация методов биологической очистки сточных вод.
29. Типы очистных сооружений.
30. Характеристика процессов аэробной очистки сточных вод.
31. Показатели работы биологических очистных сооружений.
32. Основные группы организмов и их роль в процессах очистки сточных вод.
33. Характеристика и состав микробиоты активного ила и биопленки.
34. Способы утилизации активного ила.
35. Основные стадии разложения органического вещества в анаэробных условиях и группы микроорганизмов, их осуществляющие.
36. Образование биогаза. Аэробные биореакторы первого и второго поколения.
37. Основные пути загрязнения газовой воздушной среды производств и методы их очистки.
38. Установки для микробиологической очистки газовой воздушной среды и их эффективность.
39. Классификация методов ремедиации почв. Основные факторы, влияющие на выбор способа ремедиации почв.
40. Биологические методы ремедиации почв.
41. Технологии фиторемедиации.
42. Микроборемедиация. Биопрепараты для ликвидации нефтяных загрязнений.



Начало

Содержание



Страница 126 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

43. Биоэнергетика. Получение биотоплива из возобновляемых источников: проблемы и перспективы.

44. Биометаногенез как процесс ликвидации отходов и экологический метод получения энергоносителей.

45. Использование достижений биотехнологии в сельском хозяйстве.

46. Принципы органического (экологического) сельского хозяйства.

47. Биопестициды: методы получения, принцип действия, область применения.

48. Микробные биопрепараты для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений и животных.

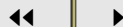
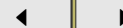
49. Экологические проблемы, связанные с аккумуляцией в биосфере синтетических пластиков.

50. Биопластики: направления разработки, перспективы использования.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 127 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

## Словарь терминов и понятий

**АКТИВНЫЙ ИЛ** – бурые хлопья, состоящие из заключенных в слизь аэробных гетеротрофных различных групп микроорганизмов, связанных трофическими и метаболическими процессами, в результате жизнедеятельности которых происходит окисление органических загрязнителей сточных вод.

**АНАЭРОБНАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД** – сбраживание высококонцентрированных стоков, а также осадка из первичного отстойника и избытка активного ила, образующегося в аэротенках, в анаэробных условиях.

**АНТРОПОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ**– загрязнение окружающей среды, связанное с человеческой деятельностью, главной составной частью которого является техногенное загрязнение, обусловленное деятельностью промышленных производств.

**АЭРОБНАЯ ОЧИСТКА СТОЧНЫХ ВОД** – очистка сточных вод, протекающая в аэротенках (от 6 до 30 ч).

**АЭРОТЕНКИ** – это специализированные очистные сооружения биологической очистки сточных вод активным илом от широкого диапазона загрязнителей в аэрируемых условиях.

**БАЗОВЫЕ (ПРОМЫШЛЕННО-ЦЕННЫЕ) МИКРООРГАНИЗМЫ** – это микроорганизмы, на которые ориентируются при разработке нового биотехнологического процесса. К ним относят GRAS-микроорганизмы («generally recognized as safe» ‘обще признаны как безопасные’): бактерии *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, другие виды бацилл и лактобацилл, виды *Streptomyces*. Сюда также относят виды грибов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus* и дрожжей *Saccharomyces* и др.

**БИОАУГМЕНТАЦИЯ** – введение в почву селективно приспособленных природных штаммов или генетически измененных микроорганизмов, способных оперативно справиться с простыми и/или сложными загрязняющими веществами.

**БИОВЫЩЕЛАЧИВАНИЕ** – избирательное извлечение из почвы микроорганизмами (бактериями или грибами) химических элементов из многокомпонентных соединений посредством их растворения в водной среде.



Начало

Содержание



Страница 128 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



**БИОГАЗ** – смесь газов, состоящая на две трети из  $\text{CH}_4$  и на треть из  $\text{CO}_2$ , небольших количеств  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$  и других газов, образующихся в результате естественного анаэробного процесса либо получаемых в результате биометагенеза.

**БИОГЕРБИЦИДЫ** – препараты на основе микроорганизмов, патогенных для сорных растений, а также их ферментов.

**БИОИНДИКАТОРЫ** – живые организмы или сообщества организмов, жизненные функции и наблюдаемые изменения которых тесно коррелируют с определенными факторами среды и которые могут применяться для их оценки.

**БИОИНДИКАЦИЯ** – это оценка качества природной среды по состоянию населяющих ее живых организмов.

**БИОИНСЕКТИЦИДЫ** – препараты на основе выделенных и селективированных штаммов-интродуцентов бактерий либо грибов, инфицирующих насекомых.

