Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Факультет почвоведения

УТВЕРЖДАЮ

и.о. декана П.В.Красильников /_____ /

«___» _____20__ г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Наименование дисциплины:

Современные методы биологии почв

Уровень высшего образования:

Магистратура

Направление подготовки (специальность):

06.04.02 Почвоведение

Направленность (профиль) ОПОП:

Биология почв

Форма обучения: очная

Рабочая программа рассмотрена и одобрена учебно-методической комиссией факультета почвоведения (протокол №_____, дата _____)

Москва 2021

На обратной стороне титула:

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с самостоятельно установленным МГУ образовательным стандартом (ОС МГУ) для реализуемых основных профессиональных образовательных программ высшего образования по направлению подготовки *06.04.02 Почвоведение* программы магистратуры

ОС МГУ утвержден решением Ученого совета МГУ имени М.В. Ломоносова от *28 декабря* 2020 года (протокол № *7*).

1. **Место дисциплины в структуре ОПОП:** *вариативная часть, профессиональная*

2. **Входные требования для освоения дисциплины, предварительные условия:** до данной дисциплины студентами должны быть освоены Общая химия, Физическая химия, Коллоидная химия, Органическая химия, основы почвоведения, а также спецкурсы «Строение, развитие и систематика бактерий», «Строение, развитие и систематика грибов», «Динамика микробных популяций», «Биохимия микроорганизмов», «Физиология почвенных микроорганизмов», «Молекулярные методы в почвоведении», «Геохимическая деятельность микроорганизмов», «Микробная трансформация азота».

3. **Планируемые результаты обучения в результате освоения дисциплины, соотнесенные с требуемыми компетенциями выпускников:**

Компетенции выпускников (коды)	**Индикаторы (показатели) достижения компетенций**	**Планируемые результаты обучения по дисциплине, сопряженные с компетенциями**
М-СПК-4. Способен использовать в профессиональной деятельности знания о роли микроорганизмов в глобальных биогеохимических циклах элементов в биосфере, а также значении почвенных организмов в почвообразовании и формировании плодородия почв	СПК-4.1 Использует в профессиональной деятельности знания о роли микроорганизмов в глобальных биогеохимических циклах элементов в биосфере	Знает о роли микроорганизмов в глобальных геохимических циклах биофильных элементов (углерод, азот, фосфор), в том числе, в смягчении глобального потепления. Умеет использовать современные кинетические методы для определения интенсивности процессов деструкции органического вещества почвенными микроорганизмами. Владеет методами комплексной оценки «здоровья почв» на основе современных концепций метагеномики, метаболомики митатранскриптомики и метапротеомики.
М-СПК-5. Способен проводить самостоятельные экспериментальные исследования в области почвенной микробиологии: анализировать научную литературу, формулировать	СПК-5.1. Проводит самостоятельные экспериментальные исследования в области почвенной микробиологии: анализирует научную литературу, формулирует актуальные цели и задачи; ориентируется в современных методах почвенной	Знает правильные алгоритмы организации научного эксперимента и формулирования цели и задач исследования на основе подбора современных литературных источников. Умеет использовать комплекс современных методов определения биофильных

актуальные цели и задачи; ориентируется в современных методах почвенной микробиологии и биохимии; несет ответственность за качество работ и достоверность полученных результатов	микробиологии и биохимии; несет ответственность за качество работ и достоверность полученных результатов	элементов в составе почвенной микробной биомассы. Владеет навыками экспресс-определения динамики ферментативной активности в почве.
М-СПК-7. Способен использовать профессиональные знания и практические навыки при решении практических задач по оценке качества природных объектов, разработке методов очистки и рекультивации загрязненных территорий, управлению микроорганизмами, положительно влияющими на рост растений, выявлению продуцентов физиологически активных веществ и борьбе с патогенными микроорганизмами	СПК-7.1 Применяет профессиональные знания и практические навыки при решении практических задач по оценке качества природных объектов, разработке методов очистки и рекультивации загрязненных территорий, управлению микроорганизмами, положительно влияющими на рост растений, выявлению продуцентов физиологически активных веществ и борьбе с патогенными микроорганизмами	Знает основные механизмы взаимовыгодной кооперации организмов в системе «растения-микроорганизмы». Умеет разрабатывать концепции очистки загрязненных территорий на основе использования концепции PGPR организмов. Владеет современными методами, адаптированными к применению концепций ризосферы, “hot spots” и «голобионтов»

4. **Объем дисциплины** *3* з.е., в том числе *72* академических часов на контактную работу обучающихся с преподавателем, *36* академических часов на самостоятельную работу обучающихся.

