

Ш.Г. Камилов, М.А. Зупаров,
М.С. Мамиев, Г.К. Халмуминова



ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебное пособие



Toshkent - 2021

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**Камилов Ш.Г., Зупаров М.А.,
Мамиев М.С., Халмуминова Г.К.**

ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Ташкент
Shafoat Nur Fayz
2021

УДК 60:57.083.1(075.8)

ББК 43я73

30.16я73

Л 50

Лесная биотехнология и микробиология [Текст] : учебное пособие / Ш.Г. Камилов, М.А. Зупаров, М.С. Мамиев, Г.К. Халмуминова.-Ташкент: "Shafoat Nur Fayz", 2021.- 220 с.

УДК 60:57.083.1(075.8)

ББК 43я73

ISBN 978-9943-7603-2-5

Биологические технологии (биотехнологии) обеспечивают управляемое получение полезных продуктов для различных сфер человеческой деятельности.

ISBN 978-9943-7603-2-5

© Ш.Г. Камилов и т. д. 2021
© «Shafoat Nur Fayz», 2021

ПРЕДИСЛОВИЕ

Перед сельским хозяйством и в частности лесоводством поставлены крупные задачи по обеспечению населения необходимыми для жизни людей продуктами и товарами.

Для дальнейшего развития требуется широко внедрять современные интенсивные технологии, где значимое место отводится биотехнологическим методам – генной инженерии, а также клеточной и тканевой инженерии.

Потребность в учебном руководстве по биотехнологии несомненна. Биотехнология – одна из наиболее быстро развивающихся областей промышленности и наиболее перспективная в силу ее экономичности и экологичности.

Термин «биотехнология» понимается в расширительном толковании. Биотехнология – это все технологические процессы, в которых используются живые организмы.

Биологические технологии (биотехнологии) обеспечивают управляемое получение полезных продуктов для различных сфер человеческой деятельности. Эти технологии базируются на использовании потенциала различных биологических агентов и систем – микроорганизмов, вирусов, растительных и животных клеток и тканей. В настоящее время разработка и освоение биотехнологии занимают важное место в деятельности практически всех стран.

Человек использовал биотехнологию многие тысячи лет: люди занимались пивоварением, пекли хлеб, получали кисломолочные продукты, применяли ферментации для получения лекарственных веществ и переработки отходов. Но только новейшие методы биотехнологии, включая методы генетической инженерии, основанные на работе с рекомбинантными ДНК, привели к «биотехнологическому буму», свидетелями которого являемся мы в настоящее время.

Развитие и преобразование биотехнологии обусловлено глубокими переменами, происшедшими в биологии в течение последних 25–30 лет. Основу этих событий составили новые представления в области наследственности и методические усовершенствования, которые приблизили человечество к познанию превращений ее материального субстрата и проложили дорогу новейшим промышленным процессам. Помимо этого, ряд важнейших открытий в других областях также повлиял на развитие биотехнологии.

Согласно мнению проф. Т. Г. Воловой приведенного в учебнике «Биотехнология» (1999), характеризуя перспективы и роль биотехнологии в человеческом обществе, уместно прибегнуть к высказыванию на одном из Симпозиумов по биотехнологии японского профессора К. Сакагучи, который говорил следующее: «... ищите все, что пожелаете, у микроорганизмов, и они не подведут вас... Изучение и применение в промышленности культур клеток млекопитающих и растений, иммобилизация не только одноклеточных, но и клеток многоклеточных организмов, развитие энзимологии, генетической инженерии, вмешательство в сложный и недостаточно изученный наследственный аппарат растений и животных все больше расширят области применения существующих направлений биотехнологии и создадут принципиально новые направления».

Человек с древнейших времен начал использовать в своей хозяйственной деятельности биологические организмы, в частности микроорганизмы, не зная об их существовании. Первым микробиологическим процессом, использованным на практике, было брожение – процесс обмена веществ, при котором в органическом субстрате происходят изменения под воздействием микробных ферментов. Возбудителями бродильных процессов являются грибы, бактерии, дрожжи.

В XIX веке с развитием химических наук были заложены основы органической химии. В этот период огромное влияние на создание научных основ микробиологических производств имели работы Луи Пастера. Пастер сделал ряд крупнейших фундаментальных открытий, которые заложили основы современной технической микробиологии. Пастер неоспоримо доказал, что болезни, порча продуктов, брожение и гниение вызываются микроорганизмами, и создал теорию об экзогенности попадания этих организмов в среду.

В связи с чем, значительное место в данной работе принадлежит основам микробиологии, т.к. не имея понятия о микроорганизмах невозможно говорить о современных знаниях биотехнологии.

ВВЕДЕНИЕ

Хотя практической наукой биотехнология стала в XX веке, корни биотехнологии уходят в далёкое прошлое, и в основном связаны с удовлетворением каждодневных потребностей человека. В настоящее время она возникла из-за необходимости решения главных и актуальных проблем человечества - продовольственного, энергетического кризиса и предотвращения загрязнения окружающей среды.

Биотехнологические процессы основываются на использовании биосинтетического потенциала микроорганизмов, растительных и животных клеток, тканей и органов, выращиваемых на искусственных питательных средах. В настоящее время во многих странах мира основное внимание уделяется развитию биотехнологии, так как биотехнологические процессы имеют ряд преимуществ по сравнению с другими технологиями с точки зрения экологичности, низкого уровня потребления энергии и, незначительных отходов. Кроме того, данная технология требует применение конкретного оборудования, технического оснащения и препаратов, а также отличается тем, что несмотря на климатические условия возможно проведение исследований на относительно небольших площадях.

Микробиология – наука о мельчайших живых организмах не видимых невооруженным глазом. По существу микробиология образовано от латинских слов *micro*-малый, *bios*-жизнь, *logos*-наука. Данная наука изучает строение микроорганизмов, их деятельность, среду и условия жизни, положительные и отрицательные стороны их жизнедеятельности.

Имеющиеся сведения показывают, что микроорганизмы имеют повсеместное распространение в природе. Неправильно думать, что микроорганизмы сведены в одну группу лишь в соответствии с малыми размерами. Микроорганизмы относятся к различным систематическим группам.

Микроорганизмы составляют жизненно важную для эволюции часть живого на Земле. В качестве основных компонентов пищевых цепей они играют уникальную, решающую роль в биогеохимических циклах планеты. Круговороты углерода и азота иллюстрируют ключевую роль в них микроорганизмов. Процессы разложения отмерших растений и животных, осуществляемые гетеротрофными микроорганизмами совершенно необходимы для жизни, поскольку в результате высвобождаются биогенные

ИСТОРИЯ, ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ПРЕДМЕТА МИКРОБИОЛОГИЯ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

Предмет и задачи микробиологии

Микробиология в настоящее время по праву может считаться одной из основных дисциплин биологии, поскольку без знания особенностей микроорганизмов нельзя понять всего многообразия жизни на Земле, условий ее появления и эволюции. Огромное значение имело и продолжает иметь исследование микроорганизмов для развития таких наук, как биохимия, молекулярная биология, генетика, биофизика, экология и ряд

Мир микроорганизмов в природе весьма разнообразен. Значительное их число представлено бактериями, в том числе цианобактериями (синезелеными водорослями). Многочисленную группу микроорганизмов составляют грибы. К особой группе ультрамикроскопических организмов относят вирусы, не имеющие клеточного строения и служащие возбудителями различных болезней растений, человека и животных. Известны и ультрамикроскопические паразиты микроорганизмов, так называемые фаги, иначе еще называемые вирусами микробов. Микробиология изучает также многочисленных простейших животных (протозоа) и водоросли, имеющие микроскопические размеры.

Микроорганизмы широко распространены в природе. Они постоянно присутствуют в почвах, водоемах, на поверхности и внутри тела человека, животных и растений, в пищевых продуктах, воздухе и т. д. Микроорганизмы можно выявить и в песках пустынь, и во льдах Арктики и Антарктики, в воде и иле морей и океанов, на скальных породах высоко в горах и в глубине шахт. Широкое распространение микроорганизмов свидетельствует об их огромной роли в природе. При их участии происходит разложение различных органических веществ в почвах и водоемах, они обуславливают круговорот веществ и энергии в природе; от их деятельности зависит плодородие почв, формирование каменного угля, нефти, многих других полезных ископаемых. Микроорганизмы участвуют в выветривании горных пород и прочих природных процессах.

Многие микроорганизмы используют в промышленном и сельскохозяйственном производстве. Так, хлебопечение, изготовление кисломолочных продуктов, виноделие, получение витаминов,

элементы, без которых невозможно ее продолжение. Они являются не только первичными продуцентами, но и доминируют в биохимических циклах во всех экстремальных условиях обитания, адаптируясь к ним. Микроорганизмы могут служить не только в качестве ранних систем предупреждения в биомониторинге, но и для оценки изменений климата и воздействия загрязнений на экосистемы их компоненты. Понимание роли и функций популяций микроорганизмов в экосистемах очень важно, так как они реагируют на любые нарушения естественной среды обитания уменьшением или увеличением численности той или иной группы, изменением структуры популяции.

Микроорганизмы имеют огромное функциональное разнообразие и составляют главный генетический источник для нейтрализации изменений и стрессовых воздействий в экосистемах. Быстро приспосабливаясь к изменяющимся условиям, они обеспечивают стабильность природных экосистем. Роль микроорганизмов для функционирования и сохранения экосистем и биосферы Земли исключительно важна. Кроме того, микроорганизмы являются главным источником биологически активных веществ, которые могут быть полезны и используются человеком.

Биотехнология и биоинженерия объявлены важнейшими научными и производственными приоритетами XXI века. На их основе разрабатываются и реализуются новейшие высокоэффективные технологии сохранения и расширения биоразнообразия на Земле: производство продовольственных товаров, препаратов пищевого, медицинского, природоохранного и другого назначения, решения важнейших проблем охраны окружающей среды.

Особая роль отводится биотехнологии в решении проблемы повышения эффективности и устойчивости агропромышленного производства. Поэтому изучение основ и практического приложения биотехнологических методов является крайне важными условиями в подготовке современных специалистов.

ферментов, пищевых и кормовых белков, органических кислот и многих веществ, применяемых в сельском хозяйстве, промышленности и медицине, основаны на деятельности разнообразных микроорганизмов. Особенно велико значение микроорганизмов в растениеводстве и животноводстве. Это обогащение почвы азотом, борьба с вредителями сельскохозяйственных культур при помощи микробных препаратов, правильное приготовление и хранение кормов, получение кормового белка, антибиотиков и других веществ микробного происхождения.

Микроорганизмы оказывают положительное влияние на процессы разложения веществ природного происхождения — ксенобиотики, попадающих в почву и водоемы и загрязняющих их.

Наряду с полезными микроорганизмами существует большая группа так называемых болезнетворных, или патогенных, микроорганизмов, вызывающих разнообразные болезни сельскохозяйственных животных, растений, насекомых и человека. В результате их жизнедеятельности возникают эпидемии заразных болезней человека и животных, что сказывается на развитии экономики и производительных сил общества.

Повсеместное распространение, быстрое размножение и особенности метаболизма микроорганизмов накладывают отпечаток на жизнь всей планеты. Процессы, в которых принимают участие микроорганизмы, прежде всего, являются определяющими и необходимыми звеньями круговорота таких элементов, как углерод, азот, сера, фосфор, а также других биогенных элементов. Без микроорганизмов приостановился бы круговорот веществ в природе и жизнь на Земле стала бы невозможной.

Особую роль в формировании и поддержании плодородия почвы играют бактерии, участвующие в круговороте азота в природе. Это азотфиксирующие бактерии, которые превращают недоступный для растений молекулярный азот атмосферного воздуха в связанный, обогащая тем самым почву соединениями азота. Немаловажным этапом круговорота азота в природе является возвращение минерального азота в атмосферу, которое осуществляют денитрифицирующие бактерии в процессе нитратного (анаэробного) дыхания. Если бы этот цикл не был замкнут, то окисленные формы азота вымывались бы из почвы в моря и океаны, оставаясь в них недоступными для растений. Кроме того, образующиеся в процессе денитрификации оксиды азота участвуют в поддержании озонового слоя планеты.

Микробиология (от греч. *micros* — малый, *bios* — жизнь, *logos* — наука) — наука о микроскопически малых существах, называемых микроорганизмами.

Микроорганизмы — мельчайшие живые существа, величина которых не превышает 0,1–0,2 мм, что делает их невидимыми для человеческого глаза без увеличения.

Микробиология изучает морфологию, физиологию, биохимию, систематику, генетику и экологию микроорганизмов, их роль и значение в круговороте веществ, патологии человека, животных и растений.

К микроорганизмам относятся преимущественно одноклеточные организмы — бактерии, микроскопические грибы и водоросли, простейшие, а также организмы с неклеточной организацией — вирусы.

В соответствии с современными принципами классификации все микроорганизмы в зависимости от строения клетки делятся на эукариотические (истинноядерные) и прокариотические (доядерные). К эукариотическим микроорганизмам относятся водоросли, грибы и простейшие, к прокариотическим — бактерии.

В основу таксономии микроорганизмов положены их морфологические, физиологические, биохимические свойства.

Весь мир микробов подразделяется на 3 царства:

- Царство эукариотов (грибы и простейшие)
- Царство прокариотов (бактерии, риккетсии, микоплазмы)
- Царство вирусов

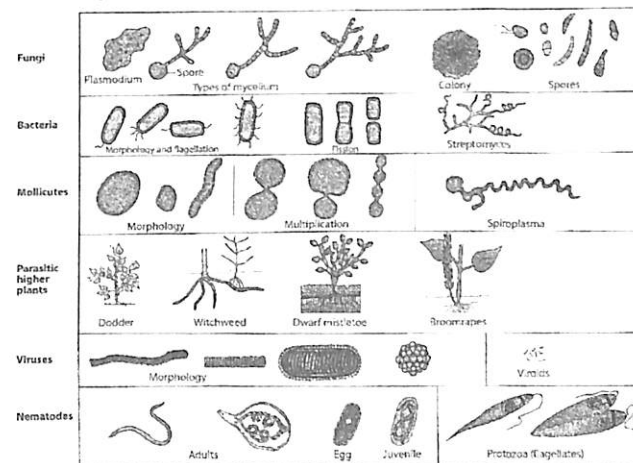
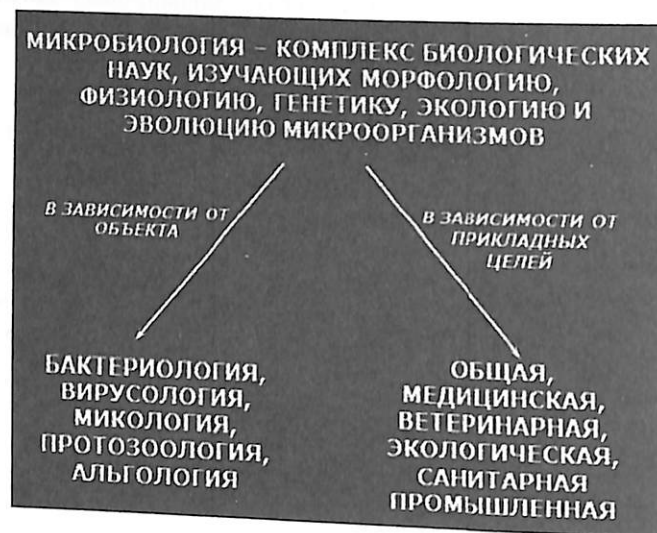


Рис. 1. Схематическое изображение фитопатогенных организмов



История развития микробиологии.

Открытие микроорганизмов связано с именем голландского естествоиспытателя **Антони ван Левенгука** (1632–1723), который отшлифовал несколько линз. Позднее он достиг большого совершенства при изготовлении линз и назвал их «микроскопиями». Микроскопы А. ван Левенгука, несмотря на простоту конструкции, давали хорошее изображение при увеличении примерно от 50 до 300 раз.

Открытие А. ван Левенгука привлекло всеобщее внимание. Оно явилось основой развития микробиологии, изучения форм микроорганизмов и их распространения в окружающей среде. Это был **морфологический**, или **описательный** период развития микробиологии, который продолжался с конца XVII до середины XIX в.

Начало изучению физиологии и биохимии микроорганизмов, выяснению их роли в природе и жизни человека положил французский ученый **Луи Пастер** (1822–1895). С его работ начался **физиологический** период микробиологии. Л. Пастер впервые в противоположность мнению химиков показал, что процессы брожения и гниения обуславливаются жизнедеятельностью микроорганизмов, специфических для каждого вида брожения.

К области теоретических открытий Пастера относятся его работы о невозможности самозарождения жизни. Оппоненты Пастера

утверждали, что в субстратах, подвергающихся брожению или гниению, их возбудители самозарождаются. Безупречными экспериментами Пастер показал, что в сосудах со стерильным бульоном, закрытых ватными пробками во избежание контакта с воздухом, самозарождение микроорганизмов невозможно. Рост микроорганизмов наблюдается тогда, когда в сосуд с питательной средой попадает воздух, содержащий микроорганизмы, или питательная среда подвергается недостаточной термической обработке, при которой устойчивые к температуре споры бактерий не погибают.

Прогресс микробиологии в конце XIX в. был неразрывно связан с работами знаменитого немецкого ученого **Роберта Коха** (1843–1910), занимавшегося изучением возбудителей инфекционных заболеваний. Свои исследования Кох начал с изучения сибирской язвы и показал, что возбудителями этого заболевания являются бактерии вида *Bacillus anthracis*. Позднее он открыл возбудителей туберкулеза (бактерии вида *Mycobacterium tuberculosis*), которые в его честь были названы «палочкой Коха». В 1905 г. Кох за исследования туберкулеза была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

Велика заслуга в развитии микробиологии **И. И. Мечникова** (1845–1916). Он открыл явление фагоцитоза и впервые показал, что защита организма от болезнетворных микроорганизмов – сложная биологическая реакция, в основе которой лежит способность фагоцитов захватывать и разрушать посторонние тела, попавшие в организм.

Большой вклад в развитие микробиологии внес **Д. И. Ивановский** (1864–1920), который в 1892 г. открыл вирус, вызывающий мозаичную болезнь табака. Открытие Ивановского послужило толчком к обнаружению возбудителей вирусных заболеваний человека и животных. Д. И. Ивановский по праву считается основоположником новой ветви микробиологии – вирусологии.

Создание учения об экологии почвенных микроорганизмов неразрывно связано с именем выдающегося русского исследователя **С. Н. Виноградского** (1856–1953). С. Виноградский внес значительный вклад в познание физиологического многообразия микроорганизмов. С. Н. Виноградский опубликовал свыше 300 научных работ по экологии и физиологии почвенных микроорганизмов и поэтому его по праву считают родоначальником почвенной микробиологии.

Развитие микробиологии в XX в. ознаменовалось крупными открытиями в области биохимии и генетики микроорганизмов. Так, в 1925 г. **Г. А. Надсон** (1867–1940) впервые получил индуцированные мутации дрожжей посредством облучения клеток рентгеновскими лучами. Он также изучал роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе и их геологическую деятельность.

В 1944 г. американские ученые **О. Эвери, К. Мак-Леод и М. МакКарти** доказали роль ДНК в хранении и передаче наследственной информации, осуществив эксперименты по генетической трансформации у бактерий.

Это открытие совпало по времени с серией достижений генетики микроорганизмов, и его можно считать началом «генетического» периода в истории развития микробиологии.

Успехи в области генетики микроорганизмов обусловили развитие нового направления – молекулярной генетики, являющейся основой генетической инженерии. Генетическая инженерия внесла потенциально новые идеи и методы в производство широкого спектра биологически активных веществ. Открытия и достижения, полученные на микроорганизмах, явились также основой для возникновения таких новых научных направлений, как молекулярная биология, молекулярная биотехнология, молекулярная вирусология, белковая инженерия и др.

Понятие «биотехнология»

Именно существенные успехи в фундаментальных исследованиях в области биохимии, молекулярной генетики и молекулярной биологии, достигнутые во второй половине текущего столетия, создали реальные предпосылки управления различными механизмами жизнедеятельности клетки. Сложившаяся благоприятная ситуация в биологии явилась мощным толчком в развитии современной биотехнологии, весьма важной области практического приложения результатов фундаментальных наук. Можно с уверенностью утверждать, что биотехнология является наиболее разительным примером того, как результаты, казалось бы "чистой науки", находят применение в практической деятельности человека.

Основой, обеспечивающей благоприятную ситуацию для бурного развития биотехнологии, явились революционизирующие открытия и разработки:

- доказательства роли нуклеиновых кислот в хранении и передаче наследственной информации в биологических системах

(имеются в виду индивидуальные клетки и отдельные организмы, а не их популяции);

- расшифровка универсального для всех живых организмов генетического кода;
- раскрытие механизмов регуляции функционирования генов в процессе жизни одного поколения организмов;
- совершенствование существовавших и разработка новых технологий культивирования микроорганизмов, клеток растений и животных;
- как логическое следствие из вышесказанного, явилось создание (возникновение) и бурное развитие методов генетической и клеточной инженерии, с помощью которых искусственно создаются новые высокопродуктивные формы организмов, пригодные для использования в промышленных масштабах.

Общепризнанным является определение биотехнологии – совокупность методов и приемов получения полезных для человека продуктов и явлений с помощью биологических агентов. Термин биотехнология включает составляющие «биос», «техне», «логос» греческого происхождения (от греч. «биос» – жизнь, «техне» – искусство, мастерство, умение и «логос» – понятие, учение).

Таким образом, как это явствует из приведенных определений, биотехнология по существу сводится к использованию микроорганизмов, животных и растительных клеток или же их ферментов для синтеза, разрушения или трансформации (превращения) различных материалов с целью получения полезных продуктов для различных нужд человека.

Научно обоснованный прогноз свидетельствует, что в XXI в. биотехнологическая продукция составит не менее 20% всего объема товаров, поступающих на мировой рынок.

Биотехнология включает многие традиционные процессы, давно известные и давно используемые человеком. Это пивоварение, хлебопечение, изготовление вина, производство сыра, приготовление многих восточных пряных соусов, а также разнообразные способы утилизации отходов. Во всех перечисленных процессах использовались биологические объекты (пусть даже без достаточных знаний о них) и все эти процессы на протяжении многих лет совершенствовались, правда эмпирически. Начало этого этапа биотехнологии теряется в глубине веков и он продолжался примерно до конца XIX в.

Работы великого французского ученого Луи Пастера (1822–1895) заложили фундамент практического использования достижений микробиологии и биохимии в традиционных биотехнологиях (пивоварение, виноделие, производство уксуса) и ознаменовали начало нового, научного периода развития биотехнологии. Также им был предложен метод вакцинации людей.

Интенсивно изучаются основные группы микроорганизмов – возбудителей процессов брожения, исследуются биохимические особенности данных процессов. После открытия Александром Флемингом пенициллина разрабатываются процессы и аппараты для глубокого культивирования продуцентов, что резко удешевило производство данного антибиотика, и он стал доступным для широкого использования в клинической практике во время второй мировой войны.

Биотехнология как наука является важнейшим разделом современной биологии.

Мировое признание она получила начиная с 1953 после выдающегося открытия Д. Уотсона и Ф. Крика о структуре и пространственной организации двойной спирали ДНК.

Рождение нового направления – **генетической инженерии** – можно считать 1972, когда в лаборатории Берга впервые была синтезирована рекомбинантная молекула ДНК.

В 50-е годы возникает – **клеточная инженерия** и связанная с ней клеточная биотехнология. Создателями этих направлений являются П. Ф. Уайт (США) и Р. Готре (Франция).