**БИОКОНЦЕНТРИРОВАНИЕ** – метод биоремедиации почвы, связанный с накоплением веществазагрязнителя в локальной зоне путем адсорбции или иммобилизации биообъектами.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЧИСТКИ** – методы, основанные на способности различных организмов (преимущественно микроорганизмов) извлекать и разлагать широкий спектр соединений, являющихся загрязнителями воды, воздуха и почвы.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРУДЫ** – сооружения для очистки в естественных условиях хозяйственно-бытовых, производственных и поверхностных сточных вод, содержащих преимущественно органические загрязнители.

**БИОМАССА** – общая масса органических веществ, создаваемых и преобразовываемых в результате деятельности живых организмов.

**БИОПЕСТИЦИДЫ** – биологические средства, представляющие собой микробные препараты, направленные на защиту растений и являющиеся важным резервом повышения их урожайности, например, биоинсектициды, биофунгициды и биогербициды.

**БИОПЛАСТИК** – полимерный материал, полученный из природного сырья и подвергающийся биоразложению.

**БИОПЛЕНКА** – слизистый матрикс на поверхности носителя, состоящий преимущественно из полисахаридов, которые удерживают в пределах единой структуры клетки микроорганизмов.



Начало

Содержание



Страница 129 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**БИОРЕАКТОР** – изолированная система, в которую вместе с питательной средой вводят биологический объект, где создаются оптимальные условия для роста продуцента или накопления синтезируемого им продукта.

**БИОРЕАКТОР С ОМЫВАЕМЫМ СЛОЕМ** – аппарат, в котором загрязненный воздух проходит через слой насадки, при этом вещества, подлежащие деструкции, распределяются между газовой фазой и водной пленкой, покрывающей элементы насадки, за счет диффузии доставляются к биопленке и разрушаются в ней.

**БИОРЕМЕДИАЦИЯ** – оздоровление почвы, связанное с удалением загрязнителей посредством использования метаболического потенциала биологических объектов.

**БИОСКРУББЕРЫ** – абсорбционные аппараты (абсорберы, скрубберы) для очистки воздуха, в которых орошающей жидкостью (абсорбентом) служит водная суспензия микроорганизмов.

**БИОСОРБЕНТЫ** – препараты в виде иммобилизованных на носителе микроорганизмов-деструкторов загрязнителей.

**БИОСТИМУЛИРОВАНИЕ** – активизация жизнедеятельности автохтонной микробиоты почвы путем внесения питательных веществ.

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ** – процедура установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих нарушением жизненно важных функций об изменениях в среде.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ** – использование живых организмов и биологических процессов в производстве (БЭС под редакцией М.С. Гилярова, 1995).

**БИОТЕХНОЛОГИЯ** – междисциплинарная наука, фундаментальной основой которой являются микробиология, генетика и молекулярная биология. Биотехнологические процессы используются в различных отраслях промышленности, но главными потребителями продуктов современной биотехнологии являются медицина и сельское хозяйство.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ** – отрасль биологической науки, которая включает в себя технологические процессы, направленные на использование культур клеток бактерий, дрожжей, животных, растений, метаболизм и биосинтетические возможности которых обеспечивают выработку ценных продуктов, которые важны для жизни и благосостояния людей. Термин «биотехнология» был впервые



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 130 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

использован венгром К. Эреки в 1917 г. для обозначения всех видов работ, в которых продукты получают с помощью живых организмов. Годом рождения биотехнологии как науки многие ученые считают начало 40-х гг., когда был произведен с помощью микроорганизмов пенициллин в промышленном масштабе. Мировое осознание потенциальных возможностей и спектра применения биотехнологии пришло лишь в начале 1980-х гг.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ** на основе применения знаний и методов биохимии, микробиологии, генетики и химической техники позволяет извлекать выгоду в технологических процессах из свойств микроорганизмов и клеточных культур (European Federation of Biotechnology).

**БИОТОПЛИВО** – это топливо, получаемое из биомассы термохимическим или биологическим способом, например, биодизельное топливо, биоэтанол, биометанол и биогаз.

**БИОТОПЛИВО ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЯ** – это топливо, получаемое из непищевого сырья (отработанные жиры и растительные масла, биомасса деревьев и растений), например, биоэтанол и бионефть.

**БИОТОПЛИВО ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ** – это топливо, получаемое из любого сельскохозяйственного сырья посредством применения традиционных технологий (близкие к естественным, биологические и термохимические процессы, такие как брожение), например, биоэтанол, биодизель.

**БИОТОПЛИВО ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЯ** – это топливо, получаемое из водорослей.

**БИОФИЛЬТРЫ** – это специализированные очистные сооружения, которые предназначены для очистки сточных вод либо газовоздушных выбросов с использованием биопленки.

**БИОФУНГИЦИДЫ** – биологически активные вещества органического происхождения, подавляющие жизнеспособность или вызывающие гибель фитопатогенов.