5. **Формат обучения** *очный*

6. **Содержание дисциплины, структурированное по разделам и темам, с указанием отведенного на них количества академических часов, и виды учебных занятий**:

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины / форма текущей аттестации	**Всего (часы)**	В том числе							
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем					**Самостоятельная работа обучающегося**		
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа (семинары)	Занятия семинарского типа (лабораторные)	Занятия семинарского типа (практические)	**Всего**	Анализ литературы	Подготовка презентаций и докладов	**Всего**
Раздел 1. Методы определения структуры микробного сообщества и микробной биомассы в почве	**34**	**12**	**12**			**24**	**10**		**10**
Тема 1. Классификация методов почвенной микробиологии	6	2	2			4	2		2
Тема 2. Методы определения структуры микробного сообщества в почве, основанные на реакции ПЦР	8	4	2			6	2		2
Тема 3. Прочие методы определения таксономического и функционального разнообразия	8	2	4			6	2		2

почвенного микробного сообщества									
Тема 4. Биоцидные методы определения микробной биомассы в почве	6	2	2			4	2		2
Тема 5. Методы, основанные на анализе дыхательного отклика микробного сообщества	6	2	2			4	2		2
Форма текущей аттестации по разделу	*Представление докладов, дискуссия*								
Раздел 2. Глобальные изменения климата, парниковые газы и их круговорот в наземных экосистемах	**34**	**12**	**14**			**26**	**8**		**8**
Тема 1. Глобальные изменения климата	6	2	2			4	2		2
Тема 2. Методы измерения концентраций CO_2 и других парниковых газов в воздухе	6	2	2			4	2		2
Тема 3. Методы определения эмиссии CO_2 и других парниковых газов с почвенной поверхности	8	4	2			6	2		2
Тема 4. Неизотопные методы раздельного определения корневого и микробного дыхания	8	2	4			6	2		2

Тема 5. Изотопные методы раздельного определения корневого и микробного дыхания	6	2	4			6			
Форма текущей аттестации по разделу	*Представление докладов, дискуссия*								
Раздел 3. Методы, применяемые при изучении микробного сообщества ризосферы	**18**	**6**	**6**			**12**	**6**		**6**
Тема 1. Понятие о “hot spots” и ризосфере	6	2	2			4	2		2
Тема 2. Методы визуализации ризосферы и “hot spots”	6	2	2			4	2		2
Тема 3. Особенности использования изотопов ^{13}C и ^{14}C в ризосфере	6	2	2			4	2		2
Форма текущей аттестации по разделу	*Представление докладов, дискуссия*								
Раздел 4. Прочие методы, применяемые при изучении микробного сообщества и органического вещества почвы	**16**	**6**	**4**			**10**	**6**		**6**
Тема 1. Молекулярно-биологические методы	4	2	2			4			
Тема 2. Масс – спектрометрические методы	4	2				2	2		2

Тема 3. Методы определения структуры ПОВ	4	2				2	2		2
Тема 4. Манипуляционные эксперименты	4		2			2	2		2
Форма текущей аттестации по разделу	*Представление докладов, дискуссия*								
Промежуточная аттестация	***Экзамен***						***4***		
Итого:	72								

Подробное содержание разделов и тем дисциплины:

Раздел 1. Методы определения структуры микробного сообщества и микробной биомассы в почве

Тема 1. Классификация методов почвенной микробиологии

Классификация методов почвенной микробиологии по назначению: 1) для определения видового и функционального разнообразия почвенного микробного сообщества; 2) для определения биомассы почвенных микроорганизмов. Классификация методов по принципу получения аналитического сигнала:

1) методы, основанные на реакции ПЦР; 2) метод физиологического профиля;

3) методы, основанные на анализе биомаркеров; 4) биоцидные методы; 5) методы, основанные на определении дыхательного отклика микробного сообщества. Концепция биоразнобразия и ее развитие в XXI в. Концепция метагенома. Развитие концепции метагенома в XXI в. Концепция гологенома. Понятие о метатранскриптомике, метаболомике, метапротеомике и метамобиломике. Недостатки «традиционных» методов почвенной микробиологии при решении этих задач. Незаменимость молекулярно-биологических методов при обнаружении и учете ранее неизвестных некультивируемых микроорганизмов. Концептуальное несовершенство молекулярно-биологических и некоторых других современных инструментальных методов, связанное с известным абстрагированием от собственно живых объектов (концепцией «черного ящика»).

Тема 2. Методы определения структуры микробного сообщества в почве, основанные на реакции ПЦР.

Назначение молекулярно-биологических методов: определение таксономической структуры микробного сообщества; оценка функционального разнообразия микробного сообщества; детализация процессов превращения веществ и биофильных элементов в экосистеме путем комбинирования молекулярно-биологических методов с изотопными методами. Принципиальная схема методов, основанных на использовании полимеразной цепной реакции - ПЦР *(PCR-based methods)*. Создание филогенетического дерева на основе анализа гена малой субъединицы 16S рРНК *(16S rRNA gene).* Основные этапы и трудности при получении экстрактов ДНК из почвы. Недостатки методов, основанных на использовании реакции ПЦР. Полимеразная цепная реакция: принципиальная схема, возможности, недостатки. Принципиальная схема разделения фрагментов ДНК для анализа структуры микробного сообщества: клонирование, разделение фрагментов по конформации (АТ – ГЦ составу); разделение по длине фрагментов. Метод денатурирующего градиентного гель-электрофореза (*denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE).* Основные типы денатурирующих гелей. Разновидность *DGGE* - гель-электрофорез в термоградиентном геле *(temperature gradient gel electrophoresis, TGGE).* Метод полиморфизма длин терминальных рестрикционных фрагментов ДНК (*terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP).* Метод конформационного полиморфизма одиночной цепи ДНК (*single strand conformational polymorphism, SSCP).* Метод анализа рестрикции амплифицированных генов рРНК *(amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA); automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA).*

