

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**Методические рекомендации для
самостоятельной работы обучающихся по дисциплине**

Б1.В.ДВ.01.01 Почвенная биотехнология

Направление подготовки 05.04.06 Экология и природопользование

Профиль образовательной программы Экологический мониторинг и безопасность
окружающей среды

Форма обучения заочная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Организация самостоятельной работы.....	3
2. Методические рекомендации по выполнению курсовой работы (не предусмотрены РУП).....	4
3. Методические рекомендации по подготовке реферата/эссе	4
3.1 Реферат/эссе содержит.....	4
3.2 Оформление работы.....	4
3.3 Критерии оценки реферата/эссе.....	6
4. Методические рекомендации по выполнению индивидуальных домашних задания (не предусмотрены РУП).....	6
5. Методические рекомендации по самостоятельному изучению вопросов.....	6
6. Методические рекомендации по подготовке к занятиям.....	7
6.1 Знакомство с правилами работы в биотехнологи-ческой лаборатории. Подготовка питательных сред. Изучение численности, биомассы и расчет количества почвенных организмов.....	7
6.2 Получение накопительных культур.....	8
6.3 Выделение чистых культур почвенных организмов из почв разного состава.....	8
6.4 Изучение способности почвенных организмов в биосинтезу ферментов.....	8
6.5 Изучение антагонистических свойств почвенных организмов. Биосинтез антибиотиков и стимуляторов роста растений.....	8
6.6 Микроорганизмы как естественные антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий и их метаболиты. Применение бактериальных и грибных препаратов для защиты растений от болезней.....	8
6.7 Биопрепараты для рекультивации нарушенных земель.....	9

1. ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.1. Организационно-методические данные дисциплины

№ п.п.	Наименование темы	Общий объем часов по видам самостоятельной работы				
		подготовка курсового проекта (работы)	подготовка реферата/эссе	индивидуальные домашние задания (ИДЗ)	самостоятельное изучение вопросов (СИБ)	подготовка к занятиям (ПкЗ)
1	2	3	4	5	6	7
1	Почвенная биотехнология: краткая история развития. Физико-химические характеристики почвы. Микроскопическое население почвы разных типов.	-		-	5	2
2	Механизмы действия населения почвы в формировании гумуса.	-		-	5	3
3	Фиксация молекулярного азота: значение, микроорганизмы, процесс фиксации молекулярного азота	-		-	6	1
4	Биоудобрения и биоинтенсивное земледелие	-		-		2
5	Стимуляция роста растений биологически активными веществами	-		-	6	2
6	Микроорганизмы как естественные антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий и их метаболиты.	-		-	10	5

	Применение бактериальных и грибных препаратов для защиты растений от болезней.					
7	Биопрепараты для рекультивации нарушенных земель	-		-	10	5
	Всего		30			

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ КУРСОВОЙ РАБОТЫ (ПРОЕКТА)(не предусмотрены РУП)

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПОДГОТОВКЕ РЕФЕРАТА/ЭССЕ

3.1 Реферат/эссе содержит:

- титульный лист (Приложение 1);
- содержание;
- введение;
- основная часть;
- заключение;
- списки использованной литературы;
- приложения.

3.2 Оформление работы.

- материал, использованный в реферате, должен относиться строго к выбранной теме;
- необходимо изложить основные аспекты проблемы не только грамотно, но и в соответствии с той или иной логикой (хронологической, тематической и др.)
- при изложении следует сгруппировать идеи разных авторов по общности точек зрения или по научным школам;
- реферат должен заканчиваться подведением итогов проведенной исследовательской работы: содержать краткий анализ-обоснование преимуществ той точки зрения по рассматриваемому вопросу, с которой Вы солидарны.

Текст реферата не следует перегружать излишними цитатами, цифрами, датами. Реферат дополняется, если в этом есть необходимость, приложением иллюстраций, документов, схем

Все иллюстрации, использованные в работе, имеют сквозную нумерацию. Каждая иллюстрация должна быть снабжена подписью, соответствующей тексту реферата и самой иллюстрации.

Текст реферата. Он делится на три части:

- а) Введение - раздел реферата, посвященный постановке проблемы, которая будет рассматриваться и обоснованию выбора темы.
- б) Основная часть - это звено работы, в котором последовательно раскрывается выбранная тема. Основная часть может быть представлена как цельным текстом, так и разделена на главы. При необходимости текст реферата может дополняться иллюстрациями, таблицами, графиками, но ими не следует "перегружать" текст.
- в) Заключение - данный раздел реферата должен быть представлен в виде выводов, которые готовятся на основе подготовленного текста. Выводы должны быть краткими и четкими. Также в заключение можно обозначить проблемы, которые "высветились" в ходе работы над рефератом, но не были раскрыты в работе.