Однако термин «биотехнология» в большей степени стал ассоциироваться с новым этапом развития этой науки, начало которому положено в 1973 г., когда Стэнли Коэн и Герберт Бойер получили рекомбинантные плазмиды и произвели трансформацию ими клеток *E. coli*.

Главными объектом исследований остается живая клетка, но центральное место в экспериментах занимают манипуляции с ДНК. Пользуясь методами генетической инженерии создаются искусственные структуры в виде рекомбинантных ДНК, осуществляют трансплантацию генов между разными видами микробных клеток, а также между клетками одно- и многоклеточными организмами.

Высшим достижением новейшей биотехнологии является **генетическая трансформация, перенос чужеродных генов и других материальных носителей наследственности в клетки растений,**

животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками.

Биотехнологические направления имеют своей целью создание и практическое внедрение (т. е. практическое использование):

- новых биологически активных веществ и лекарственных препаратов, используемых в здравоохранении для диагностики, профилактики и лечения различных заболеваний;

- биологических средств защиты сельскохозяйственных растений от возбудителей заболеваний и вредителей, бактериальных удобрений и регуляторов роста растений и животных; новых сортов растений, устойчивых к разного рода неблагоприятным воздействиям (факторам внешней среды); новых пород животных с полезными свойствами (трансгенные животные);

- ценных кормовых добавок для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных (кормового белка, аминокислот, витаминов, ферментов, способствующих повышению усвояемости кормов, и т. п.);

- новых биотехнологических методов для получения высокоэффективных препаратов различного назначения, используемых в сельском хозяйстве и ветеринарии;

- новых технологий создания и получения хозяйственно ценных продуктов для пищевой, химической и микробиологической промышленности;

- эффективных технологий переработки сельскохозяйственных, промышленных и бытовых отходов для получения продуктов, которые могут использоваться в других отраслях хозяйственной деятельности человека (например, биогаза, удобрений, топлива для автомобилей и др.).

МОРФОЛОГИЯ, СТРОЕНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЯ ВИРУСОВ И МИКОПЛАЗМ

Вирусы - облигатные внутриклеточные паразиты, в большинстве случаев вызывающие заболевания человека, животных, растений и микроорганизмов. В прошлые века многие вирусные инфекции носили характер опустошительных эпидемий и пандемий, охватывавших обширные территории нашей планеты.

Так, описание оспы в Древнем Египте мы встречаем в папирусе Эберса (3720-3710 до н. э.). В средние века оспа опустошала целые страны, поражая до 80% населения. В одной только Европе ежегодно оспой переболело 10-12 млн. и умирало 1,5 млн. человек.

Среди детских инфекций вирусного происхождения особо следует отметить корь. До недавнего времени корью болел почти каждый ребенок нашей планеты. И на сегодняшний день от кори ежегодно погибает более 2 млн. детей.

Вирусные заболевания наносят огромный ущерб сельскому хозяйству. Так, вирус ящура, распространяясь со скоростью цепной реакции, способен разрушить животноводство в масштабе целой страны. Вирусные болезни картофеля, огурцов, томатов, ячменя, гороха и других растений существенно снижают урожаи сельскохозяйственных культур.

Вирусы — это мельчайшие (субмикроскопические) возбудители болезней человека, животных, растений. Они не имеют клеточного строения, не растут на искусственных питательных средах. Размножаются только в живых клетках организма-хозяина.

Вirus (лат. вирус - яд) — внутриклеточный паразит на генетическом уровне организации.

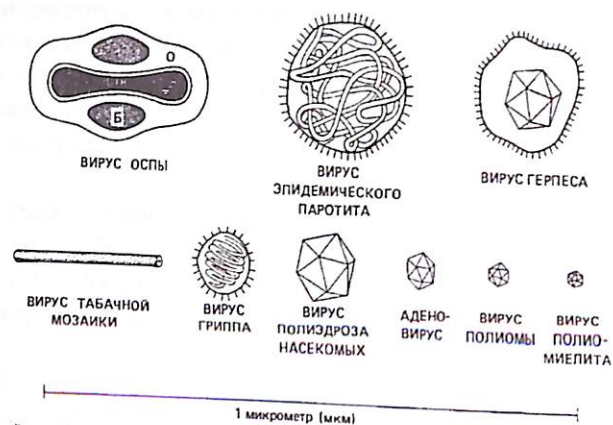
С открытием вируса табачной мозаики (RTM), началась история развития вирусологии — науки о вирусах. По мере обнаружения всех неизвестных возбудителей болезней типа мозаики стали называть «фильтрующимися вирусами». За 1900—1935 гг. было описано большое число болезней растений, возбудителями которых считали вирусы, однако определить, т. е. идентифицировать, их тогда не представлялось возможным. Заболевания, аналогичные мозаике табака, наблюдались на огурце, томате, фасоли, картофеле, плодовых и ягодных культурах. Все больше накапливалось сведений о распространенности болезней типа мозаики, однако ни о

строении, ни о химических свойствах и способах размножения их возбудителей почти ничего не было известно. Объясняется это тем, что к вирусам нельзя было применить традиционные микробиологические методы исследования. Из-за слишком малых размеров вирусы невидимы в световой микроскоп, а на искусственных питательных средах они не развивались.

Вирусы — мельчайшие объекты жизни, имеющие неклеточное строение и не способные к проявлению каких-либо признаков живого вне живых клеток. Первый вирус — вирус мозаичной болезни табака был открыт русским ученым Д. И. Ивановским в 1892 г.

Для изучения вирусов необходимо было использовать новые методы. Следующий шаг в изучении вирусов после Д. И. Ивановского и М. Бейеринка сделал американский биохимик и вирусолог У. Стенли. В 1935 г. химическими методами он получил из сока зараженных ВТМ листьев табака кристаллический белковый препарат со свойствами вируса табачной мозаики. Растворенными в воде кристаллами препарата можно было заразить листья табака и получить характерные симптомы заболевания мозаикой.

Работы Стенли положили начало изучению свойств вирусов. Большое число этих организмов было получено в кристаллическом виде, изучен их химический состав. Английские ученые Боуден и Пири (1937) установили, что, кроме белка, в кристаллы вируса входит нуклеиновая кислота, которая наряду с белком присутствует во всех живых клетках и играет важную роль в передаче наследственных свойств организма.



Уис. 4.2. Форма и величина частиц (вирионов) некоторых вирусов. Б — эллиптическое белковое тельце; О — оболочка.

Вирусы, как и фитопатогенные грибы, — важнейшие возбудители болезней растений. В отличие от других болезней растений инфекционный процесс при вирусных болезнях имеет довольно своеобразное течение. При заражении фитопатогенными вирусами гораздо чаще, чем при заражении другими возбудителями, возникает явление латентности, когда, несмотря на системную инфекцию, на растениях-хозяевах не проявляются симптомы поражения и они часто представляют собой латентный очаг инфекции.

За последние десятилетия число идентифицированных фитопатогенных вирусов резко возросло. Так, если в 1955 г. оно составляло около 250, то к 1980 г. превысило 600. Сейчас нет ни одного вида культурного растения, на котором не было бы обнаружено вирусных заболеваний. Увеличились пораженные площади посевов, возросли недоборы урожаев. Рост числа выявленных вирусных болезней объясняется разработкой современных методов диагностики и многочисленными научными исследованиями.

Точные данные о размерах убытков, причиняемых вирусными болезнями культурных растений, получить трудно, так как не всегда вирусные болезни четко диагностируют. Нередко ущерб, причиняемый вирусами, приписывают неблагоприятным погодным и почвенным условиям. В среднем размеры убытков от развития вирусных болезней составляют примерно 20% общего экономического ущерба, обусловленного паразитической деятель-

ностью возбудителей болезней и вредителей растений (биотические вредоносные факторы). В большинстве случаев вирусные заболевания не вызывают гибели больных растений. Их действие проявляется главным образом в снижении урожая.

Большое экономическое значение имеет вызываемое вирусными болезнями ухудшение качества продукции, отрицательно сказывающееся на хозяйственной ценности. В первую очередь это относится к семенному и посадочному материалу. Поражение вирусами отрицательно влияет как на пищевую и кормовую ценность продукции, так и на пригодность ее к промышленной переработке.

Специфичность вирусов

Первое принципиальное отличие вирусов от всех прочих живых организмов нашей планеты заключается в их строении. Вирусы лишены каких-либо клеточных структур. Каждый вирион представлен двумя компонентами — *нуклеиновой кислотой и белком, что позволяет совершенно определенно назвать вирусы неклеточными формами жизни.*

Вирионы — это зрелые вирусные частицы

Каждый вирус в своем онтогенезе проходит две фазы.

• **Первая фаза** — внеклеточная, когда вирус находится в состоянии покоя, получила название *вириона*

• **Вторая фаза** — внутриклеточная включает весь цикл репродукции вируса в клетке хозяина.

1) В состав любого организма обязательно входят оба типа нуклеиновых кислот — ДНК и РНК. В вирионах всегда присутствует только один тип нуклеиновой кислоты — либо ДНК, либо РНК. Причем обе нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными и двухцепочечными.

2) Второе принципиальное отличие вирусов от других живых организмов состоит в отсутствии у них собственного метаболизма. В вирионах нет белок-синтезирующего аппарата (рибосом) и нет механизмов, обеспечивающих получение автономной энергии (АТФ). Отсутствие собственных метаболических систем определяет уникальную природу вирусного паразитизма. В отличие от паразитизма прочих организмов, паразитирующих на организменном и клеточном уровнях, вирусы являются ультрапаразитами, паразитирующими на генетическом уровне. Адсорбируясь на клетке хозяина, вирусы внедряют в нее свой геном в виде ДНК или РНК и подавляют деятельность генома клетки хозяина. В большинстве

с этого момента **метаболический аппарат** клетки начинает полностью работать на вирус под контролем вирусного генома.

Структурная организация вирусов

Вирионы наиболее просто организованных вирусов состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки. Последняя носит название **капсида** (от греч. capsa — футляр). Вирионы некоторых более сложноорганизованных вирусов на поверхности белкового капсида имеют дополнительную внешнюю оболочку — **суперкапсид**.

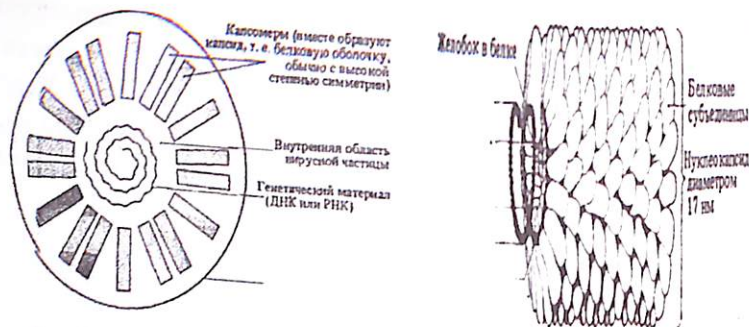


Рис.3. Схематическое изображение строения вирусов.

Согласно современным научным представлениям существуют два типа строения белковых оболочек вирусов: спиральный и сферический.

Спиральный тип встречается у вирусов палочковидной и нитевидной формы и характеризуется тем, что белковые субъединицы уложены по спирали вокруг оси частицы.

Сферический тип характерен для вирусов, имеющих форму многогранников. В этом случае капсомеры группируются вокруг нуклеиновой кислоты в виде многогранника и в зависимости от осей симметрии образуют тетраэдры, октаэдры или икосаэдры, то есть 4-, 8- и 20-гранники

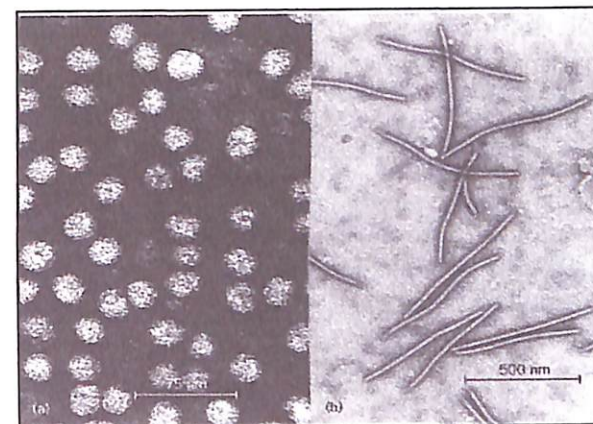


Рис. 4. Изображение двух типов строения белковых оболочек вирусов

Функции Капсида

1. Выполняет защитную функцию. Он защищает нуклеиновую кислоту вируса от различных физических и химических воздействий, в первую очередь от действия многочисленных нуклеаз.

2. Вторая функция капсида заключается в наличии в его составе рецептора, комплементарного рецептору заражаемой клетки. Иначе говоря, капсид определяет хемосорбцию вируса на поверхности клетки хозяина. В процессе эволюции сложилась уникальная избирательность вирусов — поражать строго определенный круг хозяев, а в организме хозяина — определенный тип клеток.

Нуклеиновые кислоты.

Как уже отмечалось выше, в отличие от всех других организмов, вирусы содержат всегда один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК). В зависимости от типа нуклеиновой кислоты вирусы подразделяются на ДНК-геномные и РНК-геномные.

Нуклеиновая кислота вируса совмещает в себе функции обеих кислот — ДНК и РНК. Особо следует подчеркнуть, что в царстве вирусов функцию хранителя генетического кода может выполнять не только ДНК, но и РНК-. В составе всех прочих организмов природная форма ДНК всегда представлена двухцепочечной молекулой, а РНК — одноцепочечной. Нуклеиновые кислоты вирусов отличаются крайним разнообразием. Вирусы содержат как обычные

природные формы нуклеиновых кислот — двухцепочечную ДНК и одноцепочечную РНК, так и одноцепочечную ДНК и двухцепочечную РНК.

Биологическая характеристика

Вирионы — это зрелые вирусные частицы, они содержат только один из типов нуклеиновых кислот — или дезоксирибонуклеиновую (ДНК), или рибонуклеиновую (РНК). Клетки других возбудителей болезней растений всегда содержат оба типа кислот.

Вирионы репродуцируются только при заражении клеток препаратом выделенной из них нуклеиновой кислоты. Они не способны ни расти, ни делиться. Для биосинтеза вирусы используют рибосомы клеток растений-хозяев, что определяется как абсолютный паразитизм. Большинство растительных вирусов содержат в качестве инфекционного начала РНК, имеют белковую оболочку, лишь немногие из них вместо РНК содержат ДНК.

Большинство фитопатогенных вирусов можно отнести к четырем морфологическим группам: *палочковидные*, *нитевидные*, *сферические*, *бациллоидные*. Вирусные частицы, или вирионы, имеют характерные для каждого вируса размеры и форму.

Вирусы могут размножаться только в живой клетке. По способу размножения (репликации) они отличаются от клеточных микроорганизмов. Так, бактерии размножаются бинарным делением взрослых клеток. При этом их клетки сохраняют целостность на всех стадиях размножения. Вирусы, как только попадают в клетку растения-хозяина, распадаются на белок и нуклеиновую кислоту. Белковые оболочки, ранее защищавшие нуклеиновую кислоту, внутри клетки становятся препятствием для воздействия паразита на ее структуры. Поэтому нуклеиновая кислота вируса освобождается от белковой оболочки, после чего начинается синтез его нуклеиновой кислоты и вирусного белка в клетке растения-хозяина. Из вновь синтезированной нуклеиновой кислоты и вирусного белка собираются новые вирусы.

В результате сборки образуются зрелые вирионы, у которых молекулы РНК окружены белковой оболочкой. В этом состоянии многие вирусы образуют в клетке различные включения.

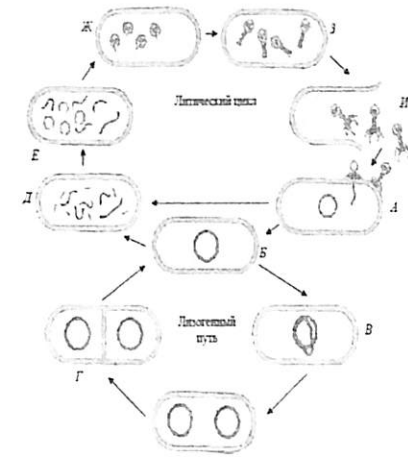


Рис. 5. Процесс размножения вирусного бактериофага

А — адсорбция фага на клетке; Б — интеграция фаговой ДНК в хромосому бактерий; В — репликация фаговой ДНК вместе с бактериальной; Г — деление клетки; Д — репликация фаговой ДНК и синтез фаговых белков; Е — образование капсидов; Ж — упаковка ДНК в капсиды; З — созревание фаговых частиц; И — лизис клетки и выход фаговых частиц

Распространение

Вирусы могут проникать в растения только через поврежденную покровную ткань. Повреждения растениям, через которые могут проникать вирусы, наносятся или механически, например, когда листья одного растения касаются листьев другого, или организмами, способными переносить вирус. Если передачу инфекции осуществляет организм, переносящий вирус, его называют переносчиком.

Переносчиками вирусов могут быть насекомые, клещи, почвенные нематоды и грибы, паразитирующие на подземных органах растений. Некоторые фитопатогенные вирусы распространяются с посадочным материалом — с клубнями, луковицами, отводками, семенами. Вирусы могут передаваться с пылью зараженных растений и даже цветковым паразитом — повиликой.

Это самый распространенный способ передачи вирусов в природе. Известно уже около 400 видов членистоногих: тлей, клопов, цикад, трипсов, клещей — переносящих свыше 200 различных вирусов.

МИКОПЛАЗМЫ

Микоплазмы известны как возбудители болезней человека и животных. Как возбудители болезней растений они были открыты лишь в 1967 г. Их обнаружили японские ученые при помощи электронного микроскопа во флоэме растений шелковицы, пораженных карликовостью.

Микоплазмы — специфическая группа фитопатогенных организмов, занимающих промежуточное положение между бактериями и вирусами. Они представляют собой полиморфные организмы. Клетки их, как правило, округлы, но некоторые имеют удлинённую или гантелевидную форму. Один и тот же микоплазменный организм может иметь клетки неодинаковых размеров и форм. Так, в клетках флоэмы столбурных растений табака присутствуют микоплазмоподобные организмы сферической, овальной, вытянутой и другой формы. Диаметр клеток — 0,1—1 мкм.

Микоплазмы не имеют настоящей клеточной стенки, они окружены трехслойной элементарной мембраной, чем и отличаются от бактерий. По сравнению с вирусами для микоплазмы характерны клеточное строение и способность размножаться на искусственных питательных средах. На плотных средах она образует мелкие специфические колонии, по виду напоминающие яичницу-глазунью. В отличие от вирусных частиц в клетках микоплазм присутствуют два типа нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и рибосомы микоплазм, по размерам близкие к рибосомам бактерий.

ВИРОИДЫ

Открытие вириодов принадлежит Теодору О. Динеру (1971), который при изучении клубней картофеля с веретеновидностью установил возбудителя, по свойствам отличающегося от вирусов.

Работы Динера по изучению возбудителя веретеновидности клубней картофеля (ВВКК) положили начало исследованию вирусоподобных заболеваний, возбудители которых не установлены вирусологическими методами.

Вириоды представляют собой низкомолекулярную одноцепочечную РНК. Они внедряются в биосинтетическую систему клетки растения-хозяина, которая и обеспечивает в дальнейшем их репликацию.

Первую наиболее полную характеристику вириодов дали в 1978 г. в своей работе «Вириоды — новый класс патогенов» М.Шелудько и В.Г.Рейфман.

Главный и единственный компонент вириодов — нуклеиновая кислота; они не образуют вирионов; имеют малую молекулярную массу, чувствительны к ферменту РНКазе, термостабильны и отличаются высокой инфекционностью.

Симптомы болезней, вызываемых вириодами, сходны с признаками вирусных болезней. Наиболее характерные симптомы вириодозов: угнетение роста, уменьшение размеров растения и его отдельных органов (листьев, цветков, плодов), ослабление интенсивности их окраски, хлороз листьев.

Следовательно, вириоды, подобно вирусам — это мельчайшие (субмикроскопические) возбудители болезней человека, животных, растений, которые не имеют клеточного строения, не растут на питательных средах и могут размножаться только в живых клетках организма-хозяина.

МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Общие свойства микроорганизмов

Микробиология — наука, изучающая строение, систематику, физиологию, биохимию, генетику и экологию организмов, имеющих малые размеры и невидимых невооруженным глазом. Эти организмы получили название *микроорганизмов* или *микробов* (от греч. *micro* — малый).

Признак, получивший отражение в самом названии «микроорганизмы» — это малая величина особи. Она не только послужила причиной отделения этих организмов от животных и растений: с нею существенно связаны также особенности морфологии микробов, активность и пластичность их метаболизма и распространение их в природе.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ МИКРООРГАНИЗМОВ

- МАЛЫЕ РАЗМЕРЫ: 20–100 мкм (до 500 мкм)
- ОТНОСИТЕЛЬНАЯ ПРОСТОТА СТРОЕНИЯ ТЕЛА (ОДНО- ИЛИ ДОКЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНИЗМЫ)
- ВЫСОКИЕ ТЕМПЫ РАЗМНОЖЕНИЯ
- МАССОВОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ
- СПОСОБНОСТЬ К ТРАНСФОРМАЦИИ ЛЮБЫХ ВЕЩЕСТВ
- ВЫСОКАЯ ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
- ВЫРАЖЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ПРИСПОСОБЛЯЕМОСТЬ К ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ
- ПОВСЕМИСТНОЕ РАСПРОСТРАНЕНИЕ В БИОСФЕРЕ

Основные признаки, отличающие прокариотическую клетку от эукариотической.

Данные о различиях в строении клеток микроорганизмов, входящих в группу Protista, начали накапливаться с конца XIX в. Это привлекло за собой деление группы на высшие и низшие протисты. К

высшим протестам стали относить микроскопических животных (простейших), микроскопические водоросли (кроме сине-зеленых) и микроскопические грибы (плесени, дрожжи), к низшим — все бактерии и сине-зеленые водоросли (последние чаще называют теперь цианобактериями). Деление на высшие и низшие протисты происходило в соответствии с двумя выявленными типами клеточной организации — эукариотной и прокариотной

Всякая клетка состоит из цитоплазмы и ядерного материала, снаружи ее ограничивает плазматическая мембрана. Этот *протопласт* может быть окружен еще клеточной стенкой, выполняющей в основном механические функции; стенка имеется у растительных, животных клеток и у клеток большинства бактерий.

Обоснование того, что прокариотный и эукариотный типы клеточной организации являются наиболее существенной границей, разделяющей все клеточные формы жизни, связано с работами Р.Стейниера (R.Stanier, 1916—1982) и К. ван Нияля, относящимися к 60-м гг. XX в. Поясним разницу между прокариотами и эукариотами. Клетка — это кусочек цитоплазмы, отграниченный мембраной. Обязательными химическими компонентами каждой клетки являются два вида нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), белки, липиды, углеводы. Цитоплазма и элементарная мембрана, окружающая ее, — неперенные и обязательные структурные элементы клетки. Это то, что лежит в основе строения всех без исключения клеток. Изучение тонкой структуры выявило существенные различия в строении клеток прокариот (бактерий и цианобактерий) и эукариот (остальные макро- и микроорганизмы).