Тема 3. Прочие методы определения таксономического и функционального разнообразия почвенного микробного сообщества

Методы, основанные на анализе биомаркеров. Метод жирных кислот фосфолипидов (ЖКФ) *(phospholipid fatty acids- PLFA profiling).* Номенклатура ЖКФ, диагностические отличия в структуре молекул ЖКФ. Область применимости метода ЖКФ, его особенности как метода, находящегося «на переходе» между методами определения видового разнообразия и методами определения микробной биомассы в почве. Прочие биомаркерные методы - определение профилей липопротеидов *(LPS)*, гликолипидов, липотейхоевых кислот и др.

Метод физиологического профиля микробного сообщества *(community level physiological profiling, CLPP).* Недавние модификации метода физиологического профиля: методы определения дыхательной активности почвенного микробного сообщества с использованием системы «MicroResp – детектирование» 1) по цветовому индикатору; 2) по радиоактивности.

Тема 4. Биоцидные методы определения микробной биомассы в почве

Биоцидные методы. Фумигационный метод, его основные разновидности: метод фумигации – инкубации *(fumigation-incubation, FI method)* и метод фумигации-экстракции *(fumigation-extraction, FE method).* Регидратационный метод, его основные разновидности: метод регидратации – инкубации *(rehydration-incubation, RI method)* и метод регидратации-экстракции *(rehydration-extraction, RE method).* Определение АТФ в почве. Комбинирование биоцидных и изотопных методов.

Тема 5. Методы, основанные на определении дыхательного отклика микробного сообщества

Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД) (*substrate – induced respiration, SIR*). Кинетический метод определения микробной биомассы (*kinetics of substrate-induced response, KSIR)*, его преимущества и недостатки по сравнению с методом *SIR.* Инструментальные методы определения эмиссии CO_2 из почвы, применяемые для *SIR* и *KSIR.* Калибровка методов определения микробной биомассы в почве. Понятие об общей, активной и покоящейся части микробной биомассы, возможности экспериментального определения и математической аппроксимации этих пулов. Стереотип «активной биомассы» в почвенной микробиологии. Экспериментальное определение пересчетных коэффициентов, чувствительность пересчетных коэффициентов к факторам окружающей среды, трудности интерпретации полученных данных при использовании постоянных (справочных) величин пересчетных коэффициентов. Основная проблема, общая для всех методов определения микробной биомассы в почве – проблема неоднозначности связи между измеряемыми показателями и микробной биомассой как таковой (проблема пересчета).

Раздел 2. Глобальные изменения климата, парниковые газы и их круговорот в наземных экосистемах

Тема 1. Глобальные изменения климата

Глобальные изменения климата и парниковые газы в атмосфере. Чарльз Дэвид Килинг и его роль в открытии глобального потепления в XX в. Роль почв и наземных экосистем как источника и стока для атмосферного углекислого газа. Количественные показатели глобального цикла углерода. Вклад развитых и развивающихся государств в изменение климата. Инструментально определяемые индикаторы глобального изменения климата. Вековая динамика парниковых газов в атмосфере. Высокая степень неопределенности в моделях углерода и динамики атмосферы.

Тема 2. Методы измерения концентраций CO_2 и других парниковых газов в воздухе

Адсорбционный метод, включая современные инструментальные модификации данного метода *(adsorption method)*; газовая хроматография *(GC)*; инфракрасная газометрия (*IRGA*); адсорбционная спектроскопия с перестраиваемым диодным лазером *(tunable diode laser absorption spectroscopy, TDLAS)*; спектроскопия, основанная на форме убывания «утечки» световой энергии в кювете при фиксированной длине волны *(Wavelength-Scanned Cavity Ring Down Spectroscopy WS-CRDS).* Принципиальное преимущество *TDLAS* и *WS-CRDS* перед остальными методами измерения концентраций CO_2. Дыхание почвы.

Тема 3. Методы определения эмиссии CO2 и других парниковых газов с почвенной поверхности

Камерные методы *(chamber methods).* Автор камерного метода. Эволюция камерных методов за последние 90 лет. Градиентные методы *(gradient methods)* – принципы метода, инструментальные ограничения. Микрометеорологический метод - метод ковариации вихрей (*Eddy Covariance, EC method*). Развитие метода *Eddy Covariance* в последние 20

лет, особенности эволюции приборной базы, расширение области использования. Применимость методов, комбинирование методов определения эмиссии CO_2 и других парниковых газов с поверхности почвы.