Список источников и литературы. В данном списке называются как те источники, на которые ссылается студент при подготовке реферата, так и все иные, изученные им в связи с его подготовкой. В работе должно быть использовано не менее 10 разных источников. Работа, выполненная с использованием материала, содержащегося в одном научном источнике, является явным плагиатом и не принимается. Оформление Списка источников и литературы должно соответствовать требованиям библиографических стандартов.

Объем и технические требования, предъявляемые к выполнению реферата.

Объем работы должен быть, как правило, не менее 10 и не более 25 страниц компьютерного текста (TimesNewRoman, интервал 1,5, шрифт 14). Размеры оставляемых полей: левое - 30 мм, правое - 15 мм, нижнее - 20 мм, верхнее - 20 мм. Страницы должны быть пронумерованы. Титульный лист включается в общую нумерацию страниц, но на нем номер не указывается.

Расстояние между названием части реферата или главы и последующим текстом должно быть равно трем интервалам. Фразы, начинающиеся с "красной" строки, печатаются с абзацным отступом от начала строки, равным 1 см.

При цитировании необходимо соблюдать следующие правила:

текст цитаты заключается в кавычки и приводится без изменений, без произвольного сокращения цитируемого фрагмента (пропуск слов, предложений или абзацев допускается, если не влечет искажения всего фрагмента, и обозначается многоточием, которое ставится на месте пропуска) и без искажения смысла;

каждая цитата должна сопровождаться ссылкой на источник, библиографическое описание которого должно приводиться в соответствии с требованиями библиографических стандартов.

При составлении списка литературы необходимо соблюдать следующую последовательность: сначала монографии, затем брошюры, учебники или учебные пособия (если вы ими пользовались), тезисы докладов научно-теоретических конференций, научные статьи.

3.3 Критерии оценки реферата/эссе:

- правильность и аккуратность оформления;
- актуальность темы;
- соответствие содержания работы выбранной теме;
- степень самостоятельности автора при освещении темы.

4. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ДОМАШНИХ ЗАДАНИЯ (не предусмотрены РУП)

5. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО САМОСТОЯТЕЛЬНОМУ ИЗУЧЕНИЮ ВОПРОСОВ

5.1 Почвенная биотехнология: краткая история развития. Физико-химические характеристики почвы. Микроскопическое население почвы разных типов.

1. Почвенные микроорганизмы в превращении фенольных соединений
2. Распределение микроорганизмов в почве

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на следующие особенности: факторы и условия почвообразования, химические и физические свойства почв, тепловые свойства и тепловой режим почв и т.д.

5.2 Механизмы действия населения почвы в формировании гумуса.

1. Роль хемолитоавтотрофных организмов в биогенных круговоротах веществ
2. Роль хитинолитических организмов в образовании гумуса.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на содержание органического вещества, и в том числе гумуса в пахотном слое разных почв сильно колеблется, органические

вещества почвы представлены в виде веществ органической природы, входящих в состав организмов (живых и мертвых), а также специфических гумусовых веществ.

5.3 Фиксация молекулярного азота: значение, микроорганизмы, процесс фиксации молекулярного азота.

1. Процессы аммонификации в почве и значение в образовании гумуса

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на использование гуминовых веществ, понятие гуминовых веществ, их природное происхождение и биосферные функции. Химическая структура гуминовых веществ

5.4 Стимуляция роста растений биологически активными веществами.

1. Синтез фитогормонов микроорганизмами.

2. Фиторегуляторы – получение, механизм действия.

3. Производство флавобактерина и ризоэнтерина.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на биоферментацию отходов на клеточном уровне и созревание компоста, важные аспекты стимулятора роста при использовании стимуляторы роста и т.д.

5.5 Микроорганизмы как естественные антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий и их метаболиты. Применение бактериальных и грибных препаратов для защиты растений от болезней.

1. Производство ризобактерина и экстразола

2. Энтомопатогенные микроорганизмы и препараты на их основе.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на освобождение почвы от фитопатогенных организмов способствует усилению размножения в ней микробов — антагонистов возбудителей тех или иных заболеваний. Например, после посева люцерны почва очищается от возбудителя вертициллезного вилта хлопчатника.

5.6 Биопрепараты для рекультивации нарушенных земель.

1. Рекультивация нарушенных почв и земель.

2. Основные группы микроорганизмов и их экологические функции в восстановлении почв.