**БИОХИМИЧЕСКАЯ ПОТРЕБНОСТЬ В КИСЛОРОДЕ (БПК)** – количество растворенного в сточной воде кислорода (в мг/л), которое потребляется введенными в нее микроорганизмами за определенный промежуток времени. Определяют показатели БПК<sub>5</sub> (за 5 суток), БПК<sub>20</sub> (за 20 суток) и БПК<sub>полн</sub> (количество O<sub>2</sub>, потребленное микроорганизмами, при полном окислении органических загрязнителей, как правило за 25 суток).



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 131 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

**БИОЭНЕРГИЯ** – энергия, произведенная из биомассы.

**ВЕКТОР**– молекулы ДНК, способные акцептировать чужеродную ДНК и обеспечивать ее репликацию, экспрессию и/или трансформацию (перенос в другой организм).

**ВЕКТОР ДЛЯ КЛОНИРОВАНИЯ** – молекула ДНК (плазмидная или вирусная), предназначенная для получения копий фрагмента ДНК путем многократной репликации.

**ВЗВЕШЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА** – нерастворенные вещества сточных вод, представляющие собой механические взвеси. По ним определяют количество образующегося осадка.

**ВОЗОБНОВЛЯЕМОЕ СЫРЬЕ** – все продукты растительного и животного происхождения, используемые для создания энергии.

**ВСПУХАНИЯ АКТИВНОГО ИЛА** – неблагоприятного явления, нарушающего способность активного ила к седиментации.

**ВТОРИЧНЫЕ ОТСТОЙНИКИ** – сооружения для обработки осадков сточных вод, а именно для разделения иловой смеси и очищенной сточной воды и/или отделения биопленки.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ** – молодое направление современной биотехнологии (с 1970-х гг.), представляющее собой комплекс молекулярно-генетических методов, с помощью которых можно осуществить в условиях *in vitro* целенаправленный перенос генетической информации, конструирование новых форм биологически активных ДНК, генетически новых форм клеток и целых организмов с заданными признаками.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ** – перенос ДНК неполовым путем от клеток донора к клеткам реципиента, в результате чего реципиентные клетки (клетки бактерий, грибов, растений и животных) приобретают новые или усиленные наследственные свойства и признаки.

**ГИБРИДИЗАЦИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК** – слияние протопластов, изолированных из соматических клеток растений различных видов, с целью создания новых форм.

**ГИБРИДОМА** – гибридная клеточная линия, полученная при слиянии нормальных антителобразующих клеток (лимфоцитов) и опухолевых клеток костного мозга, обладающая способностью к синтезу моноклональных антител.



Начало

Содержание



Страница 132 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**ГЛОБАЛЬНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ**– загрязнение окружающей среды, обнаруживаемое в любой точке планеты как угодно далеко от его источника.

**ГЛУБИННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ** – тип культивирования, при котором клетки либо протопласты распределяются по всему объему жидкой питательной среды.

**ДЕДИФФЕРЕНЦИРОВКА** – это потеря клеточных структур, выполняющих специфические функции, и возвращение дифференцированных клеток растений в меристематическое состояние, в котором они сохраняют способность к делению.

**ДНК-ЛИГАЗЫ**– ферменты, осуществляющие соединение рестрикционных фрагментов ДНК путем восстановления фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами.

**ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ**– ферменты, осуществляющие синтез цепи ДНК.

**ЕМКОСТЬ ВЕКТОРА** – размер фрагмента ДНК (в т. п. н.), который может быть включен в состав вектора для клонирования. Емкость плазмидного вектора до 10 т. п. н., фагового – 10–21 т. п. н., плазмидно-фагового – 30–45 т. п. н.

**ЕСТЕСТВЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ** – загрязнение окружающей среды, возникающее в результате действий природных явлений без участия людей.

**ЗАГРЯЗНЕНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ** – привнесение новых, не характерных для нее физических, химических и биологических агентов (загрязнителей) либо превышение в ней естественного многолетнего уровня этих агентов.

**ЗАГРЯЗНИТЕЛИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ** – это поллютанты – несвойственные (новые) для среды физические, химические и биологические агенты либо характерные для нее агенты, но находящиеся в объемах, превышающих естественно сложившийся многолетний (фоновый) уровень их присутствия.

**ИЛОВЫЙ ИНДЕКС** – это объем (в см<sup>3</sup>/г), который занимает 1 г активного ила (по сухой массе) после отстаивания в мерном цилиндре на 1000 см<sup>3</sup> в течение 30 минут.

**ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ КЛЕТКИ МИКРООРГАНИЗМОВ** – гетерогенные биокатализаторы (клетки, содержащие естественный набор ферментов, и носитель), для которых созданы ограничения в подвижности в реакционной среде.



Начало

Содержание



Страница 133 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ** – это ферменты с ограниченной свободой передвижения в пространстве, связанной с его фиксацией на носителе и в носителе с помощью физических или химических методов.

**ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ** – метод, в котором наследственные модификации у продуцентов возникают под действием мутагенных факторов (ультрафиолетовое, рентгеновское и гамма-излучения, определенные химические вещества и др.).

**ИНСТРУМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ**– это три типа ферментов: рестриктазы, лигазы и полимеразы.

**КАЛЛУС (КАЛЛУСНАЯ ТКАНЬ)** – это ткань, возникающая путем неорганизованной пролиферации (размножения) клеток растений, утративших специализацию.

**КАЛЛУСОГЕНЕЗ** – процесс образования каллуса при культивировании в условиях *in vitro* изолированных клеток и тканей растений.

**КЛАССИФИКАЦИЯ БИОТЕХНОЛОГИИ «ЦВЕТОВАЯ»** отражает основные направления развития экономики. «Красная» биотехнология связана с сохранением здоровья человека посредством разработки средств диагностики, производством биофармацевтических препаратов. «Зеленая» биотехнология направлена на увеличение продуктивности сельского и лесного хозяйства, а также производство биопрепаратов для сельского хозяйства. «Белая» – промышленная биотехнология, объединяющая производство биотоплива, биотехнологии в пищевой, нефтеперерабатывающей промышленности и др. «Серая» биотехнология связана с биоремедиацией, утилизацией отходов и тем самым уменьшением загрязнения окружающей среды. «Синяя» биотехнология обращена на использование морских организмов и сырьевых ресурсов.

**КЛАССИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ** – наука о промышленных методах и технологиях, использующих для производства продукции обычных, нетрансгенных (природных и селекционных) живых организмов в естественных и искусственных условиях.

**КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ** – направление современной биотехнологии (с 1950-х гг.), связанное с выполнением работ по культивированию, гибридизации, реконструкции в условиях *in vitro* с изолированными клетками животных и растений.



Начало

Содержание



Страница 134 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**КЛЕТОЧНАЯ СЕЛЕКЦИЯ** – это процесс выделения клеток определенного типа в культуре *in vitro* с помощью селективного фактора.

**КЛОНИРОВАНИЕ** – совокупность процедур, использующихся для получения клонов в условиях *in vitro*, например, клонирование животных включает пересадку ядер соматических клеток в цитоплазму яйцеклетки, у которой было удалено ядро.

**КОНЦЕНТРАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ (ДОЗА ИЛА)** – фактическая (рабочая) концентрация активного ила, которая должна поддерживаться в аэротенке во время его работы.

**КОНЦЕНТРАЦИЯ РАСТВОРЕННОГО O<sub>2</sub> В СТОЧНОЙ ВОДЕ** – показатель (в мг/дм<sup>3</sup>), характеризующий необходимое количество кислорода в единице объема аэротенка для дыхания микроорганизмов.

**КОНЪЮГАЦИЯ** – это метод повышающий генетическую трансформацию, основанный на способности некоторых плазмид переходить из донорной бактериальной клетки в реципиентную.

**КОСМИДЫ** – гибридные молекулы ДНК, которые характеризуются плазмидным типом репликации и обладают способностью упаковываться в условиях *in vitro* в головки фага λ.

**КРИВАЯ РОСТА** – графическое отображение зависимости логарифма числа клеток продуцента (lgX) от длительности культивирования при периодической ферментации в виде S-образной кривой.

**КУЛЬТУРА ПРОТОПЛАСТОВ** – растительные клетки, лишённые клеточных оболочек, культивируемые в жидкой питательной среде в условиях *in vitro*.

**ЛАБОРАТОРНЫЕ УСТАНОВКИ** – установки объемом до 10 л для проведения научных исследований, в которых определяется принципиальная возможность и способ получения целевого продукта, изучение новых продуцентов, экспериментальное моделирование биотехнологического процесса.

**ЛИГИРОВАНИЕ** – процесс объединения фрагментов ДНК, полученных под действием рестриктаз.

**ЛОКАЛЬНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ** – загрязнение окружающей среды, наблюдаемое на небольшой территории, ограниченной пределами населенного пункта, предприятия и т. п.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 135 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

**МАРКЕРНЫЙ ГЕН** – ген, облегчающий селекцию клеток, несущих векторную конструкцию с чужеродным фрагментом ДНК.

**МАСШТАБИРОВАНИЕ** – поэтапное воспроизведение результатов, полученных на оборудовании одного размера или одной конструкции, при проведении того же процесса в аппаратах другого размера или конструкции.

**МЕТАНОГЕНЕЗ (БИОМЕТАНОГЕНЕЗ)** – катаболический процесс, протекающий с участием анаэробных микроорганизмов, в котором главным продуктом является метан.

**МЕТАНТЕНКИ** – аппараты различного конструктивного исполнения, предназначенные для анаэробной очистки и получения биогаза.