Тема 4. Неизотопные методы раздельного определения корневого и микробного дыхания

Понятие о корневом (КД), микробном (МД) и ризомикробном (РМД) дыхании. Обоснование раздельного определения этих потоков. Группы методов раздельного определения потоков CO_2 из почвы: изотопные и неизотопные. Понятие о ризосферном затравочном эффекте (прайминг–эффекте).

Разностные методы (*root exclusion*). Методы кольцевания (*girdling*), траншей (*trenching*), затенения (*shading*), срезания растений (*clipping*) как разновидности разностного метода. Метод раздельного инкубирования/ интеграции компонентов (*component integration*). Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД) (*substrate-induced respiration, SIR*). Методы определения дыхательных затрат с экспозицией отмытых корней (*excised roots*).

Тема 5. Изотопные методы раздельного определения корневого и микробного дыхания

Метод изотопного разбавления (*isotope dilution*). Метод искусственных ризодепозитов (*model rhizodeposition).* Метод вымывания корневых выделений (*exudates elution*). Метод моделирования динамики меченого CO_2 после импульсного мечения растений (*modeling of the $^{14}CO_2$ efflux dynamics*). С3 и С4 фотосинтез: история открытия, основные даты, эффект фракционирования по изотопу ^{13}C. С3-С4 и С4-С3 переходы *(C3-C4 and C4-C3 transition*). Принцип расчета $\delta^{13}C$, понятие о стандарте WPDB. Принципы метода естественного варьирования $\delta^{13}C$ (*natural abundance method).* Естественное обогащение ^{13}C (значения $\delta^{13}C$) в С3 и С4 растениях, основных природных пулах углерода и компонентах экосистем. Биохимическое фракционирование на уровне индивидуальных веществ, для главных, изменение $\delta^{13}C$ вниз по профилю почв, зависимость $\delta^{13}C$ от содержания С в почвенном гумусе. Метод оценки бомбового ^{14}C (*bomb ^{14}C spike method with AMS – spectroscopy*) - принцип метода, потенциал использования во времени.

Раздел 3. Методы, применяемые при изучении микробного сообщества ризосферы

Тема 1. Понятие о “hot spots” и ризосфере

Концепция ризосферы, данная Лоренцем Хильтнером, автором термина. Современное преставление о ризосфере в широком контексте концепции “hot spots”, понятия о дрилосфере, детритосфере, биопорах. Виды корневых выделений: экссудаты, высокомолекулярные ризодепозиты, муцигели, лизаты, газообразные выделения. Взаимодействие между корнями растений и ризосферными микроорганизмами. Корневые кластеры. Функции корневых кластеров. Морфология кластеров и их структурная и биохимическая специализация. Биогеохимическая роль ризодепозитов. Ризолиты.

Тема 2. Методы визуализации ризосферы и “hot spots”

Особенности применения молекулярно-биологических методов при изучении ризосферы. Визуализация местообитаний/колонизации. Метод зимографии *(zymography).* Метод флюоресцентной гибридизации in situ *(fluorescence in situ hybridization, FISH).* Разновидности метода *(CARD-FISH, MAR-FISH).* Использование ризотронов в системах долговременных мониторинговых экспериментов *in situ.*

Тема 3. Особенности использования изотопов ^{13}C и ^{14}C в ризосфере

Использование стабильных изотопов (*stable isotope probing, SIP*). Методы импульсного *(pulse chase labeling)* и постоянного мечения *(continuous labeling)* растений с $^{13}CO_2$ и $^{14}CO_2$. Круг задач, решаемых с помощью импульсного и постоянного мечения. Использование постоянного мечения с ^{13}C для определения вклада КД, МД и РМД в почвенное дыхание, основанное на тех же принципах расчета, что и в методе естественного варьирования $\delta^{13}C$.

Раздел 4. Прочие методы, применяемые при изучении микробного сообщества и органического вещества почвы

Тема 1. Молекулярно-биологические методы.

Метод клонирования. Векторы и клетки-хозяева для метагеномного клонирования почвенной ДНК.

Метод ре-ассоциации ДНК *(community DNA re-association method with Cot– plots).* Сравнительная оценка относительных индексов разнообразия микробного сообщества, выраженных в единицах геномов *E. coli.*

Метод геночипов *(genochips, "PhyloChips").* Принципиальные отличия этого метода от традиционной гибридизации. Новое поколение геночипов на основе мРНК *(mRNA arrows).*

Тема 2. Масс-спектрометрические методы

Масс-спектрометрия *(mass-spectrometry)*: общие принципы; масс-спектрометрия органических соединений и изотопов; классификация масс-спектрометрических методов по методу ионизации частиц. AMS – спектрометрия *(accelerator mass spectrometry, AMS).* Принципиальные преимущества AMS- спектрометрии перед другими видами масс-спектрометрии.