СРЕДИ МИКРООРГАНИЗМОВ РАЗЛИЧАЮТ:

ДОКЛЕТОЧНЫЕ ФОРМЫ	ОДНОКЛЕТОЧНЫЕ ФОРМЫ	
	ПРОКАРИОТЫ	ЭУКАРИОТЫ
ПРИОНЫ	БАКТЕРИИ	ВОДОРОСЛИ
ВИРОИДЫ	СПИРОХЕТЫ	ПРОСТЕЙШИЕ
ВИРУСЫ	РИККЕТСИИ	ГРИБЫ
	МИКОПЛАЗМЫ	
	ХЛАМИДИИ	

Прокариотная клетка отличается тем, что имеет одну внутреннюю полость, образуемую элементарной мембраной, называемой клеточной, или цитоплазматической (ЦПМ). У подавляющего большинства прокариот ЦПМ — единственная мембрана, обнаруживаемая в клетке. В эукариотных клетках в отличие от прокариотных есть вторичные полости. Ядерная мембрана, отграничивающая ДНК от остальной цитоплазмы, формирует вторичную полость. Наружные мембраны хлоропластов и митохондрий, окружающие заключенные в них функционально специализированные мембраны, играют аналогичную роль.

В клетках прокариот ядерная ДНК не отделена от цитоплазмы мембраной.

Как уже было отмечено, клетки прокариот очень малы. Подавляющее большинство бактерий имеет форму палочек не более 1 мкм толщиной и 5 мкм длиной.

ДНК не окружена ядерной мембраной, а органеллы типа митохондрий и хлоропластов отсутствуют. Вся генетическая информация протоцита содержится в одной-единственной нити ДНК - «бак-

териальной хромосоме». Эта молекула ДНК у всех до сих пор исследованных бактерий имеет вид кольцевой нити.

Сопоставление некоторых черт прокариотной и эукариотной клеточной организации

Признак	Прокариотная клетка	Эукариотная клетка
Организация генетического материала	нуклеоид (ДНК не отделена от цитоплазмы мембраной), состоящий из одной хромосомы; митоз отсутствует	ядро (ДНК отделена от цитоплазмы ядерной оболочкой), содержащее больше одной хромосомы, деление ядра путем митоза
Локализация ДНК	в нуклеоиде и плазмидах, не ограниченных элементарной мембраной	в ядре и некоторых органелах
Цитоплазматические органеллы	отсутствуют	имеются
Движение цитоплазмы	отсутствует	часто обнаруживается
Клеточная стенка (там, где она имеется)	в большинстве случаев содержит пептидогликан	пептидогликан отсутствует
Жгутики	нить жгутика построена из белковых субъединиц, образующих спираль	каждый жгутик содержит набор микротрубочек, собранных в группы: $(2 - 9) + 2$

Бактерии, как правило, размножаются путем деления надвое (бинарное деление). Клетка удлиняется, а затем происходит образование поперечной перегородки, постепенно врастающей снаружи внутрь (или перетяжки), после чего дочерние клетки расходятся. У многих бактерий, однако, после деления в определенных условиях среды дочерние клетки некоторое время остаются связанными между собой, образуя характерные группы. При этом в зависимости от ориентации плоскостей деления и числа делений возникают различные формы

МОРФОЛОГИЯ (от греч. *морфа*- вид, форма + *логия* – наука). Комплекс научных отраслей исследующих закономерности формы и строения живых организмов.

Морфология у микробов – это:

- форма,
- размеры,
- расположение друг относительно друга,
- структурные особенности,
- тинкториальные свойства
- (отношение к окраске)

Морфология бактерий.

Бактерии, как правило, являются одноклеточными организмами, клетка их имеет довольно простую форму, представляет собой шар или цилиндр, иногда изогнутый. Размножаются бактерии преимущественно делением на две равноценные клетки.

- Бактерии шаровидной формы называют **кокками**.
- Большое количество бактерий имеют цилиндрическую, или **палочковидную форму**.
- Нередко встречаются извитые, или **спиралевидные бактерии**.

ФОРМЫ БАКТЕРИЙ

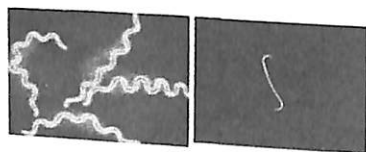
ШАРОВИДНЫЕ
(КОККИ)



ЦИЛИНДРИЧЕСКИЕ
(ПАЛОЧКИ)



ИЗВИТЫЕ
МИКРООРГАНИЗМЫ



1. Шаровидные, или кокки. В зависимости от плоскости деления и характера взаимного расположения клеток относительно друг друга среди *кокков* выделяют: микрококки и стафилококки — клетки делятся в разных плоскостях (у микрококков клетки после деле-

ния расходятся и лежат одиночно, у стафилококков клетки образуют неправильные скопления формы виноградной грозди); диплококки и стрептококки — клетки делятся в одной плоскости (первые образуют пары, вторые—цепочки разной длины); тетракокки и сарцины — клетки делятся соответственно в двух и трех взаимно перпендикулярных плоскостях (у первых клетки располагаются в виде тетрады, а у вторых формируют пакеты по 8 особей).

2. Палочковидные бактерии представляют самую многочисленную группу прокариот. Они имеют цилиндрическую форму тела с округлыми или заостренными концами и в сильной степени различаются по отношению длины к ширине. В среде палочковидные бактерии располагаются одиночно либо образуют короткие или длинные цепочки.

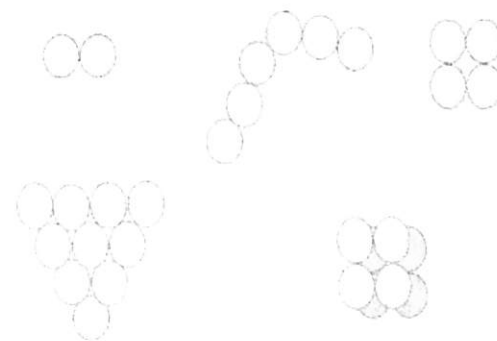


Рис.6. Типы скоплений кокковидных клеток:

А – диплококки; Б – стрептококки;
В – тетракокки; Г – сарцины

Палочковидные (цилиндрические) клетки сильно различаются по отношению длины клетки к ее поперечнику. Они делятся только в одной плоскости – перпендикулярно оси цилиндра. Клетки при этом могут располагаться поодиночке (*монобактерии*), образовывать пары (*диплобактерии*) или цепочки (*стрептобактерии*).

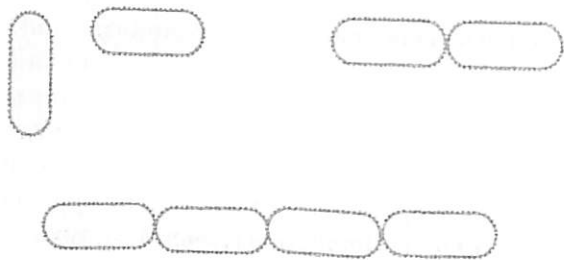


Рис.7. Типы расположения палочковидных клеток:
 А – монобактерии; Б – диплобактерии; В – стрептобактерии

3. Извитые микроорганизмы различаются по степени изогнутости клеток и по числу витков. Так, клетки спирохет сильно изогнуты и насчитывают от 6 до 15 витков; клетки спиралл имеют от 4 до 6 витков; клетки вибрионов представляют собой короткие палочки, формы запятой или полумесяца.

Извитые клетки могут иметь разное число завитков. В зависимости от формы и количества завитков различают три типа клеток *вибрионы* (от греч. *vibrio* – извиваюсь, изгибаюсь) имеют один завиток, не превышающий четверти оборота спирали (изогнутые клетки наподобие запятой); *спираллы* (от греч. *speira* – спираль) имеют 3–5 крупных завитков *спирохеты* – большое количество мелких завитков.



Рис.8. Типы извитых клеток:
 А – вибрионы; Б – спираллы; В – спирохеты

Бактерии — это мельчайшие организмы, обладающие клеточным строением. Диаметр бактериальной клетки в среднем составляет 1 мкм. Размеры клеток варьируют в пределах от 0,1 до 10 мкм. Бактерии - одноклеточные организмы; их можно разглядеть только под микроскопом. Поэтому их и называют **микробами** или **микроорганизмами**. Изучением бактерий занимается наука **бактериология** - одна из дисциплин микробиологии. К микробиологии относятся также **вирусология** (изучение вирусов), **микология** (изучение грибов) и другие дисциплины, занимающиеся изучением остальных микроорганизмов. При исследовании самых разных микроорганизмов используют почти одни и те же методические приемы.

Бактерии освоили самые разнообразные среды обитания: они живут в почве, пыли, воде, воздухе, на внешних покровах животных и растений и внутри организма. Их можно обнаружить даже в горячих источниках, где они живут при температуре около 60°C или выше. Численность бактерий трудно оценить: в 1 г плодородной почвы может находиться до 100 млн., а в 1 см³ парного молока - свыше 3000 млн. бактерий. Жизнедеятельность микроорганизмов имеет **важное значение** для всех остальных живых существ, так как бактерии и грибы разрушают органическое вещество и участвуют в круговороте веществ в природе. К тому же бактерии приобретают все **большее значение** в жизни людей, и не потому, что они вызывают различные заболевания, а потому, что их можно использовать для получения многих необходимых продуктов.

Химический состав одноклеточных организмов.

Вес сырой биомассы бактерий определяют после отделения клеток от жидкой питательной среды путем центрифугирования. Осевшая клеточная масса содержит 70-85% воды; таким образом, сухая биомасса составляет 15-30% от сырой массы. Если клетки содержат много запасного материала (липиды, полисахариды, полифосфаты или серу), доля сухой массы больше. Сухое вещество бактерий - это в основном полимеры [белки (50%), компоненты клеточной стенки (10-20%), РНК (10-20%), ДНК (3-4%), а также липиды (10%)]. Десять важнейших химических элементов представлены в клетках бактерий примерно следующим образом: углерод-50%, кислород-20%, азот-14%, водород-8%, фосфор-3%, сера-1 %, калий-1%, кальций-0,5%, магний -0,5% и железо 0,2%

Структуры прокариотной клетки

Клетка прокариот, несмотря на относительно малые размеры, имеет все структурные компоненты, присущие любой клетке. Среди структур бактериальной клетки различают:

- *основные структуры* — клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с различными цитоплазматическими включениями и нуклеоид;

- *временные структуры*, которые клетка несет лишь на определенных этапах жизненного цикла, — капсулу, жгутики, фимбрии, у некоторых представителей бактерий — эндоспоры.

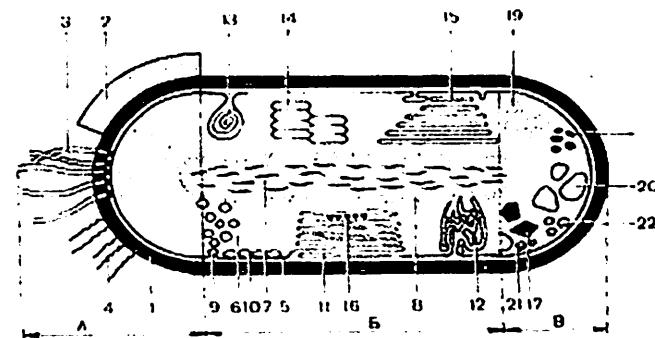
Разнообразные методы исследования дали возможность определить различные поверхностные и внутренние структуры у бактерий.

- *К внешним структурам* относят: капсулы, жгутики, фимбрии и пили, а также клеточную стенку, под которой расположена цитоплазматическая мембрана.

- *Внутреннее содержимое бактерий* представлено цитоплазмой, в которой находятся: нуклеоид, рибосомы и мембранные структуры, а также разнообразные включения. Бациллы и некоторые другие бактерии образуют споры.

Клеточная стенка — один из главных элементов структуры бактериальной клетки. Клеточная стенка обладает определенной ригидностью (жесткостью).

Клеточная стенка — структура бактерий и грибов, располагающаяся между цитоплазматической мембраной и капсулой. Она защищает внутреннее содержимое клетки от действия механических и осмотических сил внешней



Схематическое строение прокариотной клетки.

А — поверхностные структуры: 1 — клеточная стенка; 2 — капсула, или слизистый слой; 3 — жгутики; 4 — фимбрии;

Б — цитоплазматические структуры: 5 — цитоплазматическая мембрана; 6 — цитоплазма; 7 — нуклеоид; 8 — рибосомы; 9 — хроматофоры; 10 — везикулы; 11 — пластинчатые тилакоиды; 12 — трубчатые тилакоиды; 13 — мезосома; 14 — аэросомы; 15 — ламеллярные структуры; 16 — карбоксисомы;

В — запасные вещества: 17 — полифосфаты; 18 — полисахариды; 19 — поли-оксимасляная кислота; 20 — включения серы; 21, 22 — жировые капли

среды, ей принадлежит важная роль в регуляции роста и деления бактерий и распределении генетического материала.

Клеточная стенка ответственна за окрашивание бактерий по Граму. Способность окрашиваться по Граму связана с различием в химическом составе клеточных стенок бактерий.

Главным структурным компонентом клеточных стенок большинства исследованных бактерий является пептидогликан (муреин), представляющий собой гетерополимер.

У **грамположительных бактерий** клеточная стенка состоит из многослойного пептидогликана, в который вплетены сопутствующие компоненты — белки, полисахариды, а также тейхоевые кислоты.

У **грамотрицательных бактерий** пептидогликан однослойный. Сверху него располагается структура получившая название наружной мембраны. Она имеет мозаичное строение и состоит из фосфолипидов, липопротеидов, белков и сложного липополисахарида.

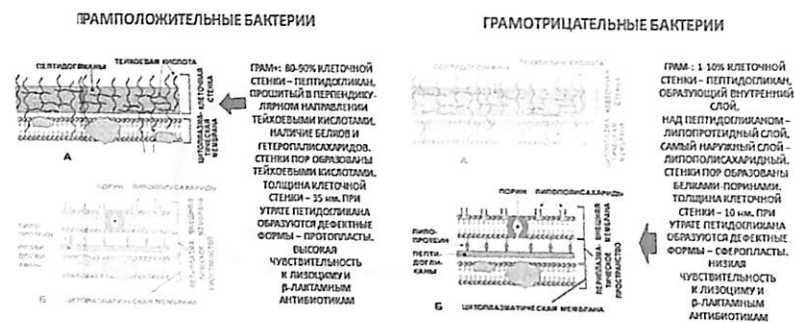


Рис.10. Схематическое строение клеточной стенки Грам+ и Грам- бактерий.

Большинство бактерий окружены слоем вещества, расположенного поверх клеточной стенки. Это слизистое образование – **капсула**. Бывают макрокапсулы (толщина слоя 0,2 мкм), микрокапсулы (менее 0,2 мкм), слизистый слой и растворимая слизь.

По химическому составу капсулы можно разделить на два типа. Одни представлены полисахаридами, другие – полипептидами. Однако встречаются капсулы состоящие из липидов, гетерополисахаридов и других веществ. Капсулы содержат до 98% воды.

Они создают осмотический барьер, а также защищают клетку от механических повреждений и высыхания.

Существуют два типа подвижных бактерий: скользящие и плавающие.

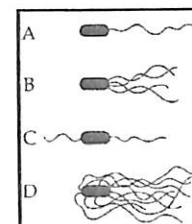
Скольжение совершается по поверхности в результате волнообразных сокращений, вызывающих периодическое изменение формы клетки.

Плавающие палочковидные бактерии передвигаются с помощью особых нитевидных придатков – **жгутиков**. За счет жгутиков передвигается большинство спирилл. Кокки, за исключением отдельных видов, не имеют жгутиков.

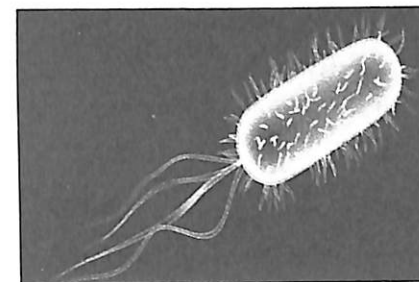
Бактерия с одним жгутиком называется **монотрихом**, с пучком жгутиков на одном конце клетки – **лофотрихом**, на обоих концах – **амфитрихом**, бактерия со жгутиками расположенными по всей поверхности клетки, называются **перитрихом**.

Жгутики прикрепляются к особой структуре – базальному тельцу, расположенному под цитоплазматической мембраной. Движение жгутику сообщает через его основание, состоящее из центрального стержня, вставленного в систему колец, которые вращаются относительно друг друга.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПОДВИЖНОСТИ У БАКТЕРИЙ



А - МОНОТРИХ, В - ЛОФОТРИХ, С - АМФИТРИХ, Д - ПЕРИТРИХ



Споры и спорообразование.

Бактерии рода *Bacillus*, *Clostridium* и *Desulfotomaculum*, так же как некоторые кокки и спирали, способны образовывать споры (эндоспоры) – тельца сферической или эллиптической формы, устойчивые к воздействию неблагоприятных факторов. Споры преломляют свет и четко видны в световом микроскопе.

Обычно спорообразование начинается, когда бактерии испытывают недостаток питательных веществ или когда в среде в большом количестве накапливаются продукты обмена веществ бактерий.

Поэтому споры можно рассматривать как приспособление организма для выживания в неблагоприятных условиях среды.

Общая схема спорообразования может быть представлена в виде:

- В результате неравномерного деления бактериальной клетки, сопровождающегося впячиванием цитоплазматической мембраны, наблюдается обособление части нуклеоида с небольшой частью цитоплазмы. Образовавшаяся **проспора** покрывается цитоплазматической мембраной бактериальной клетки.

- Дальнейшее развитие споры заключается в образовании нескольких слоев споровых покровов и ее созревании. Поверх покровов споры образуется еще одна структура – **экзоспориум**.

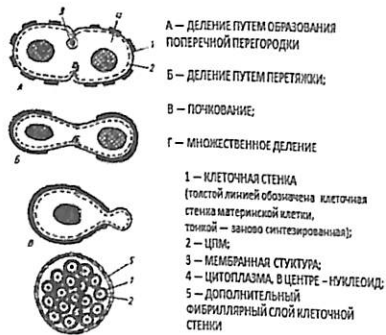
• После созревания споры клеточная стенка вегетативной части клетки разрушается и спора выходит в окружающую среду.

• При попадании в благоприятные условия спора начинает прорастать.

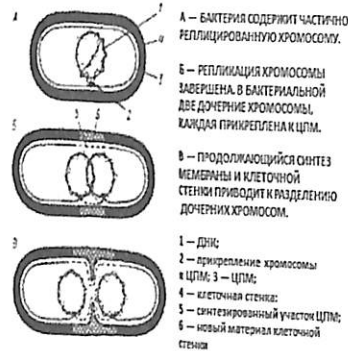
Размножение микроорганизмов – процесс воспроизведения себе подобных особей (самовоспроизведения), обеспечивающий продолжение существования вида. Важнейшей особенностью микроорганизмов являются исключительно высокие темпы размножения в благоприятных условиях (взрывной тип размножения) и способность их длительное время обходиться без размножения в неблагоприятных условиях.

Бактерии, как правило, размножаются путем деления надвое (бинарное деление).

СПОСОБЫ ДЕЛЕНИЯ У ПРОКАРИОТ



ПРИНЦИПИАЛЬНАЯ СХЕМА ДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИИ



Систематика бактерий

Наиболее признанной и используемой фенотипической классификацией бактерий является классификация, представленная в девятом издании Определителя бактерий Берджи. В этом издании бактерии на основании строения пограничного слоя клетки разделены на четыре основные категории (отдела):

- 1) *Gracilicutes* (от лат. *cutes* – кожа, *gracilis* – тонкий) – грамотрицательные зубактерии, имеющие клеточные стенки;
- 2) *Firmicutes* (от лат. *firmus* – прочный) – грамположительные зубактерии, имеющие клеточные стенки;

3) *Tenericutes* (от лат. *tener* – мягкий, нежный) – зубактерии, лишенные клеточных стенок;

4) *Mendosicutes* (от лат. *mendosus* – ошибочный) – архебактерии, клеточные стенки которых отличаются от аналогичных структур других прокариот.

В *отдел Gracilicutes* входят бактерии различной морфологии с грамотрицательной клеточной стенкой. Размножение происходит в основном бинарным делением, некоторые бактерии размножаются почкованием. Эндоспор не образуют. Большинство подвижны: встречаются все типы передвижения бактерий – с помощью жгутиков, скольжением, изгибанием. Отдел включает аэробные, анаэробные и факультативные анаэробные бактерии; фототрофные и хемотрофные бактерии. Отдел подразделяют на три класса: *Scotobacteria*, *Oxyphotobacteria*, *Anoxyphotobacteria*. В класс *Scotobacteria* входят грамотрицательные бактерии, не использующие световую энергию для целей метаболизма, а получающие ее только в результате окислительно-восстановительных реакций. Название класса происходит от греч. *scotos* – темнота. Это самый крупный класс бактерий. В класс *Anoxyphotobacteria* входят пурпурные бактерии, зеленые бактерии и гелиобактерии, осуществляющие анаэробный фотосинтез (без выделения молекулярного кислорода). Класс *Oxyphotobacteria* представлен цианобактериями и прохлорофитами, осуществляющими окислительный фотосинтез (с выделением молекулярного кислорода). Этот тип фотосинтеза аналогичен фотосинтезу, протекающему в растениях.

В *отдел Firmicutes* включены бактерии с грамположительной клеточной стенкой. Клетки могут иметь разную форму: палочки, кокки, нитевидные, ветвящиеся. Некоторые представители образуют эндоспоры. Большинство из них неподвижны; подвижные формы имеют перитрихальное жгутикование. В состав отдела входят аэробные, анаэробные и факультативно анаэробные бактерии. Отдел состоит из двух классов: *Firmibacteria*, *Thallobacteria*. Класс *Firmibacteria* включает большое количество «неветвящихся» грамположительных бактерий. Класс *Thallobacteria* включает бактерии, клетки которых способны «ветвиться».

Отдел Tenericutes представлен бактериями, не имеющими клеточной стенки. В связи с отсутствием клеточной стенки форма клеток непостоянна: в чистой культуре одного вида одновременно присутствуют кокковидные, палочковидные, нитевидные, груше-

видные, дисковидные и другие клетки. Размножение бактерий, входящих в этот отдел, происходит бинарным делением, почкованием. Окрашивание по Граму отрицательное. Характерно образование мелких, растущих в агар колоний. Могут быть сапрофитными, паразитами или патогенами. Отдел состоит из одного класса *Mollicutes* (микоплазмы).

Отдел *Mendosicutes* образован бактериями с ригидной клеточной стенкой, но не содержащей пептидогликана муреина. Большинство представителей – строгие анаэробы, многие из которых имеют жгутики. Виды характеризуются экологическим и метаболическим разнообразием, способностью жить в экстремальных условиях. Отдел состоит из одного класса – *Archaeobacteria*

При этом в царстве Prokaryote выделены три класса:

Класс 1 *Бактерии-хемоорганотрофы*- используют химический источник энергии и органические вещества;

Класс 2. *Риккетсии*- внутриклеточные бактерии-паразиты, которые не растут на искусственных питательных средах;

Класс 3 *Микоплазмы*, лишенные клеточной стенки.

Бактерии – хемоорганотрофы по морфологии и окраске по Граму подразделяются на четыре морфо- и две хромогруппы. Среди морфогрупп выделяют: 1. Палочки и кокки, образующие эндоспоры; 2. Спирохеты; 3. Спиралевидные и изогнутые бактерии (спириллы и вибрионы); 4. Актиномицеты и родственные им ветвистые бактерии. В составе хромогрупп выделяют грамположительные и грамотрицательные аэробные бактерии, размножающиеся при широком доступе кислорода, факультативно-анаэробные и анаэробные, развитие которых происходит в бескислородной среде.