**МЕТОД ХИМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ** – метод повышающий генетическую трансформацию бактериальных клеток путем их обработки  $\text{CaCl}_2$ , что приводит к локальному разрушению клеточной стенки и способствует проникновению экзогенной ДНК.

**МЕТОД ЭЛЕКТРОПОРАЦИИ** – метод повышающий генетическую трансформацию бактериальных клеток, заключающийся в кратковременном их экспонировании в интенсивном электрическом поле, в результате чего в клеточной оболочке возникают поры, через которые проникает векторная ДНК.

**МЕТОДЫ *EX SITU*** – методы очищения загрязненных почв и грунтов на специальных предприятиях, например, обработка в биореакторах.

**МЕТОДЫ *IN SITU*** – методы очищения загрязненных почв и грунтов на месте, например, фиторемедиация.

**МИКРОБОРЕМЕДИАЦИЯ** – использования микроорганизмов для восстановления загрязненных территорий – осуществляется по двум главным направлениям – экстенсивному и интенсивному.

**МОДЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ** – это немногочисленная, но хорошо изученная группа микроорганизмов. К ним относятся кишечная палочка (*Escherichia coli*), сенная палочка (*Bacillus subtilis*) и пекарские дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*).

**МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА** – антитела одного типа, секретируемые гибридомами.



Начало

Содержание



Страница 136 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть



**НЕПРЕРЫВНАЯ (ПРОТОЧНАЯ) ФЕРМЕНТАЦИЯ** – открытая система, характеризующаяся постоянной подачей питательной среды в ферментер и удалением из него отработанной культуральной среды с продуктами биосинтеза и частью культуры продуцента.

**НЕФТЬ** – сложная смесь парафиновых, нафтеновых и реже ароматических углеводородов – является одним из наиболее опасных поллютантов.

**ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ** – клетки микроорганизмов, животных и растений, а также ферменты, в свободном или иммобилизованном состоянии, способные осуществлять определенную модификацию исходного сырья и обеспечить получение требуемого целевого продукта в биотехнологическом процессе. Основными объектами большинства современных биотехнологических производств являются микроорганизмы, что обусловлено рядом особенностей их метаболизма.

**ОГРАНИЧЕННЫЕ (ДИПЛОИДНЫЕ) КУЛЬТУРЫ** – культуры клеток животных и человека, поддерживаемые в течение определенного количества пассажей, а затем трансформирующиеся в постоянную культуру.

**ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОЩНОСТЬ** – параметр (в кг БПК/(м<sup>3</sup>·сут)), показывающий какое количество органических загрязнений в расчете на БПК может утилизироваться в единицу времени массой активного ила, находящейся в единице объема аэротенка.

**ОРГАНИЧЕСКАЯ ПРОДУКЦИЯ** – продукция, полученная в результате органического производства, т. е. непосредственного создания, переработки, сбора и заготовки с использованием способов, методов, технологий, предусмотренных национальным и международным законодательством в данной области, в том числе техническими нормативными правовыми актами.

**ОРГАНИЧЕСКОЕ (ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ) СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО** – производственная система, направленная на поддержание экологически безопасного состояния почвы и экосистем.

**ОРГАНИЧЕСКОЕ ЖИВОТНОВОДСТВО** – это разведение животных, для кормления которых используются корма растительного и животного происхождения, а также кормовые добавки минерального и микробного происхождения, полученные в результате производства органической продукции.



[Начало](#)

[Содержание](#)



Страница 137 из 144

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

**ОРГАНИЧЕСКОЕ ЗЕМЛЕДЕЛИЕ** – использование экологических методов (соблюдение севооборота, применение органических удобрений и биоразлагаемых улучшителей почвы), которые позволяют получить плодородную и сбалансированную почву.

**ОРГАНИЧЕСКОЕ РАСТЕНИЕВОДСТВО** – возделывание культурных сельскохозяйственных растений, которые не подверглись генно-инженерным изменениям, на незагрязненных химическими и радиоактивными веществами почвах, без применения химических удобрений, химических средств защиты растений.

**ОТБОР** – основной метод, использующийся в ступенчатой селекции, при котором на каждом этапе отбора из популяции микроорганизмов выделяются наиболее активные варианты (спонтанные или индуцированные мутанты), из которых на следующем этапе отбирают новые, более эффективные штаммы и т. д.

**ПАЛИНДРОМ** – сайт рестрикции рестриктаз II типа, представляющий симметричную при повороте на  $180^\circ$  нуклеотидную последовательность двуцепочной ДНК.

**ПАССИРОВАНИЕ** – пересадка части каллуса в условиях *in vitro* на свежую питательную среду, позволяющая поддерживать способность клеток растений к делению в течение продолжительного времени.

**ПЕРВИЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ** – культуры, полученные при изолировании клеток из организма животных и человека, и существующие на питательной среде до их первого пассирования.