Масс-спектрометрический метод для определения белковых профилей - времяпролетная масс-спектрометрия *(matrix-assisted laser desorption ionization and time –of-flight, MALDI-TOF).* Оценка родства по составу белков. Понятие протеома *(proteome).*

Масс-спектрометрия вторичных ионов *(secondary ions mass spectrometry, SIMS).* Современная разновидность метода – нанометрическая масс-спектрометрия вторичных ионов *(nanometer - scale secondary ions mass spectrometry, Nano-SIMS).* Возможности современных разновидностей *Nano-SIMS*, применяемых в биологии (на примере прибора NanoSIMS 50, Cameca Instruments, Inc., Paris, France). Комбинирование флюоресцентной гибридизации с масс-спектрометрией вторичных ионов.

Тема 3. Методы определения структуры почвенного органического вещества (ПОВ)

Рентгеновская спектроскопия *(X-ray spectroscopy).* Тонкая структура рентгеновского спектра поглощения *(X-ray absorption fine structure, XAFS-spectroscopy).* Околопороговая тонкая структура рентгеновского спектра поглощения *(X-ray near edge absorption fine structure – XANES, или near edge X-ray absorption fine structure - NEXAFS).* Протяженная тонкая структура рентгеновского спектра поглощения *(extended X-ray absorption fine structure, EXAFS).* Возможности *XANES* и *EXAFS* в применении к внутрипочвенным объектам. Визуализация рентгеновских спектров.

Метод ядерного магнитного резонанса, ЯМР - спектроскопия *(NMR – spectroscopy).* История создания метода. Российские ученые – первооткрыватели в области ЯМР. Жидкофазная и твердофазная ЯМР - спектроскопия. Функциональные группы почвенного органического вещества, определяемые методом ЯМР.

Тема 4. Манипуляционные эксперименты.

Контролируемые факторы окружающей среды: нагрев, атмосферные осадки, солнечная радиация, концентрация CO_2, изотопный состав CO_2 и атмосферного воздуха и др. Полевые эксперименты с открытой атмосферой *(free air carbon experiments, FACE),* сочетание с обедненным $^{13}CO_2$ *(free air carbon experiments with ^{13}C labeling, ^{13}C - FACE experiments).* Манипуляционные эксперименты по изучению влияния стрессов на циклы биофильных элементов в лесной экосистеме и в почве. Использование мобильных лабораторий с постоянной генерацией $^{13}CO_2$ для экспериментов in situ. Комбинирование методов раздельного определения потоков CO2, импульсного или постоянного мечения, FACE, биохимических и молекулярно-биологических методов определения пула микробной биомассы и структуры почвенного микробного сообщества.

7. **Фонд оценочных средств для оценивания результатов обучения по дисциплине**:

7.1. **Типовые контрольные задания или иные материалы для проведения текущего контроля:**

Раздел 1. Методы определения структуры микробного сообщества и микробной биомассы в почве

Темы докладов

1. Сравнительная эффективность методов DGGE и TRFLP при определении структуры микробного сообщества в почве.
2. Особенности определения структуры сообществ микромицетов молекулярными методами.
3. Концепции метагенома и гологенома, их связь с развитием методов оценки биоразнообразия в почве.
4. Метод жирных кислот фосфолипидов (ЖКФ) – перспективы использования для оценки потоков С в наземных экосистемах.
5. Определение фосфора микробной биомассы в почве: перспективы и трудности в разработке методических подходов.
6. Биоцидные методы: перспективы развития в XXI веке.

Раздел 2. Глобальные изменения климата, парниковые газы и их круговорот в наземных экосистемах

Темы докладов

1. История открытия глобального изменения климата в XX в.
2. Чарльз Дэвид Килинг и его роль в разработке концепции парикового эффекта. Важность работ на стыке физики атмосферы, экологии, почвоведения, биогеохимии, химии ксенобиотиков.
3. Индикаторы глобального изменения климата.
4. Современные тренды в изменении климата, основные направления работ по смягчению последствий глобального потепления.
5. Прайминг-эффект (затравочный эффект) в почве, источники прайминга.
6. Раздельное определение дыхания корней и почвенных микроорганизмов.
7. С3-С4 переход – как использовать данный метод для разделения корневого и микробного дыхания?
8. Определение показателей GPP, NPP, NEP в наземных экосистемах.

Раздел 3. Методы, применяемые при изучении микробного сообщества ризосферы

Темы докладов

1. Прайминг-эффект в ризосфере.
2. Визуализация микроорганизмов и ферментативной активности в ризосфере.
3. Применение метода FISH для изучения пространственной организации ризосферы.
4. Концепция «hot spots” в современной почвенной микробиологии.
5. Определение потоков биофильных элементов в системе «почва-микроорганизмы-растения».
6. Развитие ризосферы и ризосферного эффекта.
7. C:N:P:S стехиометрия в основных составляющих наземных экосистем – как это «работает» в условиях абиотических стрессов?
8. Сигнальные вещества в ризосфере. Ансамбли ризосферных микроорганизмов.

Раздел 4. Прочие методы, применяемые при изучении микробного сообщества и органического вещества почвы

Темы докладов

1. Методы 3-D визуализации распределения биофильных и микроэлементов в почве и ризосфере.