Риккетсии

Риккетсии- это мелкие, длиной не более 1 мкм, неподвижные бактериоподобные организмы, видимые в световой микроскоп. Они сочетают признаки истинных бактерий и вирусов и занимают промежуточное положение между ними. Форма риккетсий разнообразна: округлые, палочковидные; одиночные, соединенные парами или короткие цепочки. В клетках обнаруживаются зернистые включения хроматиновой природы. Риккетсии- внутриклеточные паразиты, в искусственных питательных средах они не растут. Заболевания человека и животных, вызываемые риккетсиями, называются риккетсиозами (спной тиф, ку-лихорадка).

Миксобактерии

Миксобактерии имеют палочковидную и веретенообразную форму. Они способны к образованию больших количеств слизи. Клеточная оболочка отсутствует. Размножаются делением или перешнурованием клетки. Некоторые в неблагоприятных условиях превращаются в покоящуюся стадию- в цисты. Миксобактерии живут в почве, на различных растительных остатках.

Классификация (таксономия) микроорганизмов.

Для обозначения микроорганизмов принята двойная (бинарная) номенклатура, которая включает названия рода и вида. Родовое название пишется с прописной буквы, видовое, даже происходящее от фамилии - со строчной. Пример: *бациллу сибирской язвы* называют *Bacillus anthracis*.

Основной (нижней) таксономической единицей является вид. Виды объединяются в роды, роды - в семейства, семейства - в порядки, порядки в классы, классы - в отделы, отделы - в царства.

Вид- это совокупность популяций, имеющих общее происхождение и генотип, морфологические, физиологические и др. Признаки, способные в определенных условиях вызывать одинаковые процессы.

Культура - микроорганизмы, полученные от животного, человека, растения или субстрата внешней среды и выращенные на питательной среде. Чистые культуры состоят из особей одного вида, смешанные представляют собой скопления клеток разных видов

Штамм - это культура одного и того же вида, выделенная из разных сред и отличающаяся незначительными изменениями свойств. (чувствительность к лекарственным препаратам, неодинаковая биохимическая активность) . Например, кишечная палочка, выделенная от человека, и такая же палочка, выделенная от свиней, могут быть разными штаммами.

Клон - культура микроорганизмов, выделенная из одной клетки. По Международному кодексу номенклатуры бактерий (1980) вид может быть разделен на подвиды и варианты. В названиях микробов, различающихся по некоторым свойствам, вместо суффикса «тип» введен суффикс «вар» -фаговар.

МОРФОЛОГИЯ, СТРОЕНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЕ ГРИБОВ

Общие сведения о грибах

Грибы — самая многочисленная группа возбудителей болезней. Из общего числа заболеваний растений на грибные приходится более 80%. Грибы представляют собой обособленную группу организмов с нитчатым строением вегетативного тела и настоящими ядрами.

Все обитающие на земле организмы по способу питания делятся на две группы — *автотрофы* и *гетеротрофы*.

- *Автотрофы* — организмы способные сами создавать в процессе жизнедеятельности (фотосинтез, хемосинтез) органическое вещество, к ним относятся растения и некоторые бактерии.

- *Гетеротрофы* — организмы не способные создавать органическое вещество и питаются только за счет вещества создаваемого автотрофами, т.е. это организмы которые по сути своей являются деструкторами и их жизнь невозможна без питания за счет созданного другими организмами имеющегося субстрата

Клетки грибов лишены хлорофилла, и для своего существования нуждаются в источниках органического вещества, т. е. по своей природе грибы — *гетеротрофы*. Размножаются они при помощи спор.

Некоторые особенности биологии грибов сближают их с растениями, а некоторые — с животными.

На животных грибы похожи тем, что у них: 1) в состав клеточной стенки входит хитин; 2) часть аминокислот (лизин) синтезируется тем же путем, что и животных; 3) многие продукты метаболизма, встречающиеся у животных, есть у грибов, но отсутствуют у растений (например, гликоген, мочевины, сератонин).

С растениями грибы сближают следующие черты: 1) питаются они адсорбционно; 2) размножаются спорами; 3) для них характерен непрерывный рост грибницы; 4) их вегетативные структуры неподвижны.

До недавнего времени грибы относили к растительному миру. В последнее время большинство ученых выделяют грибы в отдельное царство (*Fungi*), наряду с ранее выделенными царствами Растения (*Plantae*) и Животные (*Animalia*).

Развитие этой группы организмов шло независимо от них.

В настоящее время грибы выделены в самостоятельное царство. насчитывающее, по данным разных авторов, от 100 до 250 тыс. видов — от микроскопических до довольно крупных форм, с массивными плодовыми телами и весом до нескольких килограммов.

Микологи ежегодно описывают более 1000 новых видов.

Многие грибы съедобны и являются ценными продуктами питания.

Поскольку в качестве источника питания грибы используют готовое органическое вещество растительного или животного происхождения, следовательно, они ведут или сапротрофный, или паразитический образ жизни.

Основная роль грибов в природе заключается в минерализации органических соединений. Поселяясь на остатках растений или животных, они выполняют важную санитарную функцию в общем круговороте веществ в природе. В процессе жизнедеятельности некоторые грибы создают полезные для человека вещества — антибиотики и др. Ферментативную активность некоторых грибов используют в хлебопечении, пивоварении.

Наряду с положительной деятельностью грибы причиняют большой ущерб народному хозяйству, разрушая растительные и животные продукты в поле и во время хранения, уничтожая древесину, вызывая многочисленные болезни растений.

Морфология грибов

Вегетативное тело гриба состоит из системы тончайших ветвящихся гиф, называемой *грибницей*, или *мицелием*. Гифа — основной элемент грибницы, она представляет собой удлинённую нить, обладающую вершинным ростом.

Гифы могут не иметь перегородок, и тогда мицелий состоит из одной сильно разветвленной клетки. Такой мицелий называют неклочным, или нечленистым.

Гифы с поперечными перегородками образуют многоклеточный, или членистый (септированный) мицелий.

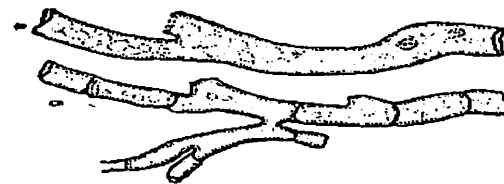


Рис. 11. Схематическое изображение гиф грибов

Мицелий: а — мицелий неклочный,
б — мицелий многоклеточный

Грибы характеризуются большим морфологическим разнообразием вегетативного тела: от одноклеточных микроскопических до крупных многоклеточных, сложно устроенных форм.

Грибы не способны к фотосинтезу и для роста и развития используют готовые органические вещества, как гетеротрофные организмы.

По характеру роста различают субстратный и воздушный мицелий грибов. Субстратный мицелий стелется непосредственно по поверхности и проникает внутрь субстрата, где в основном и локализуется. Он характерен для дереворазрушающих, почвенных, многих паразитических и сапротрофных грибов. Воздушный мицелий свободно приподнимается над субстратом и плотно соприкасается с ним только в отдельных местах; характерен для мучнисто-росяных и плесневых грибов.

Грибница в массе может иметь белую, серую, розоватую, черную окраску. Грибы, развивающиеся на поверхности растений, имеют вид паутинистого, мучнистого, пушистого или ватообразного налета. Дереворазрушающие грибы образуют плотные пленки в трещинах древесины в виде бумаги или «замши».

Поскольку мицелий является главным структурным элементом вегетативного тела, его роль в жизни гриба велика. Прежде всего, именно благодаря гифам мицелия осуществляются питание гриба, его рост, развитие и размножение. В процессе эволюции у грибов выработалась способность видоизменять свое вегетативное тело за счет уплотнения и срастания переплетенных гиф.

Видоизменения вегетативных гиф.

Гифы могут существенно различаться по своему строению, они могут быть разной формы и строения, выполнять различные функции. Наиболее известны следующие видоизменения гиф:

1) *Гаусторий* – видоизменение гифы, служащее для питания биотрофным грибам.

2) *Аппрессорий* – специализированный орган прикрепления (присоска) гриба к поверхности питающего субстрата (в частности, к поверхности листа).

3) *Столон* – это дуговидно изогнутая гифа, способствующая распространению гриба по поверхности субстрата.

4) *Ризоид* – корнеподобное образование, выполняющее функцию прикрепления к субстрату и извлечения из него питательных веществ.

5) *Ловчие структуры* – кольца, сети, состоящие из гиф. Они встречаются у грибов, которые питаются нематодами (т.н. хищные грибы).

6) *Эндотрофная микориза* – плотное переплетение гиф гриба с корневыми волосками растения, сопровождающееся внедрением в клетки растения отростков гиф гриба.

7) *Склероций* – плотное сплетение гиф, предназначенное для перенесения грибом неблагоприятных условий.

8) *Псевдосклероций* – сплетение гиф гриба с кусочками субстрата или с фрагментами тканей растения-хозяина, на котором гриб растет.

9) *Строма* – сплетение гиф, на котором образуется спороние.

10) *Ризоморфа* – это пучок гиф большого диаметра (до 0,5-1 см) с более или менее выраженной дифференцировкой на прочные внешние гифы, которые играют защитную роль, и внутренние гифы обычного строения, служащие для накопления и транспорта веществ.

11) *Оидии* – клетки, на которые распадается мицелий при неблагоприятных условиях.

12) *Хламидоспоры* – толстостенные покоящиеся клетки определенной формы (чаще округлые), служащие для перенесения неблагоприятных условий.

Клетка грибов окружена твердой оболочкой. Благодаря твердой оболочке клетки вегетативные гифы и органы размножения имеют определенную форму. Клеточная оболочка защищает содержимое клетки от воздействий окружающей среды, через нее идет обмен веществ между клеткой и субстратом, клеткой и внешней средой.

Размножение грибов

У грибов различают два типа размножения: *вегетативное* и *репродуктивное*.

• *Вегетативное размножение* осуществляется частицами гиф мицелия или его видоизменениями — оидиями (от греч. оидий — яйцо), бластоспорами, хламидоспорами, геммами и др.

• *Репродуктивное размножение* осуществляется спорами, которые по своему происхождению могут быть бесполыми и образовавшимися в результате полового процесса.

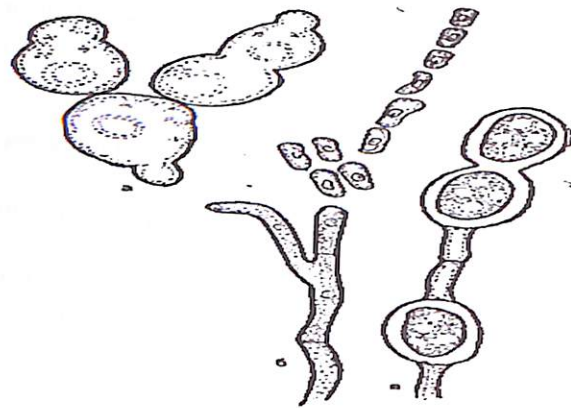


Рис. 12. Вегетативное размножение грибов:
а - бластоспоры; б - оидии (артроспоры); в- хламидоспоры

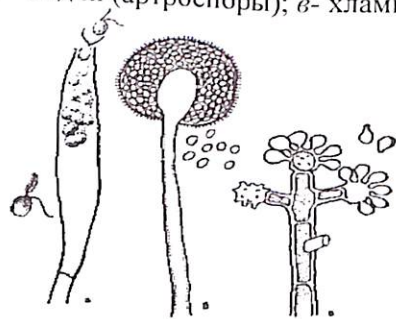


Рис.13. Органы бесполого репродуктивного размножения;
а-зооспорангий;
б-спорангий;
в-конидиеносец.

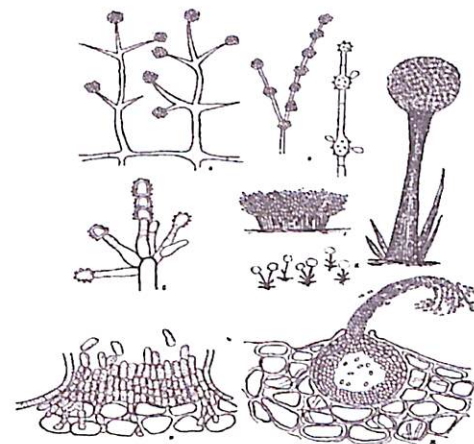


Рис.14. Типы конидиеносцев несовершенных грибов

Репродуктивные структуры грибов

Разнообразные репродуктивные структуры, встречающиеся у грибов, подразделяют на **вегетативные, бесполое и половые**.

Вегетативные и бесполое – формируются без смены ядерных фаз, за счет простого преобразования колонии или ее частей.

Половые репродуктивные структуры формируются после слияния гамет, они имеют специфическую структуру.

В общем случае жизнеспособная единица размножения называется диаспорой, пропагулой или зародышем. **Пропагула – это единица, способная воспроизвести новый грибной организм.**

При вегетативном размножении пропагулы образуются **непосредственно** из гиф мицелия, без формирования специфических структур. При бесполом размножении пропагулы возникают на специфических структурах, которые могут быть использованы для идентификации гриба.

Примеры вегетативного размножения: 1) деление мицелия (клонирование); 2) почкование у дрожжей; 3) артроспоры (артроконидии) – образуются путем отделения перегородками участка гифы и распадением его на споры (как, например, у *Geotrichum*); 4) другие видоизменения вегетативного мицелия, предназначенные также и для перенесения неблагоприятных условий – хламидоспоры, геммы, склеротии

Вегетативное размножение у грибов осуществляется как частями мицелия, так и спорами вегетативного размножения.

К спорам вегетативного размножения относятся: оидии, хламидоспоры, геммы и бластоспоры.

Оидии образуются в результате распада концов гиф на членики, каждый из которых может дать начало новому мицелию. Имеют тонкую, эластичную оболочку и недолговечны. Известны у многих плесневых и других грибов.

Хламидоспоры возникают путем обособления отдельных участков гифы, которые покрываются толстой темноокрашенной оболочкой и способны сохраняться в неблагоприятных условиях. Хламидоспоры широко распространены у мукоровых, базидиальных и несовершенных грибов.

Геммы по способу образования напоминают хламидоспоры, но отличаются от них непостоянством формы и величины. Обнаружены у многих грибов — сумчатых, головневых и др.

Бластоспоры (почкующийся мицелий) образуются в результате почкования материнских клеток мицелия. Такой способ размножения характерен для дрожжевых и близких им сумчатых грибов.

Бесполое размножение может быть эндогенное и экзогенное.

При эндогенном размножении споры образуются в специализированных споровместилищах — спорангиях.

При экзогенном — споры образуются на поверхности спороносов.

Споры, образующиеся в спорангиях, подразделяют по способности к движению на зооспоры (подвижные споры) и спорангиоспоры (или апланоспоры — не способные к активному передвижению).

В отличие от эндогенных спороношений гораздо разнообразнее экзогенные (наружные) — *конидии*. Они образуются на специальных ответвлениях гиф — *конидиеносцах*. Нередко конидии развиваются в особыхместилищах — *пикнидах* и *ложках*. Конидиеносцы и конидии весьма разнообразны по форме, строению и окраске. Конидии могут быть одноклеточными и многоклеточными, различной формы и окраски. Конидия всегда закладывается как одна клетка, имеющая округлую или овальную форму. Но в некоторых случаях изменяет свою форму, приобретает поперечные и даже продольные перегородки и представляет сложное многоклеточное тело. Размеры их сравнительно малы (от 1 до 15 мкм), но количество может быть огромно. Кроме одиночных конидий, у многих

грибов они могут образовывать цепочки, головки по несколько вместе.

• Кроме вегетативного и бесполого размножения, у большинства грибов (около 70% известных видов) существует половое размножение.

• Половой процесс наблюдается почти у всех групп грибов, но в каждой имеет свои особенности. Характерной чертой полового процесса является слияние двух разнополюх элементов — гамет, в результате чего между ними происходит обмен генетическим материалом. Типичный половой процесс — слияние половых гамет с образованием *зиготы* — наблюдается в основном у низших грибов. У высших грибов (сумчатых и базидиальных) половой процесс более или менее редуцирован, поскольку в нем принимают участие соматические клетки мицелия. А у несовершенных грибов типичный половой процесс заменен парасексуальным циклом, при котором обмен генетической информацией происходит в любой вегетативной клетке мицелия.

Систематика грибов

В настоящее время на земном шаре насчитывается более 100 тыс. видов грибов. Чтобы разобраться в этом многообразии видов, установить название возбудителя того или иного заболевания, все грибы объединены в группы и размещены в определенной системе.

В современной систематике живых организмов принят принцип иерархии, заключающийся в последовательном объединении групп одного ранга в группы более высокого ранга. В соответствии с этим принципом организмы распределяются по царствам (Regnum), отделам (Divisio), классам (Classis), порядкам (Ordo), семействам (Familia), родам (Genus) и видам (Species).

В пределах каждой единицы предусмотрены промежуточные категории: подкласс, подпорядок, подсемейство, подрод, подвид.

Кроме того, для паразитических грибов выделяются специализированные формы.

Большинство современных микологов подразделяют грибы (царство *Fungi*) на три отдела:

- 1) *Myxomycota* — миксомицеты, или слизевики.
- 2) *Oomycota* — оомицеты.
- 3) *Eumycota* — настоящие грибы

МОРФОЛОГИЯ, СТРОЕНИЕ И РАЗМНОЖЕНИЕ АКТИНОМИЦЕТОВ

Бактерии, актиномицеты, микоплазмы и риккетсии объединяют по одному общему признаку — их клетки не имеют настоящего ядра. Ядерный аппарат у этих организмов называют обычно *нуклеоидом*, что в переводе с латинского означает «подобный ядру». Их относят к группе, или надцарству Доядерных организмов — Прокариот (*Procariota*).

По систематике Берги актиномицеты входят в одну группу с каринсформными бактериями, так же, как и они, положительно окрашиваются по Граму. Однако по морфологическим, физиологическим и биологическим признакам актиномицеты составляют обособленную группу. С бактериями их сближает отсутствие настоящего ядра (прокариоты), но в отличие от бактерий вегетативное тело у актиномицетов представлено очень тонкими, ветвящимися, лучисто разрастающимися во все стороны тонкими гифами. Совокупность таких гиф называют, как и у грибов, мицелием. За четко выраженный лучистый характер разрастания мицелия актиномицеты называют иногда лучистыми грибами.

Размножаются актиномицеты участками мицелия или спорами, образующимися на специальных органах — *спороносцах*. Спороносцы спиральные или прямые, споры шаровидные или палочковидные. В культуре актиномицеты образуют мелкие диаметром около 10 мм колонии, сначала кожистой или маслянистой консистенции, позднее покрытые воздушным мицелием. Споры прорастают ростком, как и конидии грибов.

Actinomyces

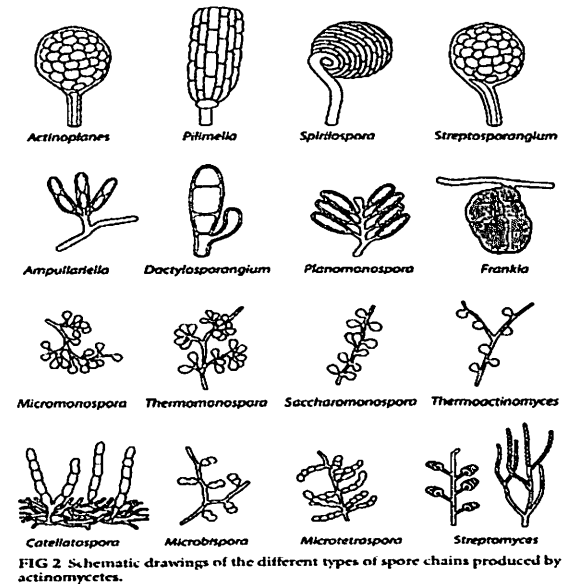
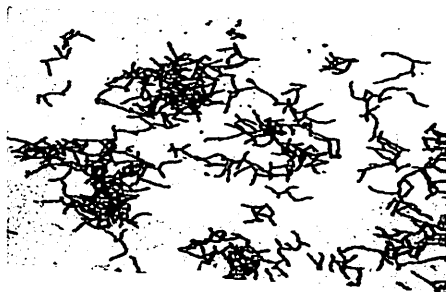


FIG 2 Schematic drawings of the different types of spore chains produced by actinomycetes.

Рис.15. Внешний вид актиномицетов

Актиномицеты (устар. *лучистые грибки*) (от актино- + мицеты) — порядок бактерий, имеющих способность к формированию на некоторых стадиях развития ветвящегося мицелия, которая проявляется у них в оптимальных для существования условиях. Некоторые исследователи, подчёркивая бактериальную природу актиномицетов, называют их аналог грибного мицелия тонкими нитями; их диаметр 0,4—1,5 мкм. Актиномицеты имеют кислотоустойчивый (англ. *acid fast*) тип клеточной стенки, которая окрашивается по Граму как грамположительная, однако по структуре ближе к грамотрицательным. Характеризуются высоким (60—75 %) содержанием ГЦ пар в ДНК.

Наиболее распространены в почве: в ней обнаруживаются представители почти всех родов актиномицетов. Актиномицеты обычно составляют четверть бактерий, вырастающих на традиционных средах при посевах их разведённых почвенных суспензий и 5—15 % прокариотной биомассы, определяемой с помощью люминесцентной микроскопии. Их экологическая роль заключается чаще всего в разложении сложных устойчивых субстратов; предположительно они участвуют в синтезе и разложении гуминовых веществ. Могут выступать симбионтами беспозвоночных и высших растений.

Группы родов актиномицетов определителя Берджи:

Нокардиоформные актиномицеты

Аэробные организмы, имеющие в цикле развития мицелиальную стадию. Мицелий может распадаться на элементы, образуя цепочки, подобные спорангиям. Настоящих спор нет. Сюда относят род *Nocardia*, *Rhodococcus*, способный использовать углеводороды нефти, *Promicromonospora*, *Actinobispora*, *Oerskovia* и др.. деление на роды — по хемотипу клеточной стенки и другим хемотаксономическим признакам.

Роды с многогнездовыми спорангиями

Образующийся мицелий делится на отдельные кокковидные клетки, подвижные у *Geodermatophilus* и *Dermatophilus* и неподвижные у *Frankia*. Франкии — азотфиксирующие симбионты олихип и других небобовых растений, образующие на их корнях клубеньки. Место обитания: почва, воды и кожа млекопитающих.

Актинопланы

В цикле развития имеют подвижную стадию и стадию образования развитого мицелия, разделенного перегородками. Сапротрофы и факультативные паразиты. Распространены в почве, лесной подстилке, животных останках и воде природных источников, часто развиваясь на пыльце попавших в неё растений. Разделяются на роды по типам спорангиев:

Подвижные споры в спорангиях (*Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Dactylosporangium*, *Pilimelia*)

Неподвижные споры

Одиночные (*Micromonospora*)

В цепочках (*Catellatospora*)

Тип клеточной стенки II (содержит мезо-ДАПК и глицин).

Стрептомицеты и близкие роды

Образуют хорошо развитый воздушный мицелий. Не распадается в процессе развития на отдельные клетки. Спорангии состоят из прямых или закрученных спиралью цепочек неподвижных спор. Обитают в почве, характеризуются сильной антибиотической и хитиноразлагающей активностью.