**ПЕРИОДИЧЕСКАЯ ФЕРМЕНТАЦИЯ** – закрытая система, когда культивирование продуцента производят в течение ограниченного времени, на протяжении которого в питательную среду не добавляют и не удаляют какие-либо компоненты, кроме газовой фазы.

**ПЕСТИЦИДНАЯ НАГРУЗКА** – объем применения пестицидов (кг) в общем количестве действующих веществ (д. в.) на 1 га сельскохозяйственных земель (пахотных земель и земель под постоянными культурами).

**ПЕСТИЦИДЫ** – химических средств защиты растений (гербициды, инсектициды, фунгициды, зооциды), применение которых ориентировано на увеличение выхода продукции растениеводства с единицы посевной площади, ее сохранность и устойчивость к транспортировке.



Начало

Содержание



Страница 138 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**ПИЛОТНЫЕ (ОПЫТНО-КОНСТРУКТОРСКИЕ) УСТАНОВКИ** – установки объемом до 100 л и более для отработки всех технологических деталей процесса, создания оборудования, уточнения технико-экономических показателей, обучения персонала.

**ПЛАЗМИДНО-ФАГОВЫЕ ВЕКТОРЫ** – особый тип векторов с большой емкостью, сочетающий свойства плазмиды и фага, например, космиды и фазмиды.

**ПЛАЗМИДНЫЕ ВЕКТОРЫ** – векторы, сконструированные на основе плазмид, которые впервые были использованы в качестве вектора (pSC101) в лаборатории П. Берга.

**ПЛАЗМИДЫ** – небольшие кольцевые молекулы ДНК, автономно реплицирующиеся в бактериальной клетке. Используются в качестве векторов в генетической инженерии.

**ПЛАСТМАССА (ПЛАСТИК)** – искусственный материал, образуемый путем химических превращений (полимеризации и поликонденсации) из углеводородного (ископаемого) и природного сырья (биомассы).

**ПОВЕРХНОСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ** – культивирование клеток на агаризированной (твердой) питательной среде в условиях *in vitro*.

**ПОЛЮТАНТЫ** – см. загрязнители окружающей среды.

**ПОЛЯ ОРОШЕНИЯ** – это сооружения, предназначенные для биологической очистки сточных вод в грунте и выращивания сельскохозяйственных (в основном, технических) культур.

**ПОЛЯ ФИЛЬТРАЦИИ** – это сооружения, предназначенные только для биологической очистки сточных вод в естественном грунте.

**ПОРОГ ДЕЙСТВИЯ ВЕЩЕСТВА** – это такая минимальная концентрация загрязнителя (поллютанта) в объекте внешней среды, при воздействии которой в организме (при конкретных условиях поступления вещества) возникают изменения, выходящие за пределы физиологических приспособительных реакций, или скрытая (временно компенсированная) патология.

**ПОСТОЯННЫЕ КУЛЬТУРЫ** – культуры клеток животных и человека, содержащиеся в условиях *in vitro* длительное время благодаря обновлению питательной среды.



Начало

Содержание



Страница 139 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ (ПДК)** – это такая концентрация вещества, в атмосфере, воде, почве, продуктах питания, не оказывающая вредного воздействия на живых организмов, включая человека.

**ПРОДУЦЕНТ** – организм, который осуществляет биосинтез интересующего целевого продукта.

**ПРОМЫШЛЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ** – направление современной биотехнологии, принципиальным отличием которого являются целевые продукты – биомасса, образующаяся в результате жизнедеятельности организмов, а также продукты их метаболизма (белки, ферменты, аминокислоты, полисахариды, антибиотики, витамины, полиэферы и др.).

**ПРОМЫШЛЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ** – это микроорганизмы, которые используются в промышленном производстве для получения ферментных препаратов, приготовления заквасок для силосования растительных субстратов, получения лечебно-профилактических препаратов, производства биопрепаратов против возбудителей болезней растений, бактериальных препаратов для деструкции токсичных органических веществ и биоремедиации природных и производственных сред.

**ПРОМЫШЛЕННЫЕ УСТАНОВКИ** – установки, на которых создается пусковой регламент, действующий до тех пор, пока в промышленных условиях не будут воспроизведены показатели, предусмотренные в опытно-конструкторской документации, после чего создается производственный регламент.

**РЕГИОНАЛЬНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ** – загрязнение окружающей среды, обнаруживаемое в пределах значительных территорий, но не охватывающее всей планеты.

**РЕКОМБИНАНТНАЯ (ГИБРИДНАЯ) МОЛЕКУЛА ДНК** – молекула ДНК, полученная посредством соединения в условиях *in vitro* фрагментов ДНК разных организмов, например, ДНК вектора и ДНК донора, которые в природе вместе никогда не существовали. Первая рекомбинантная молекула ДНК была получена П. Бергом в 1972 г. путем объединения линейных фрагментов ДНК фага лямбда ( $\lambda$ dvgal) кишечной палочки и вируса (SV40) обезьян с помощью искусственно созданных у них «липких» концов.