2. Масс-спектрометрия Nano-SIMS как современный метод изучения почвы, ризосферы и детритосферы.
3. Почвенное органическое вещество и организация микробного сообщества в почве и детритосфере.
4. Метод ядерного магнитного резонанса (ЯМР): история создания, место среди других современных методов почвенной биологии и химии почв.

7.2. **Типовые контрольные вопросы, задания или иные материалы для проведения промежуточной аттестации:**

1. Классификация методов почвенной микробиологии по назначению и по принципу получения аналитического сигнала
2. Концепция биоразнобразия и ее развитие в XXI веке
3. Концепция метагенома. Развитие концепции метагенома в XXI веке
4. Понятие о метатранскриптомике, метаболомике, метапротеомике и метамобиломике.
5. Преимущества молекулярно-биологических методов перед традиционными («классическими»).
6. Концептуальное несовершенство молекулярно-биологических и некоторых других современных инструментальных методов. Концепция «черного ящика» в метагеномике.
7. Назначение молекулярно-биологических методов. Комбинирование молекулярно-биологических методов с изотопными методами.
8. Принципиальная схема методов, основанных на использовании полимеразной цепной реакции - ПЦР (PCR-based methods).
9. Создание филогенетического дерева на основе анализа гена малой субъединицы 16S рРНК (16S rRNA gene).
10. Основные этапы и трудности при получении экстрактов ДНК из почвы. Недостатки методов, основанных на использовании реакции ПЦР.
11. Принципиальная схема разделения фрагментов ДНК для анализа структуры микробного сообщества.
12. Метод денатурирующего градиентного гель-электрофореза (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE). ТГГЭ.
13. Метод полиморфизма длин терминальных рестрикционных фрагментов ДНК (terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP).
14. Метод конформационного полиморфизма одиночной цепи ДНК (single strand conformational polymorphism, SSCP).
15. Методы анализа рестрикции амплифицированных генов рРНК (amplified ribosomal DNA restriction analysis, ARDRA); автоматизированного анализа рибосомальных мегенных спейсеров (automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA).
16. Методы, основанные на анализе биомаркеров. Метод жирных кислот фосфолипидов (ЖКФ) (phospholipid fatty acids- PLFA profiling).
17. Номенклатура ЖКФ, диагностические отличия в структуре молекул ЖКФ. Область применимости метода ЖКФ, его особенности как метода, находящегося «на

переходе» между методами определения видового разнообразия и методами определения микробной биомассы в почве.

18. Метод физиологического профиля микробного сообщества (community level physiological profiling, CLPP). Методы определения дыхательной активности почвенного микробного сообщества с использованием системы «MicroResp – детектирование».
19. Фумигационный метод, его основные разновидности: метод фумигации – инкубации (fumigation-incubation, FI method) и метод фумигации-экстракции (fumigation-extraction, FE method).
20. Регидратационный метод, его основные разновидности: метод регидратации – инкубации (rehydration-incubation, RI method) и метод регидратации-экстракции (rehydration-extraction, RE method).
21. Определение АТФ в почве.
22. Комбинирование биоцидных и изотопных методов (SIP).
23. Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД) (substrate – induced respiration, SIR).
24. Кинетический метод определения микробной биомассы (kinetics of substrate-induced response, KSIR), его преимущества и недостатки по сравнению с методом СИД.
25. Понятие об общей, активной и покоящейся части микробной биомассы, возможности экспериментального определения и математической аппроксимации этих пулов. Стереотип «активной биомассы» в почвенной микробиологии.
26. Калибровка методов определения микробной биомассы в почве. Проблема неоднозначности связи между измеряемыми показателями и микробной биомассой как таковой (проблема пересчета).
27. Глобальные изменения климата и парниковые газы в атмосфере. Чарльз Дэвид Килинг и его роль в открытии глобального потепления в XX в.
28. Методы измерения концентраций CO2 и других парниковых газов в воздухе. Преимущества методов TDL и WS-CRDS над остальными методами.
29. Методы определения эмиссии CO2 и других парниковых газов с почвенной поверхности.
30. Камерные методы (chamber methods).
31. Градиентные методы (gradient methods) – принципы метода, инструментальные ограничения.
32. Микрометеорологический метод - метод ковариации вихрей (Eddy Covariance, EC method). Развитие метода Eddy Covariance в последние 20 лет.
33. Понятие о корневом (КД), микробном (МД) и ризомикробном (РМД) дыхании. Обоснование раздельного определения этих потоков.
34. Группы методов раздельного определения потоков CO2 из почвы: изотопные и неизотопные.
35. Разностные методы (root exclusion). Методы кольцевания (girdling), траншей (trenching), затенения (shading), срезания растений (clipping) как разновидности разностного метода.
36. Метод раздельного инкубирования/ интеграции компонентов (component integration).
37. Метод субстрат-индуцированного дыхания (СИД) (substrate-induced respiration, SIR).