Тип клеточной стенки I (содержит L-ДАПК)

Мадурмицеты

Мицелий также не распадается на отдельные клетки. Споры только на воздушном мицелии в цепочках или спорангиях, как подвижные, так и нет. Группа плохо изучена и требует ревизии. Обра-

зуют короткие цепочки спор (*Actinomadura* и др.), спорангии с неподвижными (*Planomonospora*) или подвижными спорами (*Streptosporangium*).

Типы клеточных стенок II—IV. В гидролизатах целых клеток обнаруживается мадуроза.

Термомоноспоры и близкие роды

Развитый мицелий, споры расположены одиночно, в цепочках или спорангиеподобных структурах. Тип клеточной стенки III (мезо-ДАПК, нет дифференцирующих сахаров).

Род *Thermoactinomyces*

Термоактиномицеты образуют типичные эндоспоры и по этому признаку, а также по строению 16s рРНК должны быть отнесены к бациллам, однако образуют развитый мицелий. Термофилы, способные расти в диапазоне 40-48 градусов по Цельсию.

Строение

Косвенные данные позволяют предположить у актиномицетов апикальный рост.

Дифференциация мицелия — процесс усложнения в процессе развития колонии актиномицета. Прежде всего она проявляется в делении на первичный (субстратный) и вторичный (воздушный) мицелий. Воздушный толще, он гидрофобен, содержит больше ДНК и ферментов, на поверхности его клеток имеются различные структуры (палочковидные, фибриллы).

Мицелий с редкими перегородками, практически ценоцитный у спорообразующих, с частыми перегородками (септами) у форм, для которых мицелий распадается и близких к ним. Вегетативные клетки большинства форм делятся поперечными перегородками. *Geodermatophilus* и *Dermatophilus* — во взаимно перпендикулярных направлениях, некоторые актиномицеты содержат клетки с септами, проходящими в совершенно разных направлениях (спорангии *Micromonospora*, везикулы *Frankia*). Ветвление происходит по механизму почкования.

Часто дифференциация проявляется в образовании амицелиарных структур:

коремии — тесное переплетение слившихся гиф, склеенных слизию с оксидами железа;

агрегаты клеток;

кристаллы вторичных метаболитов;

«серные гранулы»;

склеротии — утолщенные гифы с вакуолями, заполненными липидами, может прорасти как спора;

везикулы — инкапсулированные азотфиксирующие образования у *Frankia*.

В процессе старения цитоплазма клеток приобретает неравномерную электронную плотность, в ней перестают различаться рибосомы, граница нуклеоида расплывается, клеточная стенка становится тонкой и рыхлой, образуется микрокапсула. При автолизе в цитоплазме образуются обширные светлые участки, нуклеоид распадается, в клеточной стенке образуются отверстия, клетка заполняется мембранными структурами, разрушающимися последними.

Жизненный цикл

Нокардиоформные актиномицеты редко образуют споры и размножаются преимущественно фрагментами быстро распадающегося мицелия. Актиномицеты, имеющие продолжительные мицелиальные стадии, различаются по типу спорообразования.

Спорообразование

По числу спор актиномицеты делят на моно- (например, *Saccaromonospora*, *Micromonospora*), олиго- (*Actinomadura*) и полиспоровые (*Streptomyces*), выделяя особо те, которые образуют спорангии. Спорообразование преимущественно экзогенное (*Thermoactinomyces* образует настоящие эндоспоры, однако в настоящее время этот род на основании хемотаксономических и генетических признаков, несмотря на выраженную мицелиальную стадию, склонны относить к бациллам), реже псевдоэндогенное (*Planomonospora*, *Dactylosporangium*).

У *Streptomyces* и спорулирующих *Actinomyces* споры образуются в два этапа:

Апикальный участок воздушной гифы отделяется септой, нуклеоид вытягивается.

Почти одновременно клетка делится септами на участки, нуклеоид делится в тех же местах, клеточная стенка становится в 2 раза толще, споры округляются и их стенка становится в 7 раз толще стенки гифы.

У олиоспоровых септы закладываются базипитально. У монспоровых могут образовываться по механизму почкования.

Проращение споры

Проращение происходит в следующие стадии:

Инактивная спора гидрофобна, термоустойчива, не проявляет дыхательной активности.

Смачивающаяся активированная спора проявляет активность ферментов, начинается дыхание

Спора набухает, начинается синтез РНК.

Выход 1—3 (реже 4) ростовых трубок, начинается синтез ДНК. Эта стадия необратима, остальные три — обратимы.

Образуют друзды — скопление переплетенных нитей с колбовидными утолщениями на концах.

Подвижность

Могут быть подвижны на стадии споры (актинопланы, *Geodermatophilus* и *Dermatophilus*), иногда подвижны части мицелия (эрсковия).

Экологические функции

Актиномицеты (особенно рода *Micromonospora*) обнаруживаются в водоёмах и их донных осадках, однако не решен вопрос о том являются ли они постоянными их обитателями или занесены из почвы, неизвестна также их роль в данных местообитаниях.

Почвы являются тем природным субстратом, откуда актиномицеты выделяются в наибольшем разнообразии. Однако большая часть биомассы актиномицетов представлена спорами, которые и дают колонии при учёте популяций в почве методом посева, лишь 1—4 % биомассы занимает мицелий. Он обнаруживается в микроразонах с повышенным содержанием органического вещества.

Актиномицеты доминируют на поздних стадиях микробной сукцессии, когда создаются условия для использования труднодоступных субстратов. Активация актиномицетной микрофлоры происходит при внесении в почву крахмала, хитина, нефтепродуктов и т. д. В то же время из-за медленного роста актиномицеты не способны конкурировать с немикелиальными бактериями за легкодоступные вещества. Возможно, что вторичные метаболиты (в особенности, меланоидные пигменты) играют какую-то роль в образовании гумуса.

Ценозообразующую роль актиномицеты играют в местах первичного почвообразования, находясь в этих условиях в ассоциации с водорослью. Эти ассоциации в лабораторных условиях формировали лишайникоподобный таллом (актинолишайник).

Актиномицеты

рода *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura* являются постоянными обитателями кишечника дождевых червей, термитов и многих других беспозвоночных. Разрушая целлюлозу и другие биополимеры, они являются их симбионтами. Представители рода *Frankia* способны к азотфиксации и образованию клубеньков у небобовых растений (облепиха, ольха и др.). Есть патогенные формы, вызывающие актиномикоз. В организме человека обитают в ротовой полости, в кишечнике, в дыхательных путях, на коже, в зубном налете, в кариозных зубах, на миндалинах.

Отношение к факторам внешней среды

Большинство актиномицетов—аэробы, факультативные анаэробы присутствуют лишь среди актиномицетов с непродолжительной мицелиальной стадией. Здесь усматривается некоторая параллель с грибами, среди которых лишь немикелиальные дрожжи также способны жить в анаэробных условиях. Предполагается что менее эффективный анаэробный тип метаболизма успешен при большей относительной поверхности клеток, которая достигается фрагментацией мицелия.

Считается, что актиномицеты устойчивее к высушиванию чем немикелиальные бактерии, благодаря чему они доминируют в пустынных почвах. Лабораторное хранение почвенных образцов в условиях, не способствующих вегетативному росту прокариот увеличивает относительное содержание актиномицетов, учитываемое методом посева. Особенно долго способны сохраняться при высушивании склеротии, образуемые родом *Chainia*. Показано что при $a_w=0,50$ некоторые споры прорастают (*Streptomyces*, *Micromonospora*), однако образовавшийся мицелий не ветвится. При $a_w=0,86$ прорастают споры практически всех актиномицетов, у некоторых мицелий ветвится, образуются микроколонии, оптимум достигается при $a_w=0,95$.

Чаще всего актиномицеты нейтрофилы, однако некоторые роды ацидофильны или алкалофильны. Характерным свойством актиномицетов является ацидотолерантность, благодаря чему их доля в микробном комплексе лесных почв относительно высока. Отмечено что на кислой среде продлевается вегетативная стадия, на щелочной, напротив, ускоряется спорообразование.

Актиномицеты не требовательны к содержанию органического углерода в среде, многие из них способны расти на «голод-

ном» агар-агаре. Представители рода *Nocardia* способны осуществлять хемосинтез, окисляя водород, метан и метанол. Широко среди актиномицетов распространена гетеротрофная фиксация CO_2 .

Биохимические особенности

Для актиномицетов отмечается наличие редких метаболических путей и ферментных систем. Например, для них характерен путь расщепления глюкозы Энтнера-Дудорова, встречается полифосфатгексокиназа (вместо обычной гексокиназы), существуют особенности в синтезе ряда аминокислот; во вторичном метаболизме им свойственен шикиматный путь синтеза ароматических соединений, включение цельных углеродных скелетов глюкозы во вторичные метаболиты, например, антибиотики.

Отличительной особенностью актиномицетов является способность к синтезу физиологически-активных веществ, антибиотиков, пигментов, пахучих соединений. Именно ими формируется специфический запах почвы и иногда воды (вещества геосмин, аргосмин, муцидон, 2-метил-изоборнеол). Актиномицеты являются активными продуцентами антибиотиков, образуя до половины известных науке.

История изучения

В 1874 Ф. Кон в пробе из слезного канала человека впервые обнаружил нитчатую бактерию, названную в честь врача, взявшего пробу *Streptothrix foersteri*. Поскольку родовое название *Streptothrix* уже было занято грибом, позднее бактерия была переименована в *Streptomyces foersteri*. В 1877 патолог Боллингер и ботаник Гарц исследовали опухоли (актиномикозные узлы) коров и обнаружили их возбудителя, которого из-за лучистого расположения нитей назвали лучистым грибом (*Actinomyces*). Это название вскоре стало собирательным для нескольких близких родов. В 1884 немецкий врач Джеймс Израиль получил первую чистую культуру актиномицета (*Actinomyces israelii*). В дальнейшем было обнаружено множество патогенных форм (1888 — из ноги больного мадуровой болезнью человека Нокардом был выделен первый представитель рода *Nocardia*), в 1890—1892 Госпирини составил список родов актиномицетов.

В 1912—1916 стали появляться первые описания непатогенных актиномицетов, выделенных из обычных природных суб-

стратов. В этот период свой вклад в развитие актиномицетологии внесли С. А. Ваксман, Краинский, Рудольф Лиске.

Новый этап развития науки начался в 1939, когда Красильников получил в нативном виде антибиотик мицетин, выделяемый стрептомицетами. В 1945 Ваксман, Шатц и Буги выделили стрептомицин. На актиномицеты оказалось обращено большое внимание, однако в основном развивались прикладные аспекты актиномицетологии, связанные с получением и применением антибиотиков. Тем не менее в этот период также были получены сведения об экологии, биохимии, строении, циклах развития, которые в свою очередь позволили разработать принципы классификации актиномицетов.

С 1980—1990-х внимание переключилось на изучение экологических функций актиномицетов, их взаимоотношения в естественных условиях с животными, растениями и микроорганизмами. Происходит пересмотр систематики, связанный с получением данных о геноме актиномицетов.

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Развитие микроорганизма в природе определяется его биологическими особенностями, энергетическим обменом, кинетикой роста, регуляцией, способностями к адаптации, стратегией, границами устойчивости к факторам внешней среды и т.д.

Экология - наука изучающая поведение организмов в их естественных местообитаниях, взаимоотношения их между собой и с окружающей средой.

Физико-химические факторы характеризующие условия среды обитания организмов, весьма разнообразны. К ним относятся магнитные и электрические поля, солнечную активность, разные виды излучения, гидростатическое давление, температура, кислотность (pH) среды, концентрация кислорода, питательных веществ, токсичных соединений и др.

Для прокариот как группы в целом характерна способность существовать в гораздо большем диапазоне условий внешней среды, чем для эукариотных организмов. Среди прокариот есть организмы, которые могут расти в подводных вулканических источниках (температура до 300 °C), кислой (pH 1 и ниже) и щелочной (pH 11 и выше) среде, при давлении 1000 атм, высоких концентрациях тяжелых металлов, концентрации соли до 30 %, высоких уровнях радиации. Обязательным условием для этого является наличие водной среды.

В большинстве случаев отношение микроорганизмов к тому или иному фактору характеризуют графиком зависимости роста (число клеток или скорость размножения) от интенсивности фактора.

При этом определяют, так называемые, *кардинальные точки*: оптимальное значение (или область значений), обеспечивающее наилучший рост, а также минимальное и максимальное значения, при которых рост прекращается. Диапазон между минимальным и максимальным значениями составляет *область толерантности*. В этой области организм активен, но имеет более низкую конкурентноспособность и может быть вытеснен другими видами. Помимо области толерантности, характеризуемой активной жизнедеятельностью бактерий, существуют пределы, в которых организм может сохранять жизнеспособность, но активно не развивается.

Область толератности организма к тому или иному фактору может быть узкой или широкой и соответственно говорят о *стено- и эврибиотных* организмах (например стено- и эвритермных по отношению к температуре).

Часто употребляют и другую пару эпитетов: «-фильные» и «-толерантные».

Факторы внешней среды, влияющие на жизнеспособность микроорганизмов, подразделяют на *химические* и *физические*. Они действуют на микроорганизмы по-разному. С одной стороны, оказывают стимулирующее действие, например, при использовании определенных химических веществ, необходимых микроорганизмам для поддержания их жизнедеятельности; поддержании оптимальной температуры, обеспечивающей наиболее высокую скорость роста клеток, и т. п.

С другой стороны, действие химических и физических факторов может вызывать торможение метаболизма либо приводить клетки микроорганизмов к гибели. В зависимости от этого все физические и химические факторы подразделяют на *микростатические* и *микробоцидные*.

Факторы внешней среды, полностью или частично угнетающие рост и задерживающие развитие микроорганизмов, относят к микростатическим. Микробоцидные факторы вызывают гибель микроорганизмов. В зависимости от концентрации или дозы действующего агента, продолжительности контакта и вида микроорганизма один и тот же фактор может оказывать как микростатическое, так и микробоцидное действие.

Отношение к температуре

Температурные условия в биосфере достаточно разнообразны. Свыше 80 % ее принадлежит к постоянно холодным областям. Значительная часть поверхности суши, включающая и континент Антарктиду, имеет низкую температуру. Средняя температура почвы в умеренной климатической зоне составляет 12 °С. Примерно 75 % поверхности Земли приходится на долю Мирового океана, и около 90 % его объема имеет температуру ниже 5 °С. Таков общий температурный профиль Земли.

Но на Земле есть много мест, резко различающихся по температурному режиму. Это области, где температура постоянно низкая (подземные и обледенелые пещеры, глубинные слои океанов) или

высокая (действующие вулканы, выходы на поверхность земли струй паров и газов из расщелин или отверстий, кипящие или некипящие горячие источники, отходы различных технологических процессов).

Есть также много областей с меняющимся температурным режимом: поверхностные слои морей и океанов, мелкие пресные водоемы и реки, верхние слои атмосферы, большинство мест на суше в зонах с умеренным и холодным климатом. Во многих областях с умеренным климатом температура колеблется от 0 °С и ниже до 30 °С и выше.

Прокариоты не имеют физиологического механизма, регулирующего температуру клетки, и, следовательно, их жизнедеятельность непосредственно зависит от температуры окружающей среды.

Все физико-химические процессы, обеспечивающие функциональную активность клетки, а также состояние ее макромолекул, в большей или меньшей степени зависят от температуры. При высокой температуре белки, нуклеиновые кислоты и другие компоненты клетки могут необратимо инактивироваться, что приводит к ее гибели. При слишком низкой температуре также нарушаются процессы биосинтеза, ограничивая развитие микроорганизмов.

Для бактерий, как и для любых других организмов, существует свой температурный диапазон.

По отношению к температуре бактерии делят на три основные группы: мезофилы, психрофилы и термофилы, которые в свою очередь подразделяют на отдельные подгруппы.

При определении влияния температуры на прокариотные организмы следует различать два момента: *способность организмов к выживанию после длительного нахождения в экстремальных температурных условиях* и *способность их к росту в этих условиях*.

Приспособления, сформированные у прокариот для перенесения неблагоприятных условий, в том числе и температурных, — это споры, цисты. Устойчивость вегетативных клеток и различных покоящихся форм больше в условиях воздействия низкими температурами. Так, вегетативные клетки и покоящиеся формы сохраняли жизнеспособность после длительного выдерживания при температуре, близкой к абсолютному нулю. Последнее используется в качестве одного из способов, обеспечивающих длительное хранение культур прокариот.

Психрофилы (от греч. psychros — холод, phileo — люблю) представлены бактериями, развивающимися при низких температурах от —5 до 20—35° С. Среди них выделяют подгруппу

облигатных психрофилов, неспособных расти при температуре выше 20 °С. Это бактерии, постоянно обитающие в условиях низких температур — в воде глубоких озер, северных морей и океанов.

факультативные психрофилы — бактерии, приспособившиеся к действию переменных температур от —5 °С до 20—35 °С. Они населяют зону умеренного климата с резкими температурными колебаниями зимы и лета.

Механизм действия низкой температуры на микробную клетку заключается в затормаживании в ней процессов метаболизма, прекращении роста и размножения и переходе микроба в состояние анабиоза.

Облигатные психрофилы обитают в холодных почвах, морях Арктики и Антарктики, на вечных снегах высокогорных районов, их находят в пробах из горных ледников, в воде колодцев и родников. Эти бактерии играют существенную роль в круговороте веществ в регионах с постоянно низкими температурами. В качестве представителей облигатных психрофилов можно привести бактерии *Bacillus psychrophilus*, морские светящиеся бактерии, железобактерии (например, рода *Gallionella*) и др.

Факультативные психрофилы распространены значительно шире и встречаются в почвах и водах не только холодной, но и умеренной зоны. Многие из них вызывают порчу пищевых продуктов при низких температурах. Они способны расти в условиях, благоприятных для мезофильных организмов. К этой группе относятся некоторые виды бактерий родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter* и др.

К **мезофилам** (от греч. mesas — средний) относится подавляющая масса прокариот, для которых температурный диапазон лежит в пределах 10—47° С, при оптимальных температурах 30—40° С. В эту группу входят многие патогенные бактерии, вызывающие заболевания теплокровных животных и человека; имеющие температурный оптимум около 37° С.

К **термофильным** относят микроорганизмы, которые растут при температуре выше 45—50 °С. Группу термофилов делят на четыре подгруппы:

1) **термотолерантные** — растут при температурах от 10 до 55—60 °С, оптимальная область находится в пределах 35—400С (как у

мезофилов). Основное их отличие от мезофилов — способность расти при повышенных температурах. Примером термотолерантных бактерий являются бактерии вида *Methylococcus capsulatus*;

2) **факультативные термофилы** имеют температурный максимум 50—650С и минимум менее 200С, оптимум приходится на область температур, близких к верхней границе роста. Примером факультативных термофилов являются гомоферментативные молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus*. Они обитают на поверхности многих растений, откуда попадают в различные продукты — их легко обнаружить в молочных продуктах, соленьях, маринадах, вине, фруктовых соках. Лактобациллы постоянно присутствуют в полости рта, кишечном тракте многих теплокровных животных и человека;

3) **облигатные термофилы** способны расти при температурах до 700С и не растут при температуре ниже 400С. Оптимальная температурная область облигатных термофилов примыкает к их верхней температурной границе роста (65—700С). Представители облигатных термофилов — бактерии вида *Bacillus stearothermophilus* и др.;

4) **экстремальные термофилы** имеют следующие температурные параметры: оптимум в области 70—750С, минимальная граница роста +40 0С и выше, максимальная — около 900С. Эти микроорганизмы распространены в горячих источниках, особенно в районах активной вулканической деятельности. Представители — бактерии родов *Thermus*, *Thermomicrobium*, *Thermoplasma* и др.

Отношение к кислороду

По отношению к молекулярному кислороду прокариоты подразделяются на несколько физиологических групп.

1. Большинство прокариот для жизнедеятельности нуждаются в О₂ и носят название **облигатных (строгих) аэробов**. В клетках облигатных аэробов большая часть молекулярного кислорода расходуется в процессе дыхания.

Многие облигатные аэробы способны выдерживать концентрацию О₂ порядка 40—50%. Однако среди этой группы имеются бактерии, для которых молекулярный кислород необходим в незначительных количествах — не более 2%. Такие микроорганизмы получили название **микроаэрофилов**. Многие виды маслянокислых бактерий проявляют устойчивость к молекулярному кислороду и

носят название **азеротолерантных**. Примером аэротолерантов являются бактерии рода *Clostridium*.

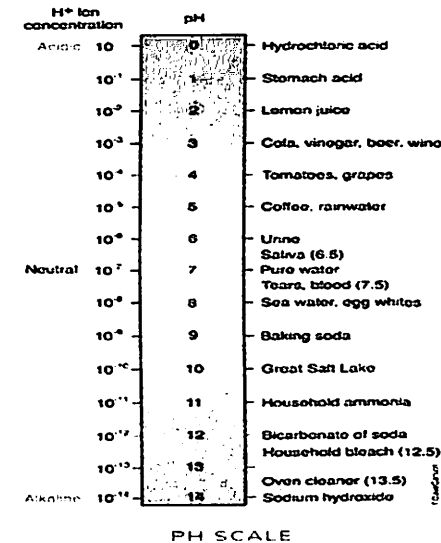
Вторую, менее обширную группу прокариот составляют микроорганизмы, для жизнедеятельности которых молекулярный кислород не нужен. Такие микроорганизмы получили название **облигатных анаэробов**. К ним относятся маслянокислые, метанобразующие, сульфатовосстанавливающие и некоторые другие бактерии. В клетках облигатных анаэробов окисление веществ субстрата происходит без участия O_2 . Среди бактерий этой группы имеются микроорганизмы, неспособные выносить даже незначительное количество молекулярного кислорода в среде.

3. Среди обширного мира прокариот известны микроорганизмы, способные расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях и переключать свой энергетический метаболизм с одного способа получения энергии на другой. Такие микроорганизмы получили название **факультативных аэробов** или **факультативных анаэробов**.

Отношение к кислотности среды

Давно известно, что кислотность среды (концентрация водородных ионов, pH) является важным фактором, определяющим возможность существования прокариот. Концентрация ионов водорода в окружающей среде действует на организм **прямо** (непосредственное воздействие H^+) или **косвенно** (через влияние на ионное состояние и доступность многих неорганических ионов и метаболитов, стабильность макромолекул, равновесие электрических зарядов на поверхности клетки).

pH влияет на состояние веществ в окружающей среде. Органические кислоты в кислой среде находятся в недиссоциированной форме, в которой легко проникают в клетку, становясь токсичными для нее. Концентрация ионов водорода во внешней среде влияет и на равновесие электрических зарядов на поверхности клетки: при низких значениях pH увеличивается суммарный отрицательный заряд, при высоких — суммарный отрицательный заряд. Кроме того, в кислой среде разрушаются ДНК и АТФ, а в щелочной — РНК и фосфолипиды.



В зависимости от отношения к кислотности среды прокариоты могут быть разделены на несколько групп. Оптимальный pH для роста подавляющего большинства прокариот, называемых **нейтрофилами**, — область, близкая к нейтральной, а рост возможен, как правило, в диапазоне от 4 до 9, считающемся нормальным.