При изучении вопроса необходимо обратить внимание на основные группы микроорганизмов, которые используются для рекультивации почв и земель *in situ* и *ex situ*.

6. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПО ПОДГОТОВКЕ К ЗАНЯТИЯМ

6.1 ЛР-1 Почвенная биотехнология: краткая история развития. Физико-химические характеристики почвы. Микроскопическое население почвы разных типов

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты. Правила подготовки лабораторного оборудования и лаборатории к работе с почвенными микроорганизмами. Правила посева микроорганизмов на специфические питательные среды, микроскопирования и подсчета организмов.

6.2 ЛР-2 Механизмы действия населения почвы в формировании гумуса

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты. Подбор специфической питательной среды и условий культивирования для различных групп почвенных организмов.

6.3 ЛР-3 Фиксация молекулярного азота: значение, микроорганизмы, процесс фиксации молекулярного азота.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты. Различные типы почв отличаются по качественному и количественному составу почвенных микроорганизмов.

6.4 ЛР-4 Биоудобрения и биоинтенсивное земледелие

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты. Способы определения общей биологической активности, по выделению углекислого газа, аммонифицирующую, целлюлазную, фосфатазную, нитрифицирующую, денитрифицирующую и азотфиксирующую почвы.

6.5 ЛР-5 Стимуляция роста растений биологически активными веществами.

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты. Способы выявления антибиотических свойств у микроорганизмов, определить чувствительность к антибиотическим веществам. Основные технологические этапы получения биологически активных веществ.

6.6 ЛР-6 Микроорганизмы как естественные антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий и их метаболиты. Применение бактериальных и грибных препаратов для защиты растений от болезней

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

Потенциальная опасность агрохимикатов для здоровья человека и их воздействие на среду его обитания вызывают необходимость научного поиска и разработки новых

подходов к организации защитных мероприятий в сельском хозяйстве. В связи с накоплением фактов негативного воздействия на природу и человека в конце XX века возникает теория и практика **Биологического или альтернативного земледелия**. Одним из важнейших методов этого направления является использование микробиологических землеудобрильных препаратов и средств защиты растений.

Биологическая защита растений - это направленное применение живых организмов и вырабатываемых ими биологически активных веществ (БАВ) для снижения ущерба, наносимого культурным растениям вредителями и болезнями. Это направление в защите растений, возникло много лет назад после бума химизации и обусловлено:

Микробные биопрепараты для защиты растений

По принципу действия выделяют следующие группы препаратов:

1) **Препараты цидного действия** – это возбудители болезней животных, растений-сорняков. Чаще всего действующим началом в этих препаратах являются паразиты первого порядка или хищники (примеры: препараты **Боверин**, **микогербицид**, **бактороденцид**, **триходермин**).

2) **Препараты микроорганизмов-антагонистов**, ограничивающих распространение вредителей и болезней. Например, бактерии рода *Pseudomonas* быстро усваивают ионы железа, превращая их в **Сидерофоры**, недоступные для других микроорганизмов (препараты **Ризоплан**, **псевдобактерин**).

3) **Препараты гиперпаразитов или паразитов II-го порядка**: Например пикнидиальный гриб *Cicinobolus cesati* паразитирует на возбудителях мучнистой росы, бактерии рода *Pseudomonas* - на фузариозных грибах. **Пентафаг** - препарат пяти бактериофагов – гиперпаразитов фитопатогенных бактерий.

4) **Препараты антибиотиков, токсикантов и антифидантов** - Продукты метаболизма микроорганизмов, ингибирующие жизнедеятельность других микробов, обладающие нейротоксическим или репеллентным действием. Примеры: **Агравертин**, **фитоверм**, **трихотецин**, **фитофлавин** и др.

6.7 ЛР-7 Биопрепараты для рекультивации нарушенных земель

При подготовке к занятию необходимо обратить внимание на следующие моменты.

Известен способ рекультивации токсичных земель, нарушенных при добыче угля (патент РФ №2181933, А01В 79/02, опубл. 10.05.2002), включающий планировку поверхности, затем посев семян многолетних растений, обработанных культурами *Azotobacter chroococcum* Mut-1 В-35 и *Bacillus megaterium* КС-1 В-135. Далее проводят инокуляцию почвогрунтов суспензией бактериальных клеток рода *Pseudomonas*, выделенных из почвы грунтов отвальной поверхности, из расчета $100 \cdot 10^8$ клеток в 1 мл. В известном способе выращивание клеток рода *Pseudomonas* проводили в стерильных условиях, в количествах нескольких пробирок. Для промышленного способа рекультивации больших площадей при добыче каменного угля такой способ наработки микроорганизмов не сможет обеспечить нужное количество суспензии клеток рода *Pseudomonas*.