38. Метод определения дыхательных затрат с экспозицией отмытых корней (excised roots).
39. Изотопные методы раздельного определения корневого и микробного дыхания.
40. Методы изотопного разбавления (isotope dilution) и искусственных ризодепозитов (model rhizodeposition).
41. Метод вымывания корневых выделений (exudates elution). Метод моделирования динамики меченого CO2 после импульсного мечения растений (modeling of the 14CO2 efflux dynamics).
42. C3 и C4 фотосинтез: история открытия, основные даты, эффект фракционирования по изотопу 13C.
43. C3-C4 и C4-C3 переходы (C3-C4 and C4-C3 transition). Метод естественного варьирования $\delta^{13}C$ (natural abundance method).
44. Естественное обогащение 13C в основных природных пулах углерода и компонентах экосистем.
45. Метод оценки бомбового 14C (bomb 14C spike method with AMS – spectroscopy).
46. “Hot spots” и ризосфера. Современное преставление о ризосфере в широком контексте концепции “hot spots”, понятия о дрилосфере, детритосфере, биопорах.
47. Виды корневых выделений.
48. Взаимодействие между корнями растений и ризосферными микроорганизмами.
49. Корневые кластеры и их функции.
50. Визуализация местообитаний/колонизации в ризосфере. Метод зимографии (zymography).
51. Метод флюоресцентной гибридизации in situ (fluorescence in situ hybridization, FISH). Разновидности метода (CARD-FISH, MAR-FISH).
52. Ризотроны.
53. Использование стабильных изотопов (stable isotope probing, SIP) для изучения ризосферы. Методы импульсного (pulse chase labeling) и постоянного мечения (continuous labeling) растений с 13CO2 и 14CO2.
54. Метод клонирования.
55. Метод ре-ассоциации ДНК (community DNA re-association method with Cot– plots).
56. Метод геночипов (genochips, “PhyloChips”). Принципиальные отличия этого метода от традиционной гибридизации.
57. Масс-спектрометрические методы.
58. Масс-спектрометрия (mass-spectrometry): общие принципы; масс-спектрометрия органических соединений и изотопов.
59. AMS – спектрометрия (accelerator mass spectrometry, AMS).
60. Масс-спектрометрический метод для определения белковых профилей - времяпролетная масс-спектрометрия (matrix-assisted laser desorption ionization and time –of-flight, MALDI-TOF).
61. Нанометрическая масс-спектрометрия вторичных ионов (nanometer - scale secondary ions mass spectrometry, Nano-SIMS). Возможности современных разновидностей Nano-SIMS, применяемых в биологии.
62. Рентгеновская спектроскопия (X-ray spectroscopy). Спектрометрия XANES и EXAFS при изучении внутрипочвенных объектов. Визуализация рентгеновских спектров.

63. Метод ядерного магнитного резонанса, ЯМР - спектроскопия (NMR – spectroscopy). История создания метода.
64. Российские ученые – первооткрыватели в области ЯМР.
65. Жидкофазная и твердофазная ЯМР - спектроскопия. Функциональные группы почвенного органического вещества, определяемые методом ЯМР.
66. Манипуляционные эксперименты.
67. Полевые эксперименты с открытой атмосферой (free air carbon experiments, FACE).
68. Манипуляционные эксперименты по изучению влияния стрессов на циклы биофильных элементов в лесной экосистеме и в почве.

8. **Шкала и критерии оценивания результатов обучения по дисциплине:**

В таблице представлена шкала оценивания результатов обучения по дисциплине. Уровень знаний обучающегося оценивается на "отлично", "хорошо", "удовлетворительно", "неудовлетворительно".

Оценка "отлично" выставляется, если обучающийся демонстрирует сформированные систематические знания, умения и навыки их практического использования. Оценка "хорошо" ставится, если при демонстрации знаний, умений и навыков студент допускает отдельные неточности (пробелы, ошибочные действия) непринципиального характера. При несистематических знаниях, демонстрации отдельных (но принципиально значимых навыков) и затруднениях в демонстрации других навыков выставляется оценка «удовлетворительно». Оценка "неудовлетворительно" ставится, если знания и умения фрагментарны, а навыки отсутствуют.

ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ результатов обучения (РО) по дисциплине				
Оценка РО и соответствующие виды оценочных средств	**2**	**3**	**4**	**5**
Знания *контрольные работы, тесты*	Отсутствие знаний	Фрагментарные знания	Общие, но не структурированные знания	Сформированные систематические знания
Умения *написание и защита докладов на заданную тему*	Отсутствие умений	В целом успешное, но не систематическое умение	В целом успешное, но содержащее отдельные пробелы умение (допускает неточности непринципиального характера)	Успешное и систематическое умение
Навыки (владения, опыт деятельности) *ведение научной дисскуссии, оппонирование работ других студентов*	Отсутствие навыков (владений, опыта)	Наличие отдельных навыков (наличие фрагментарного опыта)	В целом, сформированные навыки (владения), но используемые не в активной форме	Сформированные навыки (владения), применяемые при решении задач

9. **Ресурсное обеспечение:**

- Перечень основной и дополнительной учебной литературы

Основная литература:

1. Soil microbiology, ecology, and biochemistry (3d. ed.) / Ed. E. Paul. Elsevier. 2007. 532 p.
2. Modern soil microbiology (2nd ed.) / Eds. J.D. van Elsas, J.K. Jansson, J.T. Trevors. CRC Press (Taylor &Francis Group). 2006. 646 p.