В зависимости от отношения к кислотности среды бактерии могут быть разделены на несколько групп:

1) **нейтрофилы** — оптимальное значение pH для роста составляет 6–8, а рост возможен, как правило, в диапазоне от 4 до 9. К этой группе относится большинство известных микроорганизмов. Типичными нейтрофилами являются штаммы бактерий *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis* и др.;

2) **ацидофилы** — оптимальная кислотность среды для роста ниже 4 единиц pH. Среди них различают **факультативные** (интервал pH 1–9, оптимум 2–4) и **облигатные** ацидофилы (интервал pH 1–5, оптимум 2–4). В природе экстремально кислые условия встречаются в некоторых озерах, болотах, горячих источниках. Типичными представителями облигатных ацидофилов служат бактерии родов *Thiobacillus*, *Sulfolobus*, *Acetobacter* и др.;

3) **алкалофилы** — оптимальные условия для развития находятся в пределах значений pH 9,0–10,5, которые встречаются в щелочных

почвах, в местах скопления экскрементов животных. Среди алкалофилов различают *факультативных* алкалофилы (интервал pH для роста 5–11, оптимум pH 9,0–10,5), к которым относятся нитратвосстанавливающие и сульфатвосстанавливающие бактерии, многие аммонификаторы. *Облигатные* алкалофилы растут при высоких значениях pH – 8,5–11,0, при оптимуме 9,0–10,5. К таким бактериям относятся *Bacillus pasteurii*, некоторые цианобактерии и др.

Однако следует отметить, что хотя микроорганизмы и могут осуществлять процессы жизнедеятельности в условиях различной кислотности или щелочности среды, реакция внутри их клеток поддерживается всегда близкой к *нейтральной*. Это достигается благодаря наличию в цитоплазме буферных систем и низкой полупроницаемости мембраны для ионов водорода.

Способность к росту при низких или высоких значениях pH обеспечивает микроорганизму определенные преимущества, так как в этих условиях мала конкуренция со стороны большинства других организмов.

Лучистая энергия (Свет)

Важнейшим источником естественного излучения является солнечная радиация. Основная масса падающей на Землю солнечной энергии (примерно 75 %) приходится на долю видимых лучей, почти 20% — на ИК-область спектра и только приблизительно 5 % — на УФс длиной волны 300–380 нм.

Эффект воздействия зависит от дозы облучения и длины волны. Наиболее длинноволновая радиация (*радиоволны* — длина волны более 1100 нм) не вызывает биологического эффекта.

Инфракрасные лучи (700–1100 нм и более) оказывают тепловое воздействие на микроорганизмы и используются зелеными и пурпурными бактериями в процессе фотосинтеза.

Видимая часть спектра (300–700 нм) используется цианобактериями и другими фототрофными бактериями в процессе фотосинтеза.

УФ-лучи (10–300 нм) могут оказывать на микроорганизмы как микробицидное, так и мутагенное действие, что определяется видом микроорганизмов и дозой облучения. Наибольший летальный эффект УФ-лучей наблюдается при длине волны 260 нм, при которой отмечается максимум поглощения УФ-лучей молекулами ДНК. Летальное действие УФ-лучей объясняется в первую очередь изменениями структуры ДНК: разрывом водородных связей, расщеплени-

ем связей между дезоксирибозой и фосфатом, а также образованием сшивок между тиминовыми азотистыми основаниями (димеров тимина), которые обуславливают нарушение процессов репликации и транскрипции.

Ионизирующая радиация, под которой обычно подразумевают *рентгеновское* и *гамма-излучение* (с длиной волны менее 10 нм), вызывает летальный для клетки эффект. В отличие от УФ-лучей, она действует на биополимеры не прямо, а опосредованно, вызывая образование свободных радикалов и органических перекисей, которые реагируют с нуклеиновыми кислотами и белками, вызывая одно- и двунитевые разрывы цепей ДНК, изменения азотистых оснований

Влажность

Большинство бактерий при влажности среды свыше 20% развиваются нормально.

Высушивание бактерий приводит к обезвоживанию цитоплазмы клетки, почти полному прекращению процессов метаболизма и в конечном итоге к переходу микробной клетки в состояние анабиоза.

Однако и в условиях глубокого иссушения бактерии сохраняют жизнеспособность. Достаточно сказать, что микобактерии туберкулеза сохраняют жизнеспособность в высохшей мокроте больного более 10 месяцев, споры бацилл сибирской язвы в сухом состоянии выживают до 10 лет.

Отношение к осмотическому давлению

Концентрация веществ, растворенных в окружающей среде, т. е. *осмотическое давление*, также оказывает большое влияние на жизнеспособность микроорганизмов: чем концентрированнее раствор, тем труднее клетке поглощать из него воду. В гипертонических растворах, т. е. таких, в которых осмотическое давление больше, чем в клетке, происходит обезвоживание клеток (плазмолиз) и полное прекращение роста. Это явление называется физиологической сухостью. Однако некоторые микроорганизмы способны нормально развиваться в достаточно концентрированных растворах. Такие микроорганизмы называют *осмофильными*.

Осмофильные микроорганизмы, для которых требуется высокое содержание NaCl, получили название *галофильных*. К экстремальным галофилам относятся бактерии из родов *Halobacterium* и *Halococcus*, живущие в растворах NaCl при концентрациях, близких к насыщающим.

ПИТАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Питание микроорганизмов.

Микроорганизмы, как и все другие живые организмы нуждаются в пище. Последняя поступает в их клетке из внешней среды.

Пищей обычно называют вещества, которые попав в живой организм, служат либо материалом для построения составных частей клетки, либо источником энергии для процессов жизнедеятельности.

Свою потребность в питательных веществах живые организмы могут удовлетворять или непосредственно усваивая их, или предварительно изменяя и делая их доступными для использования. Известны два способа питания живых существ — *голозойный* и *голофитный*.

При *голозойном* способе питания живой организм захватывает или заглатывает плотные частицы пищи, которая затем переваривается в пищеварительном тракте. Этот способ питания характерен для животных (от высших до простейших).

При *голофитном* способе питания живые существа, не имеющие специальных органов для заглатывания и пищеварения, используют питательные вещества, всасывая их в виде относительно небольших молекул из водного раствора. Этот способ характерен для растений и микроорганизмов.

Большинство органических соединений представляют собой полимеры (например, полисахариды, белки). Они не могут быть поглощены и использованы непосредственно в обмене веществ клетки.

Такие вещества вначале должны быть расщеплены на простые соединения, для которых клеточная мембрана проницаема.

Крупные молекулы расщепляются **экзоферментами**, которые экскрегируются клетками микроорганизмов в среду. Это так называемое **внешнее** или **внеклеточное** переваривание, характерное только для микроорганизмов.

Механизм поступления питательных веществ в клетку прокариот.

Поступление воды и растворенных в ней питательных веществ из окружающей среды внутрь микробной клетки, а также выход продуктов обмена происходит через клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану и капсулу.

Капсула и слизистые слои представляют собой достаточно рыхлые образования и они не оказывают значительного влияния на транспорт веществ.

Клеточная стенка может служить барьером для поступления питательных веществ в клетку. Она задерживает некоторые крупномолекулярные соединения питательного субстрата, например такие, как декстраны.

Активная роль в процессе поступления в клетку питательных веществ принадлежит цитоплазматической мембране. Ею регулируется избирательное поступление веществ питательного субстрата в клетку прокариот. Цитоплазматическая мембрана клетки несет ответственность за поступление воды и веществ питательного субстрата в клетку и определяет выход продуктов обмена наружу.

Структура мембран. Мембранные липиды всех эубактерий и части архебактерий образуют биослой, в которых гидрофильные «головы» молекул обращены наружу, а гидрофобные «хвосты» погружены в толщу мембраны

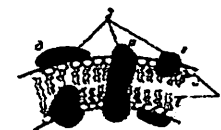


Рис. 15. Модель строения элементарной биологической мембраны:

а — молекулы липидов; б — гидрофильная «голова»; в — гидрофобный «хвост»; г — молекулы белков; д — холестерин; е — периферический белок; ж — поверхностная

Функции ЦПМ прокариот. ЦПМ прокариот выполняет разнообразные функции, в основном обеспечиваемые локализованными в ней соответствующими ферментными белками. Первоначально была постулирована барьерная функция клеточной мембраны, получившая позднее экспериментальное подтверждение. С помощью специальных переносчиков, называемых транслоказами, через мембрану осуществляется избирательный перенос различных органических и неорганических молекул и ионов. В ней локализованы ферменты, катализирующие конечные этапы синтеза мембранных липидов, компонентов клеточной стенки и некоторых других веществ.

Механизмы переноса веществ субстрата.

В настоящее время изучено несколько механизмов переноса веществ субстрата через цитоплазматическую мембрану в клетку прокариот.

• **Пассивная диффузия** — процесс поступления воды и некоторых растворенных веществ через цитоплазматическую мембрану в цитоплазму клетки по градиенту концентрации, от большей кон-

центрации к меньшей для неэлектролитов или по градиенту электрических потенциалов для ионов. Скорость пассивной диффузии невелика, и проходит она без затраты энергии.

• *Облегченная диффузия* отличается от пассивной тем, что перенос веществ субстрата через цитоплазматическую мембрану осуществляется белками-переносчиками, получившими название *пермеаз* (гранслоказ). Пермеаза катализирует присоединение вещества субстрата к активному центру на своей поверхности и проводит это вещество с наружной поверхности цитоплазматической мембраны на внутреннюю. Там пермеаза освобождается от этого вещества, передавая его в цитоплазму, а сама вновь вступает во взаимодействие с новой порцией субстрата.

Пермеазные белки синтезируются и локализуются на цитоплазматической мембране.

• *Активный транспорт* заключается в переносе веществ субстрата пермеазными белками через цитоплазматическую мембрану в цитоплазму против градиента концентрации. Процесс активного транспорта веществ всегда осуществляется с затратой энергии. Учитывая, что на перенос одной молекулы субстрата через цитоплазматическую мембрану клетка расходует одну молекулу АТФ, можно предполагать, что растущий и быстро размножающийся микроорганизм затрачивает значительную часть вырабатываемой энергии на транспорт веществ.

Необходимым условием поступления веществ субстрата в клетку бактерий является их растворимость в воде.

Вещества питательного субстрата, поступающие в клетку, являются источником энергетического метаболизма и одновременно строительным материалом для синтеза клеточных структур.

Выход продуктов обмена из клетки осуществляется чаще всего путем облегченной диффузии при участии белков-переносчиков.

Пищевые потребности микроорганизмов.

Основную часть микробной клетки составляет вода (80-90% общей массы клетки). В состав клеток м/о входят следующие элементы (в % от массы сухого вещества): углерод – 50, кислород – 20, азот – 14, водород – 8, фосфор – 3, сера – 1, калий – 1, натрий – 1, кальций – 0,5, магний – 0,5, хлор – 0,5, железо – 0,2, другие элементы – 0,3%.

Некоторые элементы: углерод, кислород и азот – находятся в клетках в больших количествах. Значительно беднее представлены сера и фосфор. Еще меньше содержится калия, натрия, кальция, магния, железа и хлора. В виде следов в состав клетки входят микроэлементы (цинк, медь, кобальт, стронций, марганец и др.).

Требования, предъявляемые различными микроорганизмами в отношении состава питательной среды и прочих условий, весьма разнообразны. В связи с этим было предложено очень много рекомендаций по составлению питательных сред для различных микроорганизмов. В принципе питательные среды должны отвечать следующим минимальным требованиям: в них должны присутствовать все элементы, из которых строится клетка, в такой форме, в которой микроорганизмы способны их усваивать.

Большинство элементов вносят в питательную среду в виде солей.

Источники углерода и энергии. Организмы, получающие энергию с помощью фотосинтеза или путем окисления неорганических соединений, способны в большинстве своем использовать CO_2 в качестве главного источника углерода. Эти С-автотрофные организмы восстанавливают CO_2 . Все остальные организмы получают клеточный углерод главным образом из органических веществ. Последние, как правило, служат источниками как энергии, так и углерода; частично они ассимилируются для построения клеток, частично окисляются для получения энергии. Из природных органических соединений на Земле количественно преобладают полисахариды – целлюлоза и крахмал. Структурные элементы этих полимерных соединений – молекулы глюкозы – могут использоваться очень многими микроорганизмами. Микроорганизмы, однако, способны использовать и все другие органические соединения, образующиеся естественным путем.

По источнику углерода для конструктивного обмена все прокариоты делятся на две группы: *автотрофы*, потребляющие в качестве главного источника углерода углекислый газ, и *гетеротрофы*, усваивающие углерод из органических соединений.

Автотрофы делятся на фототрофов, хемотрофов.

• Фототрофы синтезируют органическое вещество из CO_2 и H_2O с помощью энергии солнца. Фотосинтез идет обычным путем.

Для большинства гетеротрофов оптимальным и наиболее доступным источником углерода служат углеводы. Так, азотификси-

рующих бактерии окисляют NH_3 до HNO_3 , а затем до HNO_2 . Помимо углеводов, хорошим источником углерода для многих бактерий являются многоатомные спирты и аминокислоты. Некоторые виды прокариот способны усваивать углерод из органических кислот.

Для синтеза аминокислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов бактериям необходим азот. В природе азот встречается в форме окисленных и восстановленных соединений, а также в виде молекулярного азота атмосферы. Большинство прокариот потребляют азот в восстановленной форме в виде солей аммония (NH_4^+) и аммиака (NH_3). Многие бактерии используют органические азотсодержащие вещества — белки, аминокислоты, мочевины, разрушая их с выделением аммиака. Окисленные формы азота — нитриты, нитраты — также усваиваются различными группами бактерий. Среди прокариот известно большое число организмов — бактерий, актиномицетов, сине-зеленых водорослей, способных фиксировать молекулярный азот атмосферы для построения всех необходимых компонентов клетки.

Фосфор в клетках прокариот входит в состав важнейших органических соединений — нуклеиновых кислот, фосфолипидов,

коферментов. Такие соединения фосфора, как АДФ и АТФ, являются аккумуляторами энергии клетки и играют важную роль в метаболизме. Источником фосфора для бактерий в основном служат фосфаты калия или натрия, а из органических соединений нуклеиновые кислоты.

Сера в клетке прокариот в основном встречается в восстановленной форме и входит в состав аминокислот, витаминов и кофакторов (биотин, кофермент А и др.). Наиболее важным компонентом, содержащим серу, является цистеин. Атомы серы в большинстве других содержащих серу соединений клетки (метионин, биотин, тиамин) происходят из SH-группы цистеина. Источником серы для большинства микроорганизмов служат сульфаты, которые в клетке восстанавливаются в сульфиды. Некоторые бактерии нуждаются в соединениях, содержащих серу в восстановленной форме, таких, как сероводород, тиосульфат, цистеин и метионин.

Для нормального роста и развития прокариот необходимы **ионы металлов**, представленные макроэлементами, такими, как калий, кальций, магний, железо, и микроэлементами. К последним относятся марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель и др. Ио-

ны металлов входят в состав жизненно важных метаболитов бактериальной клетки.

Факторами роста называются органические соединения, которые не синтезируются многими прокариотными организмами, но без которых жизнь клетки оказывается невозможна. К таким соединениям относятся аминокислоты, пурины, пиримидины, витамины и др. Эти соединения прокариоты должны получать из среды.

Бактерии, нуждающиеся в каком-либо факторе роста, называются *ауксотрофными* по отношению к этому соединению, в отличие от *прототрофных*, способных синтезировать данное вещество в клетке.

Типы питания прокариот.

В отличие от растительных и животных организмов, имеющих один вполне определенный тип питания — соответственно автотрофный и гетеротрофный, прокариоты характеризуются многообразием типов питания. Поэтому для характеристики типов питания прокариотных организмов используются одновременно **три критерия; источник углерода, источник энергии и донор электронов (водорода).**

- Как указывалось выше, по источнику углерода прокариоты являются **автотрофами**, если они получают углерод в результате фиксации углекислого газа, и **гетеротрофами**, если источником углерода для них служат органические соединения.

- По источнику энергии прокариоты, использующие солнечный свет, называются **фототрофами**, а получающие энергию за счет окислительно-восстановительных реакций — **хемотрофами**.

- И наконец, по донору электронов прокариоты подразделяются на **литотрофы**, обладающие способностью использовать неорганические доноры электронов (H_2 , NH_3 , H_2S , S , CO , Fe^{2+} и др.), и **органоотрофы**, использующие в качестве доноров электронов органические соединения.

- По трем вышеуказанным критериям выделяют 4 основных типа питания прокариот: **фотолитоавтотрофы, фотоорганавтотрофы, хемолитоавтотрофы и хемоорганогетеротрофы** (см. табл.).

Тип питания	Источник углерода	Источник энергии	Донор электронов	Представители прокариот
Фотосинтез автотрофы	CO ₂	Свет	H ₂ O, Неорганические соединения (H ₂ S, S, Na, S, H ₂)	Цианобактерии. Зеленые, серные пурпурные бактерии
Фотоорганоавтотрофы	CO ₂ и органические соединения	Свет	Органические соединения (спирты, органические кислоты и др.)	Некоторые пурпурные бактерии
Хемосинтез автотрофы	CO ₂	Реакции окисления неорганических веществ	Неорганические соединения (H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , Fe ²⁺ и др.)	Нитрифицирующие, серобактерии, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии
Хемоорганогетеротрофы	Органические соединения	Реакции окисления органических веществ	Органические соединения	Большинство бактерий (аммонификаторы, азотфиксаторы, пектиноразрушающие, клетчаткоразрушающие, молочнокислые, уксуснокислые, маслянокислые и др.)

Источники энергии. В зависимости от механизма преобразования энергии в доступную для клетки биохимическую форму (АТФ) различают два главных типа метаболизма - фототрофный и хемотрофный. Организмы, способные использовать в качестве источника энергии для роста электромагнитное излучение (свет), называют **фототрофными** (фотосинтезирующими). К фототрофным организмам относятся представители двух больших групп: анаэробные фототрофные бактерии, не выделяющие молекулярного кислорода, и аэробные фототрофные цианобактерии, водоросли и зеленые растения, которые на свету выделяют кислород. В отличие от этого **хемотрофными** (хемосинтезирующими) называют организ-

мы, получающие энергию в результате окислительно-восстановительных реакций с участием субстратов, которые служат для них источником питания. Безразлично, связано ли превращение энергии в биохимическую форму с процессами окисления (дыхания) или с брожением.

Доноры водорода и источники углерода. Все организмы, использующие в качестве доноров водорода органические соединения, называют **органотрофными**. Их противопоставляют **литотрофным** организмам, способным использовать неорганические доноры электронов (H₂, NH₃, H₂S, S, CO, Fe²⁺ и др.). Понятия же «автотрофные» и «гетеротрофные» употребляют в микробиологии в более узком смысле - они касаются только происхождения клеточного углерода: «автотрофными» называют те микроорганизмы, которые могут получать весь или почти весь углерод путем фиксации CO₂, а «гетеротрофными» - те, которые получают его в основном из органических соединений.

Обычно ограничиваются тем, что указывают лишь основной способ получения энергии и природу донора водорода. Зеленые растения, цианобактерии и пурпурные серобактерии относят, таким образом, к фотолитотрофам, нитрифицирующие бактерии - к хемолитотрофам, животных и основную массу микроорганизмов - к хемоорганотрофам. В особых случаях при выборе термина можно учитывать и происхождение клеточного углерода.

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Понятие о генетике

Вся информация о признаках, присущих организму, сосредоточена в его *генетическом аппарате*.

Он обеспечивает *сохранение и воспроизведение* этих признаков в процессе размножения организма, так как возникающие *дочерние особи* обнаруживают в большинстве случаев полное *сходство с родительскими формами*. Это говорит о том, что генетический аппарат обладает высокой стабильностью и точностью механизмов, обеспечивающих его функционирование.

Однако стабильность генетического аппарата не абсолютна, так как это исключало бы всякую возможность его изменений и, следовательно, *эволюционных преобразований*, приведших в конечном итоге к возникновению разнообразных форм жизни, свидетелями (и представителями) которых мы являемся.

Таким образом, генетический аппарат должен быть организован так, чтобы, с одной стороны, обеспечивать свою *стабильность*, с другой — быть достаточно пластичным, т. е. обладать способностью *изменчивости*.

Генетика — наука о наследственности и изменчивости организмов. Эти два свойства неразрывно связаны друг с другом, хотя имеют противоположную направленность. Наследственность предполагает сохранение информации, а изменчивость эту информацию меняет.

Наследственность — это свойство организма повторять в ряду поколений свои признаки и особенности своего развития.

Изменчивость — свойство организмов изменять свои признаки под влиянием внешней или внутренней среды, а также в результате новых генетических комбинаций, возникающих при половом размножении. Роль изменчивости заключается в том, что она «поставляет» новые генетические комбинации, подвергающиеся действию естественного отбора, а наследственность сохраняет эти комбинации.

Генетика — наука о наследственности и изменчивости организмов. Целью генетики является изучение и анализ законов передачи наследственных признаков от поколения к поколению, а также выяснение механизмов, обеспечивающих наследование на всех уровнях организации живых существ (особь, клетка).

Всякое живое существо по большинству своих признаков сходно со своими предками. Сохранение специфических свойств, т.е. постоянство признаков в ряду поколений, называют **наследственностью**. Изучением передачи признаков и закономерностей их наследования занимается **генетика**. Каждому признаку в качестве носителя информации соответствует определенный **ген**.

Еще во времена классической генетики исследователи пришли к выводу, что гены находятся в клеточном ядре. Тогда же было установлено, что они должны располагаться в линейном порядке. Долгое время считали, что наследственная информация связана с белковыми компонентами нуклеоплазмы. Лишь после успешных экспериментов по передаче наследственных признаков с помощью ДНК генетики пришли к убеждению, что именно ДНК, входящая в состав хромосом у всех организмов, служит материальным носителем наследственной информации.

Как это ни кажется в настоящее время парадоксальным, но до 40-х гг. нашего столетия немногие микробиологи думали, что бактерии обладают наследственностью, основанной на тех же принципах, которые установлены для высших организмов.

Прокариоты **не имеют** ни *оформленного ядра*, ни *хромосом*, аналогичных таковым эукариотных клеток, поэтому считали, что бактерии в генетическом отношении представляют собой неупорядоченную форму жизни.

Генетический материал любой клетки представлен ДНК, информационные свойства которой определяются специфической последовательностью четырех нуклеотидов в полинуклеотидной цепи.

Генетический материал прокариот представлен молекулой (молекулами) ДНК, уложенной в компактную структуру и локализованной в ограниченных участках цитоплазмы, не имеющей, в отличие от эукариот, собственной ядерной мембраны. Учитывая эти особенности, генетический аппарат прокариот принято называть **нуклеоидом**.

ДНК и РНК

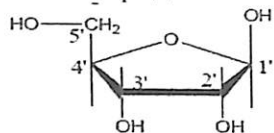
Нуклеиновые кислоты представляют собой последовательность химически связанных структурных единиц — нуклеотидов в состав которых входит азотистое основание (производное пиримидина или пурина), моносахарида пентозы и остатка фосфорной кислоты.

Нуклеиновые кислоты играют главную роль в передаче наследственных признаков (генетической информации).

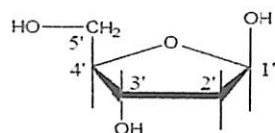
Три из азотистых оснований – аденин (А), гуанин (G) и цитозин (С) типичны для как для ДНК, так и для РНК. Тимин (Т) входит только в состав ДНК, а урацил (U) – только в РНК.