**РЕМЕДИАЦИЯ** – восстановление изначальных показателей почвы при ликвидации последствий загрязнения.



Начало

Содержание



Страница 140 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть

**РЕСТРИКТАЗЫ** – ферменты рестрикции (разрезания), которые разрезают ДНК по определенным нуклеотидным последовательностям, называемым сайтом рестрикции. Рестриктазы (рестрицирующе эндонуклеазы) выделены в 1968 г. В. Арбером из бактерий.

**РЕСТРИКЦИОННАЯ КАРТА МОЛЕКУЛЫ ДНК** – схема ДНК, на которой показан порядок следования сайтов рестрикции различных рестриктаз.

**САЙТ РЕСТРИКЦИИ** – определенная последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК, в которой происходит ее рестрикция (разрезание) определенной рестриктазой.

**СВЕРХПРОДУЦЕНТ** – организм, способный синтезировать определенный продукт в количествах, превосходящих его физиологические потребности.

**СЕЛЕКЦИЯ** – это создание высокоактивных вариантов продуцентов, характеризующихся наследственными полезными признаками, лучше подходящими к конкретным условиям производства.

**СОВРЕМЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ** – это наука о генно-инженерных, клеточных методах и технологиях создания, использования генетически трансформированных (модифицированных) растений, животных, микроорганизмов в целях интенсификации производства, получения новых видов продуктов различного назначения (В.С. Шевелуха, 2003).

**СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРЕННОГО O<sub>2</sub> В СТОЧНОЙ ВОДЕ** – показатель (в кг/м<sup>3</sup>· ч), отражающий количество кислорода в растворенном состоянии вводимое в единицу объема аэротенка в единицу времени в результате непрерывной аэрации.

**СТОЧНЫЕ ВОДЫ** – воды, отводимые после использования в бытовой и производственной деятельности человека.

**СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА** – отдельные клетки или небольшие группы клеток, выращиваемые во взвешенном состоянии в жидкой питательной среде.

**СЫРЬЕ** – это материал, предназначенный для дальнейшей переработки в желаемый продукт. Под *сырьем* в биотехнологии понимают различные виды недорогих, легкодоступных и возобновляемых углеводсодержащих источников с достаточно высокой питательной ценностью компонентов для культивирования биологических объектов, которые способны производить конверсию веществ субстрата в нужный продукт.



Начало

Содержание



Страница 141 из 144

Назад

На весь экран

Заккрыть

**СЫРЬЕВАЯ БАЗА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ** – различные виды вторичного сырья, являющегося отходами сельскохозяйственного производства, отраслей лесоводства, деревообрабатывающей и бумажной промышленности, пищевой промышленности.

**ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ** – организмы, используемые при оценке токсичности химических веществ, природных и сточных вод, почв, донных отложений, кормов и др.

**ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК** – совокупность экспериментальных методов, позволяющая осуществить перенос генетического материала из одного организма в другой.

**ТОТИПОТЕНТНОСТЬ** – отличительное свойство растительной клетки, на основании которого любая клетка, содержащая полный набор генов и обладающая одинаковыми потенциальными возможностями, подобно зиготе, может дать начало фертильному растению.

**ТОЧКА НАЧАЛА РЕПЛИКАЦИИ (ORI-САЙТ)** – нуклеотидная последовательность, с которой начинается репликация ДНК плазмидного вектора в определенных клетках бактерий.

**ТРАНСГЕННЫЙ (ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЙ) ОРГАНИЗМ**– организм, содержащий чужеродный генетический материал, введенный с помощью методов геной инженерии. Инсулин стал первым белком человека, который был в 1985 г. промышленно синтезирован в генетически модифицированной *E. coli* штамма K12.

**ТРЕХКОМПОНЕНТНОСТИ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ** выражается в развитии трех направлений – клеточной инженерии, генетической инженерии и промышленной (микробной) биотехнологии.

**УСЛОВИЯ *IN VITRO*** – асептические условия, предназначенные для экспериментального изучения «в пробирке», «за стеклом» в условиях изоляции от целого организма.

**УСЛОВИЯ *IN VIVO*** – естественные условия, в которых протекает биологический процесс.

**ФАГОВЫЕ ВЕКТОРЫ** – векторы, которые конструируются на основе ДНК бактериофагов, например, для *E. coli* созданы на основе двух бактериофагов – фага  $\lambda$  и M13.