Дополнительная литература:

1. *Davidson E.A., Janssens I.A.* Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change // Nature. 2006. V. 440. P. 165-173. https://doi.org/10.1038/nature04514
2. *Panikov N.S., Flanagan P.W., Oechel W.C., Mastepanov M.A., Christensen T.R.* Microbial activity in soils frozen to below -39℃ // Soil Biology & Biochemistry. 2006. V. 38. P. 785–794. DOI:10.1016/j.soilbio.2005.07.004
3. *Gurwick N.P., Moore L. A., Kelly C., Elias P.* A systematic review of biochar research, with a focus on its stability *in situ* and its promise as a climate mitigation strategy // PLOS ONE. 2013. V. 8. Is. 9. DOI: 10.1371/journal.pone.0075932
4. *Cleveland C.C., Liptzin D.* C:N:P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? // Biogeochemistry. 2007. V. 85. P. 235-252. DOI:10.1007/S10533-007-9132-0
5. *Cotrufo M.F., Wallenstein M.D., Boot C.M., Denef K., Paul E.* The microbial efficiency-matrix stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? // Global Change Biology. 2013. DOI:10.1111/gcb.12113
6. *von Lutzow M., Kogel-Knabner I., Ekschmitt K., Flessa H., Guggenberger G., Matzner E., Marschner B.* SOM fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms // Soil Biology & Biochemistry. 2007. V. 39. P. 2183–2207. DOI:10.1016/j.soilbio.2007.03.007
7. *Docherty K.M., Gutknecht J.L.M.* The role of environmental microorganisms in ecosystem responses to global change: current state of research and future outlooks // Biogeochemistry. 2011. DOI:10.1007/s10533-011-9614-y
8. *Miltner A., Bombach P., Schmidt-Brucken B., Kastner M.* SOM genesis: microbial biomass as a significant source // Biogeochemistry. 2011. V. 1. Is. 1-3. P. 1-15. DOI:10.1007/s10533-011-9658-z
9. *Prescott C.E.* Litter decomposition: what controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils? // Biogeochemistry. 2010. V. 101. Is. 1. P. 133–149. DOI:10.1007/s10533-010-9439-0
10. *Sardans J., Rivas-Ubach A., Penuelas J.* The C:N:P stoichiometry of organisms and ecosystems in a changing world: A review and perspectives // Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. 2012.V. 14. P. 33–47. DOI:10.1016/j.ppees.2011.08.002
11. *Kuzyakov Y., Blagodatskaya E.* Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review (Review paper) // Soil Biology & Biochemistry. 2015. V. 85. P. 184-199. DOI:10.1016/j.soilbio.2015.01.025

12. *Schmidt M.W.I., Torn M.S., Abiven S. et al.* Persistence of soil organic matter as an ecosystem property // Nature. 2012. V. 478. P. 49-56. DOI: 10.1038/nature10386
13. *Hartmann A., Rothballer M., Schmid M.* Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research // Plant and Soil. 2008. V. 312. P. 7–14. DOI:10.1007/s11104-007-9514-z

- Описание материально-технической базы
  1. Помещения: аудитория, рассчитанная на стандартную группу учащихся
  2. Оборудование:
  - мультимедийный проектор, компьютер, экран для учебной аудитории
  - компьютерный класс с выходом в Интернет для самостоятельной работы

10. **Язык преподавания:** *английский*

11. **Преподаватель (преподаватели):**
Евдокимов Илья Витальевич
Ведущий научный сотрудник
Кандидат биологических наук (Дис. Совет в МГУ имени М.В. Ломоносова, 1992)

12. **Разработчики программы:**
Евдокимов Илья Витальевич
Ведущий научный сотрудник
Кандидат биологических наук (Дис. Совет в МГУ имени М.В. Ломоносова, 1992)

13. **Краткая аннотация дисциплины:**
Курс предназначен для изучения основных современных молекулярно-биологических, (био)химических, физико-химических и физических инструментальных методов, предназначенных для: а) качественной оценки структуры почвенного микробного сообщества; б) количественных определений почвенной микробной биомассы, визуализации микробных колоний и пространственного распределения ферментативной активности в “hot spots” - ризосфере, дрилосфере, детритосфере, биопорах; в) оценки пространственного распределения биофильных и микроэлементов на внутриклеточном уровне; г) измерений концентрации CO2 и других парниковых газов в воздухе; д) оценки эмиссии CO2 и других парниковых газов с поверхности почвы; е) определения изотопного состава парниковых газов и биомассы почвенных микроорганизмов; ж) оценки потоков биофильных элементов с использованием метода стабильных изотопов (SIP). Магистранты научатся: а) выбирать оптимальные сочетания/ансамбли методов в соответствии с целями исследования/эксперимента; б) готовить полученные экспериментальные и литературные данные для презентаций.