В состав каждой нуклеиновой кислоты входит четыре основания

1. Моносахарид пентоза:



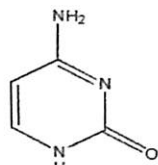
D-рибоза
(β-D-рибофураноза)
входит в состав РНК



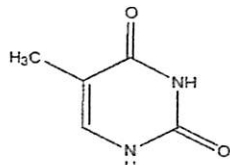
D-дезоксирибоза
(β-D-дезоксирибофураноза)
входит в состав ДНК

2. Азотистые основания:

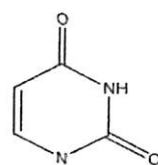
Пиримидиновые основания, представленные в нуклеиновых кислотах:



цитозин (С)

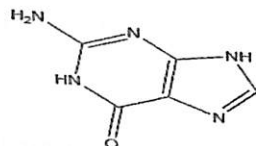


тимин (Т)

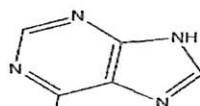


урацил (U)

Пуриновые основания представленные в нуклеиновых кислотах:



гуанин (G)



аденин (А)

3. Остатки фосфорной кислоты – фосфатные группы

Вторичная структура ДНК

В 1953 году Джеймс Уотсон, Френсис Крик и Морис Уилкинс (Великобритания) предложили модель строения ДНК.

Основные характеристики :

1. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепей, которые на всем протяжении связаны друг с другом водородными связями;
2. Водородные связи между цепями образуются за счет взаимодействия аденилового остатка одной цепи с тиминовым остатком другой цепи (пара А ... Т) и гуанинового остатка одной цепи с цитозинным остатком другой цепи (пара С ... G). Основания образующие пару комплементарны друг другу.
3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК комплементарна первичной структуре другой цепи.
4. Обе цепи закручены в спираль. Цепи могут быть разделены только путем раскручивания. Пуриновые и пиримидиновые основания обращены внутрь спирали, а пентозофосфатные части располагаются по периферии
- 5.

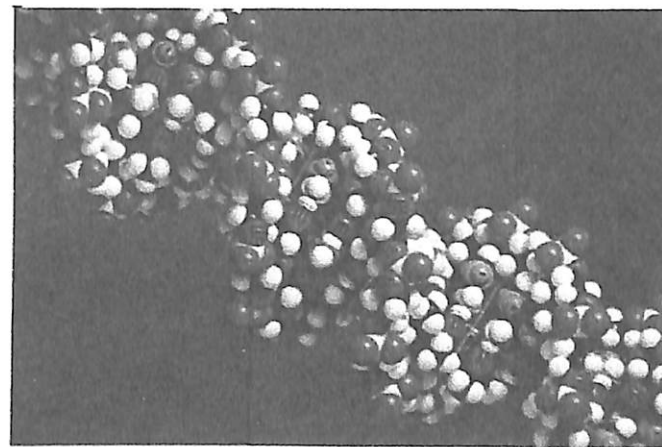


Рис.17. Модель фрагмента ДНК

Генетика микроорганизмов

Генетика микроорганизмов как учение о наследственности и изменчивости имеет характерные особенности, соответствующие их строению и биологии. Наиболее изучена генетика бактерий. Харак-

терными чертами которых являются малые размеры и большая скорость размножения бактериальной клетки, что позволяет проследить генетические изменения в течении небольшого промежутка времени на большом числе популяций. Бактериальная клетка имеет одинарный набор генов. Хромосома бактерий является полинуклеотидом (две полинуклеотидные цепочки ДНК). Она суперспирализована и замкнута в кольцо, содержит от 3000 до 5000 генов. Аналогично хромосоме в цитоплазме бактерий располагаются ковалентно замкнутые кольца ДНК. Называемые плазмидами (внехромосомные факторы наследственности). Масса плазмид значительно меньше массы хромосом. Хромосома и плазида способны к автономному самокопированию – репликации, поэтому их также называют репликонами.

Свойства микроорганизмов, как и любых других организмов, определяются их генотипом, т.е. совокупностью генов данной особи. Термин «геном» в отношении микроорганизмов – почти синоним понятия «генотип».

Наследственная информация у бактерий хранится в форме последовательности нуклеотидов ДНК, которые задают последовательность аминокислотных остатков при синтезе молекул белка. Каждому белку соответствует свой ген, т.е. дискретный участок на ДНК, отличающийся числом и специфичностью последовательности нуклеотидов.

Совокупность всех генов называется *геномом (генотипом)*, а внешнее проявление генома – *фенотипом*.

Бактериальная хромосома представлена одной двунитевой молекулой ДНК кольцевой формы, имеющей гаплоидный набор генов (всего до 5000 генов), которые кодируют жизненно важные для клетки функции.

Плазмиды бактерий – это двунитевые молекулы ДНК, расположенные изолированно от бактериального генома. С плазмидами связаны функции, не являющиеся основными для жизнедеятельности бактериальной клетки, но дающие бактерии преимущества при попадании в неблагоприятные условия существования. Фенотипическими признаками, сообщаемыми плазмидами бактериальной клетке, являются, например, устойчивость к антибиотикам, расщепление сложных органических веществ, выработка факторов бактериоциногенности, продукция факторов патогенности.

Синтез белка и генетический код

Реализация наследственной информации в процессе жизненного цикла (онтогенеза) организма — двухступенчатый процесс.

Сначала с определенных участков ДНК информация переписывается (транскрибируется) в виде комплементарных нуклеотидных последовательностей молекул иРНК, которая перемещается в цитоплазму, связывается с рибосомами и в рибосоме с иРНК осуществляется перевод (трансляция) генетической информации в определенную последовательность аминокислотных остатков молекулы белка.

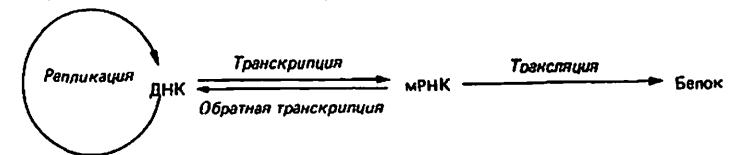


Рис.18. Схема реализации наследственной информации

Репликация ДНК. У бактерий, так же как и у высших организмов, носителем генетической информации служит ДНК. Рассматривая структуру клетки, мы уже говорили о том, что бактериальная ДНК представляет собой двойную спираль, замкнутую в кольцо.

Перед делением происходит **идентичная редупликация**, или **репликация**, генов. Этот процесс можно удовлетворительно объяснить, исходя из модели структуры ДНК, предложенной Уотсоном и Криком и из механизма удвоения ДНК. Две цепи двойной спирали ДНК комплементарны друг другу. На каждой цепи из структурных элементов ДНК синтезируется новая цепь; при этом с каждым из оснований спаривается комплементарное ему основание, так что каждая из двух новых цепей опять-таки будет комплементарна родительской цепи. Обе новые двойные спирали состоят из одной родительской и одной вновь синтезированной цепи. Эта точная репликация ДНК гарантирует сохранение генетической информации.

Транскрипция ДНК. ДНК, будучи носителем наследственной информации, тем не менее сама не служит матрицей для синтеза полипептидов. Биосинтез белков происходит на рибосомах, которые непосредственно с ДНК не соприкасаются. Передачу записан-

ной в ДНК информации к местам синтеза белка осуществляет **матричная**, или **информационная**, **рибонуклеиновая кислота (мРНК)**. Она состоит из одной цепи и очень напоминает одиночную цепь ДНК с тем отличием, что тимин (Т) ДНК в РНК заменен урацилом (U). мРНК синтезируется на одной из цепей ДНК, причем механизм этого процесса сходен с механизмом репликации ДНК. Образование мРНК по последовательности оснований ее цепи комплементарна цепи ДНК. Таким образом, при синтезе мРНК просто копируется нуклеотидная последовательность ДНК. Этот процесс называют **транскрипцией** и противопоставляют его **трансляции** - переводу нуклеотидной последовательности в последовательность аминокислот

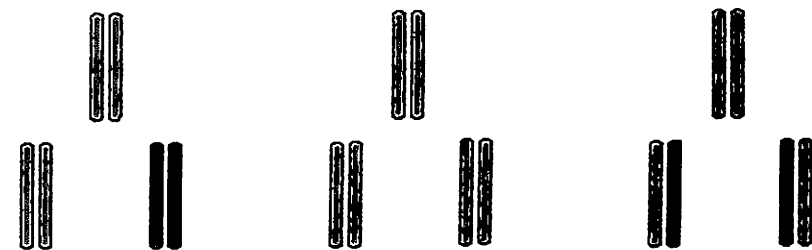
Считается, что у живых организмов теоретически возможны три механизма репликации ДНК.

1. **Консервативный**, при котором сохраняется целостность всей родительской двойной спирали (не происходит раскручивания спирали), и она является матрицей для синтеза себе подобной. Дочерняя двойная спираль полностью образуется из нового материала, а родительская как таковая сохраняется.

2. **Дисперсивный**, в соответствии с которым родительская молекула ДНК распадается на фрагменты, а синтез новых цепей происходит на фрагментах, которые затем крест-накрест объединяются с отрезками нового материала. Каждая полинуклеотидная цепь в этом случае должна была бы состоять из чередующихся отрезков старого и нового материала.

3. **Полуконсервативный** предполагает, что родительская двойная спираль раскручивается, и каждая полинуклеотидная цепь служит матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Таким образом, новая двойная молекула оказывается «гибридом» старой и вновь синтезированной цепи.

В 1957 г. М. Меселсон и Ф. Сталь экспериментально доказали, что репликация хромосомной ДНК у бактерий происходит по **полуконсервативному механизму**



1. Консервативный 2. Дисперсивный 3. Полуконсервативный

Рис.19. Схема механизмов репликации ДНК.

Формы изменчивости микроорганизмов

Изменения и их форма в мире микроорганизмов могут быть разными и зависят от многих причин. Фенотипические изменения связаны с условиями среды, не наследуются, хотя и могут сохраняться длительное время. Генотипические изменения наследуются.

Фенотипические изменения.

К фенотипическим изменениям относят **адаптацию** и **модификацию**.

Адаптация — приспособление микроорганизмов к условиям среды.

В настоящее время это явление объясняется не изменением в микробной клетке, а развитием ранее измененных особей и гибелью неприспособленных, что установлено при действии на микробы антибиотиков. Приспособленные клетки размножаются, а остальные — погибают, т. е. происходит естественный отбор.

Модификация — изменение микроорганизмов под влиянием условий среды. Изменяются только фенотипические (внешние) признаки (форма, размеры, цвет колоний). Так, добавление в среду хлорида кальция приводит к укорочению клеток кишечной палочки. Если из среды удалить это вещество, они вновь принимают исходную форму. Добавление в среду глицерина и аланина вызывает полиморфизм у холерного вибриона. Модификация наблюдается в нормальных условиях жизни, это реакция на внешние раздражения, не связанные с нарушением физиологических процессов в организме. При длительных и сильных воздействиях на микробную клетку могут быть и более глубокие изменения: палочки принимают округлую форму и даже проходят через пористые фильтры.

Генотипические изменения.

Мутации - наследуемые изменения в последовательности отдельных нуклеотидов, которые приводят к появлению микробов с новыми свойствами. Такой ген кодирует белок, отличающийся от исходного по свойствам и функциям.

Термин мутация введен голландским ученым Хуго де Фризом (1901) и свойственны всем живым существам, в том числе и микроорганизмам.

Спонтанные мутации (без направленного воздействия) очень редки: примерно одна на 100 тыс. Они характеризуются изменением какого-нибудь одного признака и обычно стабильны.

Индукцированные, или мутагенные, мутации возникают вследствие воздействия факторов среды. Они встречаются сравнительно часто. Мутагены подразделяются на физические, химические и биологические. К физическим относят различного рода излучения: ультрафиолетовые, рентгеновские, радиоактивные. Они вызывают повреждение генетического аппарата, изменение признаков, свойств микробов; к химическим — сильнодействующие вещества: отравляющие (иприт), лекарственные (йод, пероксид водорода), кислоты (азотистая) и др. Примером биологических мутагенов может быть ДНК. Так, при введении в клетки эмбриона дрозофилы некоторых видов онковирусов взрослые особи приобретают новые признаки: на голове возникают необычные выросты или углубления, иногда исчезают глаза. Отрезок вирусной ДНК, который встраивается в одну из хромосом дрозофилы, вызывает дифференцирование клеток, и, как результат, появляются морфологические и другие изменения.

Способы генетического обмена у бактерий

Бактерии для воспроизведения себе подобных особей не нуждаются в партнерах. Их удвоившийся после репликации геном каждый раз передается клетке «по вертикали» в бесконечном ряду поколений. Но наряду с таким, бесполом, способом передачи генов от предков к потомкам у бактерий существует и горизонтальный перенос генов, при котором из *клетки-донора* в *клетку-реципиента* передается часть генетического материала (хромосомы). Затем переданный фрагмент хромосомы донора спаривается с хромосомой реципиента с последующей рекомбинацией. За рекомбинацией следует процесс репликации ДНК и деления клетки, в результате чего возникают клетки, содержащие только рекомбинантную хромосому, которые называются *рекомбинантами*.

- Существуют три основных способа обмена генетической информацией, или горизонтального переноса генов: **трансформация, трансдукция** и конъюгация. Эти процессы отличаются друг от друга способом транспортировки ДНК.

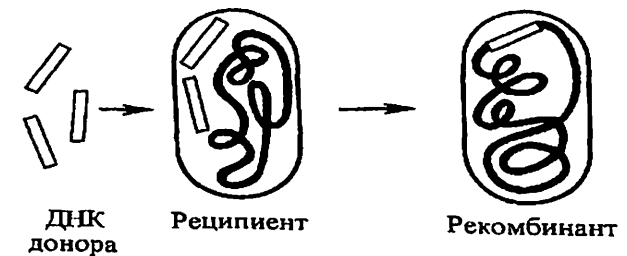
Трансформация

Трансформация — перенос генетической информации, при котором ДНК, выделенная из клетки-донора, поступает в клетку-реципиент.

Впервые это явление установлено в 1928 г. английским микробиологом Ф Гриффитом.

Мышам одновременно были введены две культуры пневмококков: непатогенная, лишенная капсулы (R-штамм) и патогенная культура с капсулой (S-штамм), убитая нагреванием. Все мыши погибли от пневмонии (воспаления легких). Из органов павших животных была выделена капсульная, вирулентная культура пневмококка. Культура убитого нагреванием капсульного пневмококка вызывала в организме трансформацию живых бескапсульных микробов, в результате чего у них появилась способность к образованию капсулы, что и обусловило патогенность.

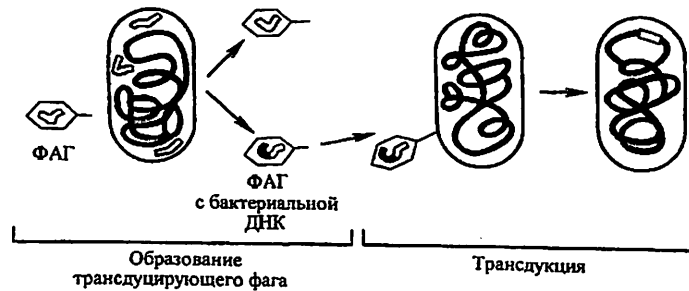
I. Трансформация



Трансдукция

Трансдукция — перенос генетической информации (хромосомных генов или плазмид) от клетки-донора к клетке-реципиенту, который осуществляется при участии бактериофагов.

II. Трансдукция



Конъюгация

Конъюгация – генетический обмен, сопровождающийся переносом генетической информации от клетки-донора к клетке-реципиенту, который осуществляется при их непосредственном контакте.

Необходимым условием конъюгации является наличие в клетке-доноре трансмиссивной F-плазмиды (фертильности, плодовитости). Эта плазмида способна передаваться от донора к реципиенту, образуя конъюгационный мостик между клеткой-донором и клеткой-реципиентом, по которому происходит передача плазмидной и клеточной ДНК. В результате такого переноса клетка-реципиент получает донорские свойства.

Явление конъюгации было открыто Дж. Ледербергом и Э. Татумом в 1946 г. в экспериментах с полиауксотрофными (ауксотрофность – зависимость микроорганизмов от ростовых факторов) штаммами бактерий *E. coli*. Классический эксперимент Ледерберга и Татума заключался в следующем. Два ауксотрофных мутантных штамма *E. coli*

соследующими генотипами:

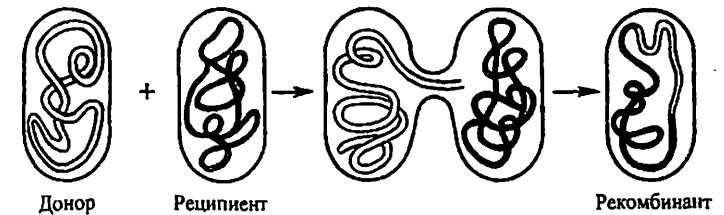
штамм А – *met⁻ bio⁻ thr⁺ leu⁺ thi⁺*,

штамм В – *met⁺ bio⁺ thr⁻ leu⁻ thi⁻*

выращивали в течение ночи в жидкой полноценной среде. Культуры обоих штаммов смешивали и инкубировали при опти-

мальных условиях в течение определенного промежутка времени. Затем смешанную культуру центрифугировали для того, чтобы отмыть клетки от полноценной среды, и высевали на агаризованную минимальную глюкозо-солевую среду. После инкубирования при температуре 37°C на этой среде сформировались колонии, клетки в которых имели генотип *met⁺ bio⁺ thr⁺ leu⁺ thi⁺*

III. Конъюгация



РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В КРУГОВОРОТЕ УГЛЕРОДА В ПРИРОДЕ

Участие микроорганизмов в круговороте веществ.

В соответствии со своей ролью и функцией в балансе природы организмы разделяются на три группы.

Зеленые растения синтезируют органические вещества, используя энергию солнца и углекислоту, поэтому их называют продуцентами.

Животные являются потребителями (консументами); они расходуют значительную часть первичной биомассы для построения своего тела.

Тела животных и растений в конце концов подвергаются разложению, при котором органические вещества превращаются в минеральные, неорганические соединения. Этот процесс, называемый *минерализацией*, осуществляют в первую очередь грибы и бактерии; в балансе природы они служат деструкторами.

Таким образом, биоэлементы участвуют в циклических процессах. Здесь уместно коротко остановиться на биогеохимических круговоротах углерода, азота, фосфора и серы.

Круговорот углерода.

Микроорганизмы играют одну из главных ролей в круговороте всех биологически важных элементов в природе. В том числе углерода и кислорода.

В круговороте углерода различают два процесса, связанных с выделением и поглощением кислорода:

1. Фиксация CO_2 в процессе кислородного фотосинтеза;
2. Минерализация органических веществ с выделением CO_2 .

Первый процесс осуществляют высшие растения, водоросли и цианобактерии. Он обеспечивает перевод окисленной формы углерода (CO_2) в восстановленную (в этой форме углерод находится в органических веществах), при этом восстановленный кислород (H_2O) окисляется до молекулярного (O_2).

Второй процесс совершают микроорганизмы, он идет с поглощением кислорода и связан с восстановлением молекулярного кислорода и образованием субстратов для кислородного фотосинтеза.

В круговороте углерода микроорганизмы выполняют функцию, очень важную для поддержания жизни на Земле. Они обеспе-

чивают минерализацию углерода, переведенного зелеными растениями в органические соединения, и тем самым поддерживают весьма неустойчивое равновесие. Атмосферный воздух содержит чуть больше 0,03% двуокиси углерода. Фотосинтетическая же продуктивность зеленых растений так велика, что запас CO_2 в атмосфере был бы исчерпан примерно за 20 лет.

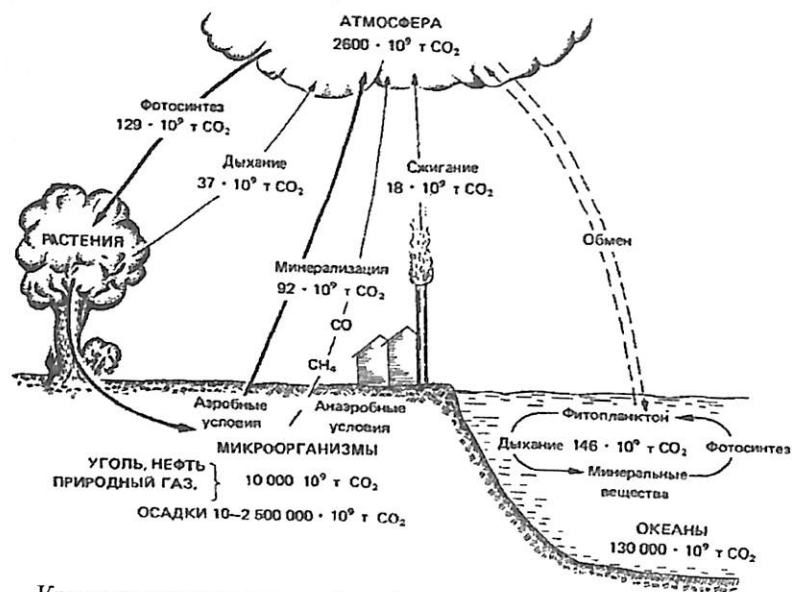
Зеленым растениям пришлось бы вскоре прекратить фиксацию CO_2 , если бы низшие животные и микроорганизмы не обеспечивали возвращение этого газа в атмосферу в результате непрерывной **минерализации органического материала**. В общем балансе веществ на земном шаре почвенным бактериям и грибам принадлежит не меньшая роль, чем фотосинтезирующим зеленым растениям. Взаимозависимость всех живых существ на Земле находит наиболее яркое выражение в круговороте углерода.

Примерные подсчеты показывают, что годовая продукция органического вещества на Земле достигает $33 \cdot 10^{11}$ т. Основную массу этого вещества составляют соединения растительного происхождения. Химический состав растительных остатков весьма сложен. Имеются разнообразные органические вещества – белки, аминокислоты, углеродсодержащие соединения (клетчатка, лигнин, гемицеллюлоза), а также жиры, воска и многие другие. По массе же преобладают: клетчатка (целлюлоза), гемицеллюлоза и лигнин.

После отмирания растений в результате деструктивных биологических процессов происходит распад органических веществ, созданных растительными организмами. В нем участвуют представители разнообразных групп живых организмов, начиная от микроорганизмов и кончая высшими позвоночными животными. Известны два основных типа распада: фитогенный и зоогенный.

Фитогенный распад органического вещества осуществляется при участии грибов, бактерий, актиномицетов и других микроорганизмов.

В зависимости от условий среды органические вещества подвергаются разложению анаэробными и аэробными микроорганизмами. Конечные продукты разложения органических веществ анаэробными микроорганизмами – органические кислоты и спирты, а аэробными – CO_2 и H_2O .



Круговорот углерода в биосфере.

Цифры около стрелок указывают годовой оборот CO_2 (фиксация, образование, обмен). Фотосинтетическая фиксация углекислоты зелеными растениями быстро истощила бы ее запасы в атмосфере, если бы органические соединения не разлагались микроорганизмами и не окислялись до CO_2 , что восполняет запас углекислоты в воздухе.

БРОЖЕНИЕ

Понятие о метаболизме

Метаболизм (от греч. метаболе – перемена) – превращение определенных веществ и энергии в клетке, с момента их поступления до образования конечных продуктов.

Необходим для использования вещества и энергии в ходе жизнедеятельности организма.

• **Метаболизм** – это совокупность биохимических процессов, протекающих в клетке и обеспечивающих ее жизнедеятельность. Клеточный метаболизм складывается из двух противоположно направленных процессов: энергетического метаболизма (катаболизма) и конструктивного метаболизма (анаболизма).

• **Энергетический метаболизм (катаболизм)** – это совокупность реакций окисления различных восстановленных органических и неорганических соединений, сопровождающихся выделением энергии, аккумулируемой клеткой в форме фосфатных связей.