[Начало](#)

[Содержание](#)



[Страница 142 из 144](#)

[Назад](#)

[На весь экран](#)

[Закрыть](#)

**ФАЗМИДЫ** – линейные молекулы ДНК, на концах которых расположены сегменты ДНК фага  $\lambda$ , содержащие все гены, требующиеся для инфекции, а средняя часть представлена плазмидной ДНК.

**ФЕРМЕНТАЦИЯ** – процесс, в котором происходит преобразование исходного сырья в продукт с использованием биохимической деятельности микроорганизмов или культивируемых изолированных клеток многоклеточных организмов.

**ФЕРМЕНТЕР** – биореактор, в котором основным биотехнологическим процессом, протекающим в нем, является ферментация.

**ФИТОРЕМЕДИАЦИЯ** – использование растительных организмов для *in situ* (на месте) восстановления загрязненных почв.

**ФРАГМЕНТЫ ДНК С «ЛИПКИМИ» КОНЦАМИ** – фрагменты ДНК, на концах которых имеются выступающие одноцепочные участки.

**ФРАГМЕНТЫ ДНК С «ТУПЫМИ» КОНЦАМИ** – фрагменты ДНК с ровными концами.

**ХИМИЧЕСКАЯ ПОТРЕБНОСТЬ В КИСЛОРОДЕ (ХПК)** – количество кислорода (в мг/л), которое необходимо для полного окисления химическим путем всех содержащихся в сточной воде органических загрязнений до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ** – это новый раздел современной биотехнологии, направленный на применение биологических систем и процессов для решения задач улучшения качества окружающей среды и рационального природопользования.

**ЭКОНОМИЧЕСКИЙ КОЭФФИЦИЕНТ** – выход продукта, показывающий соотношение между приростом массы клеток и потребляемым субстратом при культивировании.

**ЭКСПЛАНТ** – фрагмент ткани или органа, выделенный из интактного растения и перенесенный с соблюдением правил асептики на питательную среду, содержащую минеральные соли, сахара, витамины и фитогормоны, для культивирования.

**ЭЛЕКТРОФОРЕЗ** – метод, основанный на распределении по длине гелевой пластинки фрагментов рестрикции ДНК, движущихся с различной скоростью в электрическом поле к положительно заряженному полюсу.



Начало

Содержание



Страница 143 из 144

Назад

На весь экран

Закреть

## Список рекомендуемой литературы

### Основная:

1. Волова, Т. Г. Экологическая биотехнология учеб. пособие для ун-тов / Т. Г. Волова. – Новосибирск : Хронограф, 1997. – 320 с.
2. Егорова, Т. А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для высш. пед. учеб. заведений / Т. А. Егорова, С. М. Клунова, Е. А. Живухина. – М. : Академия, 2003. – 208 с.
3. Ксенофонтов, Б. С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии : учеб. пособие / Б. С. Ксенофонтов. – М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2017. – 224 с.
4. Ленивко, С. М. Экологическая биотехнология : учеб.-метод. комплекс / С. М. Ленивко ; Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина. – Брест : БрГУ, 2019. – 107 с.
5. Прикладная экибиотехнология : учеб. пособие : в 2 т. / А. Е. Кузнецов [и др.]. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010.
6. Ручай, Н. С. Экологическая биотехнология : учеб. пособие для студентов специальности «Биоэкология» / Н. С. Ручай, Р. М. Маркевич. – Минск : БГТУ, 2006. – 312 с.

### Дополнительная:

7. Биотехнология. Биобезопасность. Биоэтика / А. П. Ермишин [и др.] ; под ред. А. П. Ермишина. – Минск : Тэхналогія, 2005. – 430 с.
8. Биотехнология : учебник и практикум для академического бакалавриата : в 2 ч. / под общ. ред. Н. В. Загоскиной, Л. В. Назаренко. – 2-е изд., испр. и доп. – М. : Изд-во Юрайт, 2018.
9. Бирюков, В. В. Основы промышленной биотехнологии : учеб. пособие / В. В. Бирюков. – М. : КолосС, 2004. – 296 с.
10. Глик, Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак ; пер. с англ. Н. В. Баскаковой [и др.] ; под ред. Н. К. Янковского. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
11. Картель, Н. А. Биотехнология в растениеводстве : учебник / Н. А. Картель, А. В. Кильчевский. – Минск : Тэхналогія, 2005. – 310 с.
12. Принципы и методы экологической токсикологии / Д. Б. Гелашвили [и др.] ; под ред. проф. Д. Б. Гелашвили. – Н. Новгород : Изд-во ННГУ, 2016. – 702 с.
13. Сельскохозяйственная биотехнология : учебник / В. С. Шевелуха [и др.] ; под ред. В. С. Шевелухи. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. шк., 2003. – 469 с.
14. Шмид, Р. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид ; пер. с нем. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2016. – 325 с.



Начало

Содержание



Страница 144 из 144

Назад

На весь экран

Закрыть