Известен способ биологической ремедиации нефтезагрязненных почв (патент РФ №2290270, В09С 1/10, опубл. 27.12.2006), заключающийся в том, что почву обрабатывают сухим бакпрепаратом с наполнителем. В качестве микроорганизмов используют штамм *Pseudomonas fluorescens* КО (ВНИИСХМ Д-619) и штамм *Pseudomonas aeruginosa* КОА-3 (ВНИИСХМ Д-609), а в качестве наполнителя используют отходы бурого угля. После обработки почвы ее засевают семенами смеси бобовых и злаковых культур, предварительно обработанных сухим регулятором роста растений, в качестве которого берут бакпрепараты на основе *Azotobacter chroococcum* Mut-1 (ВНИИСХМ В-35 Д), *Bacillus megaterium* КС-1 (ВНИИСХМ В-135 Д). Применение изобретения позволяет достичь устойчивого травостоя на почве после разложения нефтепродуктов. Недостаток данного способа заключается в том, что биопрепарат и регулятор роста растений используют в сухом виде, что значительно снижает эффективность известного

способа, поскольку, как известно, все микроорганизмы проявляют свою максимальную активность в жидкой среде.

Известен наиболее близкий к предлагаемому (прототип) способ биологической рекультивации нарушенных земель (патент РФ №2181640, В09С 1/10, опубл. 27.11.2013), предусматривающий применение минеральных удобрений и предпосевную бактеризацию семян микроорганизмами. При этом в рекультивируемый грунт после внесения минеральных удобрений вносят биологически активный препарат на основе консорциума кислотообразующих бактерий (ВКПМ В-5972), состоящего из *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus salivarius* var. *salicinius*, *Lactobac. salivarius* var. *salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*. Затем проводят посев семян, бактеризованных биопрепаратом на основе *Azotobacter chroococcum* (ВКПМ В-3721), после чего засеянный грунт опрыскивают водным раствором композиции, состоящей из биопрепаратов на основе *Az. chroococcum* (ВКПМ В-3721) и биопрепарата на основе *Vac.mucilagenosus* (ВКПМ В-5987) и гелеобразующего биополимера. Сформировавшиеся вегетирующие растения обрабатывают композицией биологически активных веществ, включающих препарат на основе консорциума молочно-кислых бактерий (ВКПМ В-5973), состоящего из *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus salivarius* var. *salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, и регулятор роста, например, эль-1. Задачей, решаемой указанным способом, является ускоренное почвообразование, благодаря внесению отселектированных почвенных агрополезных микроорганизмов, а на последующих этапах - рекультивация и формирование плодородных земель. Недостатком известного решения является сложность получения консорциума молочно-кислых бактерий, включающего пять различных штаммов культур. Молочно-кислые бактерии склонны к инфицированию и для их выращивания требуются дорогостоящие субстраты и длительный период времени. Кроме того, для формирования плодородных земель необходимо также использовать азотфиксирующие и фосфатрастворяющие бактерии. Приведенные в известном решении примеры свидетельствуют об отсутствии гумуса, наличие которого является показателем восстановления почвы.

Задачей, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, является разработка способа с применением высокоэффективного биопрепарата, способствующего быстрой рекультивации нарушенных земель.

Техническим результатом, на достижение которого направлено предлагаемое изобретение, является упрощение технологии и повышение качества рекультивации при одновременном сокращении затрат на ее проведение.

Указанный технический результат достигается за счет того, что в способе рекультивации нарушенных земель, включающем внесение в почву биологически активного препарата на основе консорциума бактерий с последующим посевом травосмеси, в почву вносят суспензию биопрепарата, в котором в качестве бактерий используют культуры *Alcaligenes faecalis* ВКПМ В-12416 и *Microbacterium testaceum* ВКПМ Ас-1998, взятые в соотношении 1:1. В почву вносят такое количество суспензии биопрепарата, в котором количество культуры *Alcaligenes faecalis* ВКПМ В-12416 по абсолютно сухому веществу составляет от 3,0 г до 5,0 г на 1 м² почвы.

Штаммы, используемые для получения биопрепарата в предлагаемом способе, получены селекционным путем из образцов проб грунта с Бованенковского НГКМ п/о Ямал.

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет»

Кафедра биологии, природопользования и экологической безопасности

Реферат
по дисциплине
«Почвенная биотехнология»
на тему:

«Стимуляция роста растений биологически активными веществами»

Работу выполнил (а):

Научный руководитель:
профессор Иванов И.И.

Оренбург
20__