• **Конструктивный метаболизм (анаболизм)** – это совокупность реакций биосинтеза, в результате которых за счет веществ, поступающих извне, и промежуточных продуктов (амфиболитов), образующихся при катаболизме, синтезируется вещество клеток. Этот процесс связан с потреблением свободной энергии, запасенной в молекулах АТФ или других богатых энергией соединениях.

Конструктивный и энергетический метаболизм состоит из ряда последовательных ферментативных реакций.

1. На начальном этапе воздействию подвергаются молекулы химических веществ, которые служат исходными субстратами для метаболизма обоих типов.
2. Последующие превращения включают ряд ферментативных реакций и приводят к синтезу промежуточных продуктов.
3. Образующиеся на последних этапах конечные продукты конструктивных путей используются для построения вещества клеток, а энергетических – выделяются в окружающую среду.

Назначение метаболизма состоит в следующем:

- генерация энергии в молекулах АТФ или других богатых энергией соединениях;

• образование субъединиц, из которых синтезируются макромолекулы основных биополимеров клетки (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липидов);

Существует 3 типа «жизни»:

- а. Брожение
 - б. Дыхание
 - с. Фотосинтез
- Дыхание, или биологическое окисление, основано на окислительно-восстановительных реакциях, идущих с образованием АТФ - универсального аккумулятора химической энергии. При дыхании происходят процессы окисления и восстановления: окисление - отдача *донорами* (молекулами или атомами) водорода или электронов; восстановление - присоединение водорода или электронов к *акцептору*. Акцептором водорода или электронов может быть молекулярный кислород - такое дыхание называется аэробным, а если акцептором служат нитрат, сульфат, фумарат, то дыхание называется анаэробным (нитратным, сульфатным, фумаратным).
 - Если донорами и акцепторами водорода являются органические соединения, то такой процесс называется *брожением*. При брожении происходит ферментативное расщепление органических соединений (преимущественно углеводов) в анаэробных условиях. По конечному продукту расщепления углеводов различают *спиртовое, молочно-кислое, уксусно-кислое* и другие виды брожения.

Брожение характерно только для микроорганизмов, **дыхание** характерно для консументов (потребителей) и микроорганизмов, **фотосинтез** характерен для растений и микроорганизмов.

Брожение — совокупность анаэробных окислительно-восстановительных реакций, при которых органические соединения служат как донорами, так и акцепторами электронов. Как правило, доноры и акцепторы электронов образуются из одного и того же субстрата, подвергающегося брожению (например, из углевода). Сбраживанию могут подвергаться различные субстраты, но лучше других используются углеводы.

- **Брожение** — эволюционно наиболее древний и примитивный способ получения энергии, характерный для некоторых групп прокариот. Основные типы брожений — спиртовое, молочно-кислое и маслянокислое - открыты Л. Пастером в 1861 г., хотя

продукты брожений были известны человеку с незапамятных времен.

- Процессы брожения протекают в анаэробных условиях без участия молекулярного кислорода за счет окислительно-восстановительных превращений органических соединений субстрата и сопровождаются выделением незначительного количества энергии. Так, в процессе молочнокислого брожения образуются всегда 2 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы, в то время как при аэробном окислении 1 молекулы глюкозы синтезируются 38 молекул АТФ:

Спиртовое брожение

В качестве исходного субстрата в процессах брожения микроорганизмы используют самые разнообразные органические вещества - углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты. Конечными продуктами брожений обычно являются органические кислоты (молочная, уксусная, янтарная и др.), спирты (этиловый, пропиловый, бутиловый), ацетон и CO_2 и H_2 .

В любом процессе брожения можно выделить две стадии: окислительную и восстановительную.

Первая, окислительная стадия большинства процессов брожения заключается в серии последовательных реакций, ведущих к образованию пировиноградной кислоты из углевода. У различных групп микроорганизмов установлены три пути превращения глюкозы в пировиноградную кислоту. Первый, наиболее распространенный путь, характерный для дрожжей и многих бактерий, получил название *гликолиза*.

Гликолиз включает ряд реакций, каждая из которых катализируется специфическим ферментом. Исходными продуктами гликолиза служат моносахариды или дисахариды, которые ферментативным путем расщепляются до моносахаридов.

Вторая, восстановительная стадия. Катаболизм глюкозы в этом случае проходит до стадии синтеза пировиноградной кислоты. Далее осуществляется ее декарбоксилирование в результате чего образуются ацетальдегид и CO_2 . При помощи алкогольдегидрогеназы он восстанавливается до этанола.

Энергетический выход спиртового брожения составляет две молекулы АТФ на одну молекулу катаболизированной глюкозы.

Спиртовое брожение распространено среди прокариотных (различные облигатно и факультативно анаэробные зубактерии) и эукариотных (дрожжи) форм.

Типичными возбудителями спиртового брожения являются некоторые виды дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum*, *Schizosaccharomyces pombe* и др.) и бактерий (*Erwinia amylovora*, *Sarcina ventriculi*, *Zymomonas mobilis*). Кроме того, этанол образуют такие мезофильные бактерии, как *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Clostridium sporogenes*, *Spirochaeta aurantia*, а также термофильные бактерии *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *C. thermocellum*.

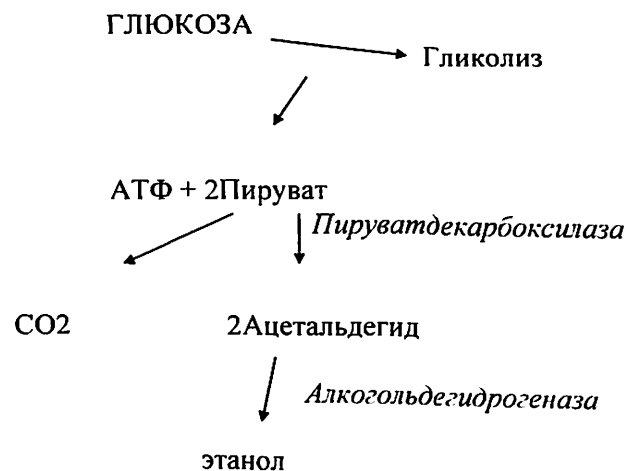
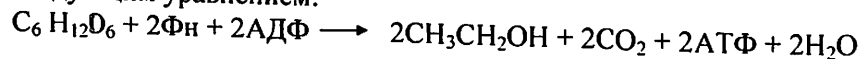


Рис.25. Схема спиртового брожения

Суммарная реакция процесса спиртового брожения выражается следующим уравнением:



Спиртовое брожение широко используется для получения технического и пищевого спирта, вина, пива, а также в хлебопечении. В последнем случае значение имеет не образующийся спирт, а углекислый газ, который выделяется в большом количестве и вызывает разрыхление, подъем теста и его специфический запах.

На развитие дрожжей и ход брожения влияют: химический состав сбраживаемой среды, концентрация и кислотность среды, содержание спирта, температура, наличие посторонних микроорганизмов.

Большинство дрожжей способны сбраживать моносахариды, а из дисахаридов - сахарозу и мальтозу. Дрожжи не могут сбраживать крахмал, так как они не образуют амилолитических ферментов.

Наиболее благоприятная концентрация сахара - от 10 до 15%. При повышении концентрации сахара энергия брожения снижается, а при 30-35% сахара брожение прекращается.

Нормальное брожение протекает в кислой среде, при pH 4-5. В щелочной среде в результате брожения образуется глицерин. Наибольшая скорость брожения при температуре 30°C. При температуре 45-50°C брожение прекращается в результате гибели клеток дрожжей. Снижение температуры замедляет ход брожения, но полностью оно не прекращается даже при температуре ниже 0°C.

По характеру брожения дрожжи подразделяют на верховые и низовые.

Брожение, вызываемое верховыми дрожжами, протекает быстро и бурно при температуре 20-28°C. На поверхности бродящей жидкости образуется много пены и под действием выделяющегося углекислого газа дрожжи выносятся в верхние слои субстрата. По окончании брожения дрожжи оседают на дно бродильных сосудов рыхлым слоем.

Брожение, которое вызывают низовые дрожжи протекает медленно при температуре 5-10°C. Газ выделяется постепенно, пены образуется меньше, дрожжи быстро оседают на дно бродильных емкостей.

Этиловый спирт, образующийся в процессе брожения, неблагоприятно влияет на дрожжи. Накопление дрожжами спирта в концентрации 2-5% действует на них угнетающе. В большинстве случаев брожение прекращается при накоплении дрожжами 12-14% (объемных) спирта.

В настоящее время выделены расы дрожжей, устойчивые к накоплению даже 20% спирта.

Для получения этилового спирта используют разное сырье трех основных групп: содержащее сахар (сахарная свекла, кормовая патока, или меласса, сахарный тростник, фруктовые соки); содержащее крахмал (картофель, земляная груша, кукуруза, ячмень, овес,

рожь, пшеница); содержащее целлюлозу (древесина и сульфитные щелока). Сырье используют в зависимости от хозяйственных возможностей; оно должно быть дешевым и в достаточном количестве.

Крахмалсодержащее сырье разваривают и подвергают осахариванию. Источником амилолитических ферментов служит солодовое молоко, изготовляемое из проросших зерен ячменя, или ферментный препарат из грибов рода *Aspergillus*.

Вносят и дополнительные источники питания. Это делается всегда по рецепту сред для каждого данного производства.

В полученное сусло вносят дрожжи, чаще всего применяют расы *Saccharomyces cerevisiae*, которые быстро размножаются, устойчивы, обладают высокой энергией брожения. Есть и промышленно **важные расы дрожжей**.

По окончании брожения дрожжи отделяют от сброженных заторов, а спирт отгоняют на специальных перегонных аппарата. Получается спирт-сырец и остается отход производства — барда которую используют для получения кормовых дрожжей. Отработанные дрожжи тоже используются в виде жидких и сухих кормовых дрожжей.

Спирт-сырец используют как для технических целей, так и для дальнейшей очистки — ректификации.

Молочнокислое брожение

Молочнокислое брожение - это анаэробное превращение сахара молочнокислыми бактериями с образованием молочной кислоты.

По характеру брожения различают 2 группы молочнокислых бактерий: гомоферментативные и гетероферментативные.

Следовательно, различают два типа молочнокислого брожения: гомоферментативное и гетероферментативное.

При гомоферментативном молочнокислом брожении синтезируется практически одна молочная кислота ($\approx 90\%$ всех продуктов брожения).

Гетероферментативные бактерии менее активные кислотообразователи. Наряду с молочной кислотой они образуют значительное количество других веществ - этиловый спирт, углекислый газ, ацетон, **кислоты**.

Основными субстратами для молочнокислого брожения служат **моносахара** (в первую очередь, глюкоза) и **дисахара** (мальтоза, лактоза). Брожения других, более сложных субстратов проходят через

путь предварительного расщепления их до глюкозы или продуктов ее превращения

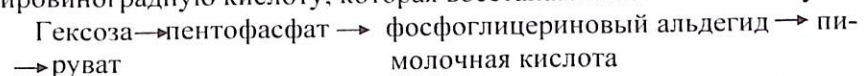
Процесс превращения глюкозы до пировиноградной кислоты у гомо-ферментативных молочнокислых бактерий протекает как и у дрожжей, при спиртовом брожении. Катаболизм глюкозы в этом случае происходит по гликолитическому пути (гликолиз). Образующаяся при этом пировиноградная кислота не подвергается декарбоксилированию (пировиноградная кислота не подвергается расщеплению), а под действием октатдегидрогеназы восстанавливается до молочной кислоты. Пировиноградная кислота вступает во взаимодействие с восстановленным НАД $\cdot$ Н $_2$ (кофермент) - образуется молочная кислота.

Гомоферментативное молочнокислосое брожение идет по следующему суммарному уравнению:



Превращение глюкозы гетероферментативными бактериями происходит по-иному. При этом типе брожения расщепление углеводов происходит по пентозофосфатному пути.

Отсутствие у них фермента адьдолазы меняет начальный путь превращения глюкозы. После фосфорилирования гексоза окисляется (отщепляется водород) и декарбоксилируется (отщепляется углекислый газ), превращаясь в пентозофосфат. Пентозофосфат при участии фермента фосфокеталазы расщепляется на фосфоглицериновый альдегид. Фосфоглицериновый альдегид превращается в пировиноградную кислоту, которая восстанавливается в молочную.



Возбудителями гомоферментативного молочнокислого брожения являются, например, бактерии *Streptococcus cremoris*, *S. lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L. lactis* и др.

Возбудителями гетероферментативного молочнокислого брожения являются бактерии видов *Leuconostoc mesenteroides*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus brevis* и др.

Возбудители молочнокислого брожения - молочнокислые бактерии имеют круглую палочковидную форму. Все молочнокислые бактерии неподвижны, не образуют спор, грамположительные факультативные анаэробы. Они требовательны к составу питательной среды и хорошо развиваются только при наличии полного набора аминокислот и витаминов В $_1$, В $_6$, РР. По отношению к температуре

молочнокислые бактерии разделяются на мезофильные - с max температурой роста-25-35⁰С и термофильные с оптимум около 40-45⁰С. В питательной среде они снижают рН ниже 5 и тем самым подавляют рост других анаэробных бактерий, которые не могут развиваться в кислой среде.

Молочнокислые бактерии находят широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека в процессе приготовления кисломолочных продуктов, сырокопченых колбас, в хлебопечении, биологической выделки кож и т. п. Они входят в состав нормальной микрофлоры человека и животных.

Молочнокислое брожение находится в основе силосования кормов, для этого применяют листья сахарной свеклы, кукурузу, люцерну. Растительную массу прессуют, добавляют к ней мелассу, чтобы повысить соотношение С/Н и какую-нибудь органическую кислоту. Большое значение молочнокислые бактерии имеют при квашении овощей, плодов ягод. Эти процессы протекают за счет естественных микроорганизмов, находящихся в заквашиваемом объекте. В мелко нарезанной, посыпанной солью и спрессованной белокочанной капусте при исключении доступа воздуха начинается спонтанное молочнокислое брожение.

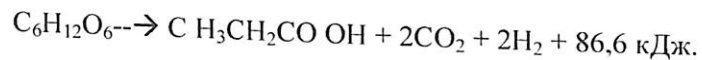
Маслянокислое брожение

Л. Пастер, открыл в 1861 году, бактерии маслянокислого брожения. **Возбудители маслянокислого брожения** – строгие анаэробы, подвижные палочки с кластридиальным или плектридиальным типом спорообразования, относятся к роду *Clostridium* семейству *Bacillaceae*. В зависимости от количества образующихся конечных продуктов маслянокислое брожение подразделяется на:

1. Собственно маслянокислое брожение (брожение глюкозы, крахмала);
2. ацетонобутиловое брожение;
3. брожение пектиновых веществ.

Маслянокислые бактерии широко распространены в природе (до 90% почвенных образцов, как правило, содержат эти бактерии), навозе, загрязненных водоёмах, на разлагающихся растительных остатках, в молоке, на поверхности растений и т.д.

Собственно, маслянокислое брожение осуществляется по уравнению:



Кроме масляной кислоты, в процессе брожения в заметных количествах образуется уксусная кислота, а при смещении реакции в кислую сторону (до рН 5,5) – в больших количествах бутиловый спирт и ацетон.

В качестве источника углерода маслянокислые бактерии могут использовать моно- и дисахариды, молочную и провиноградную кислоты, маннит (*шестиатомный спирт – альдит, бесцветные кристаллы, сладкие на вкус, хорошо растворимы в воде. Содержится во многих растениях. Маннит и его производные применяют для получения поверхностно активных веществ, олиф, смол, лаков, взрывчатых веществ, а также в пищевой промышленности, парфюмерии*), глицерин (*густая прозрачная жидкость, добываемая путём химической обработки жиров, употребляется для медицинских и технических целей*), некоторые полисахариды (декстрин (*полисахарид, получаемый термической обработкой картофельного или кукурузного крахмала*), крахмал) и ряд других соединений. Источниками азота служат весьма разнообразные вещества – белки, пептоны, аминокислоты, аммиачные соединения и даже молекулярный азот.

Типичными представителями маслянокислых бактерий являются: *Clostridium butyricum*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. felsineum*. В молодой культуре подвижные, крупные палочки, имеют размеры около 10мкм * 0,5-1мкм. При старении подвижность теряется и ближе к одному из концов образуется крупная спора. При сбраживании углеводов образуется большое количество масляной кислоты.



Рис.20. Представители маслянокислых бактерий, справа Clostridium butyricum

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В КРУГОВОРОТЕ АЗОТА В ПРИРОДЕ

Cl. pasteurianum. В молодой культуре бактерии имеют вид прямых палочек с закругленными концами. Размеры палочек – 2,5- 2,7 мкм * 0,5-1 мкм. Клетки подвижные, располагаются одиночно или парами. При старении, от образующейся споры, палочки приобретают форму сигары или веретена с одним более острым концом.

Cl. felsineum. В молодой культуре палочки имеют размеры 2-5 мкм * 1 мкм. При спорообразовании бактерии принимают грушевидную форму. В протоплазме клеток накапливается большое количество гранулы. Активно разлагают пектин с образованием масляной кислоты.

В природе маслянокислое брожение имеет большое значение как звено в цепи превращений соединений углерода. Масляная кислота в небольших концентрациях является физиологическим стимулятором роста растений.

В то же время маслянокислые бактерии могут наносить значительный ущерб, вызывая вспучивание сыров, прогоркание молока, порчу консервов, силоса, овощей, картофеля и др. продуктов.

Масляная кислота представляет собой бесцветную жидкость с неприятным запахом, слабые растворы этой кислоты обладают специфическим сырным запахом. Эфиры масляной кислоты обладают приятными ароматами: метиловый имеет яблочный аромат, этиловый – грушевый, амиловый – ананасовый. Эфиры масляной кислоты как ароматические вещества используют в кондитерской и парфюмерной промышленности, при изготовлении фруктовых напитков.

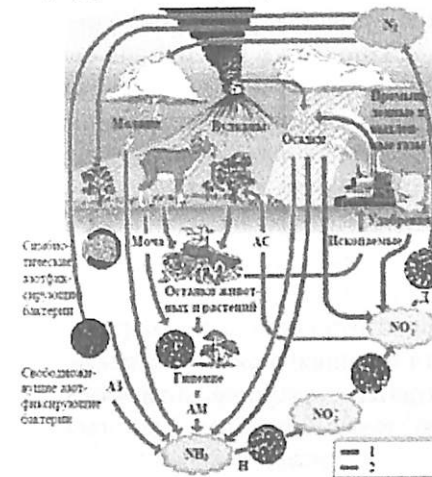
Для консервного производства и других пищевых производств маслянокислое брожение является вредным процессом. Споры маслянокислых бактерий способны выдерживать непродолжительное кипячение (в течение 1-2 мин), поэтому они могут сохраниться в пастеризованных и даже стерилизованных продуктах, особенно в тех, случаях, когда сырьё бывает сильно загрязнено землей и плохо промыто. Сохранившиеся после термической обработки споры маслянокислых бактерий развиваются в вегетативные клетки. В процессе жизнедеятельности, возбуждая маслянокислое брожение, они разлагают углеводы (крахмал, декстрины, гексозы, пентозы), некоторые спирты (глицерин и маннит), соли молочной и пировиноградной кислот. Образующиеся при брожении масляная кислота, CO_2 и водород изменяют вкусовые качества консервов. Консервы становятся непригодными к употреблению.

Круговорот азота.

Азот является вторым наиболее важным биогенным элементом и основным элементом, определяющим величину урожая сельскохозяйственных культур.

Растениям недоступен газообразный азот, в огромном количестве находящийся в воздухе, а из большого разнообразия соединений азота, встречающихся в почве, растения могут использовать для питания в основном только минеральные формы этого элемента.

Цикл превращений азота и содержащих этот элемент соединений в почве весьма сложен. Цикл трансформации азотсодержащих веществ представлен рядом взаимосвязанных процессов.



Первый этап – *фиксация молекулярного азота*.

Запасы газообразного азота в атмосфере практически неисчерпаемы, но этим огромным фондом азота не могут воспользоваться ни растения, которым необходим азот минеральных соединений, ни животные, потребляющие азот в форме органических соединений.

В 1885 г. французский ученый М.Бертло отметил, что в стерилизованной почве за летний период содержание азота не изменя-

лось, и в нестерильной – возрастало. Это позволяло предположить, что почва обогащается азотом с помощью микроорганизмов.

Чистую культуру азотфиксирующего микроорганизма впервые выделил С.Н.Виноградский (1893). Это была анаэробная спорообразующая палочка, названная *Clostridium pasteurianum*. Несколько позднее голландский микробиолог М.Бейеринк (1901) открыл *Azotobacter chroococcum* – аэробную бактерию способную усваивать молекулярный азот.

Азотфиксация осуществляется аэробными и анаэробными азотфиксирующими микроорганизмами, которые могут быть свободноживущими и симбиотическими. Конечным продуктом азотфиксации является ион аммония NH_4^+ , который ассимилируют микроорганизмы и растения и включают в азотсодержащие органические вещества.

Некоторую часть атмосферного азота связывают свободноживущие или находящиеся в симбиозе с растениями микроорганизмы. Этот процесс обогащает азотом и почву, и растения.

К настоящему времени, установлено, что многие свободноживущие бактерии – представители около 30 видов – могут фиксировать молекулярный азот. Большое значение в фиксации азота имеет семейство *Azotobacteriaceae* (р.р. *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia* и др.), *Enterobacteriaceae* (р. *Klebsiella*) и др.

Все виды азотобактера – аэробы.

Из анаэробных азотфиксаторов довольно хорошо изучены представители рода *Clostridium* (сем. *Bacillaceae*).

Симбиотическая фиксация азота связана с развитием на корневой системе бобовых растений специфических бактерий – клубеньковых бактерий, которые питаются органическими соединениями. Синтезированными растением, а растение получает из клубеньков связанные соединения азота.

Выделенные в 1988 г. М.Бейеринком из клубеньков ряда бобовых растений бактерии относятся к роду *Rhizobium*.

В практике сельского хозяйства препараты из азотфиксирующих бактерий используются в качестве бактериального удобрения: азотобактерин – из культур азотобактера, нитрагин — из культур клубеньковых бактерий.

Органические азотсодержащие соединения в тканях растений и животных, попадая в почву, подвергается минерализации.

Среди органических соединений, составляющих клетку, первое место по количеству занимают белки – на их долю приходится не менее 50% сухой массы клетки.

Значительная часть белков попадает в почву с остатками отмерших растений, животных и микроорганизмов. При разложении белков микроорганизмами азот освобождается в виде аммиака.

Следовательно, **второй этап** круговорота азота, получивший название **аммонификации**, приводит к высвобождению аммиака, но уже в результате процессов минерализации органического вещества.

Аммонификация — процесс минерализации органических азотсодержащих веществ, сопровождающийся выделением аммиака. Ведут его различные группы микроорганизмов.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмов часть наиболее сложных органических азотсодержащих веществ запасается в почве в виде гумуса.

Аммонификация является принципиально важным процессом в цикле трансформации азота, в результате которого наша планета очищается от продуктов растительного, животного и микробного опада.

Аммонификации подвергаются вещества самой разнообразной структуры – белковые соединения, аминокислоты, нуклеиновые кислоты, алкалоиды, мочевина и другие, причем освобождающийся аммиак расходуется по-разному. Часть его адсорбируется в обменных реакциях почвы, часть используется гетеротрофными микроорганизмами и превращается в белки их клеток; некоторое количество аммиака окисляется хемолитотрофами до нитритов и нитратов.

В аммонификации принимают участие многие микроорганизмы, включая неспорообразующие и спорообразующие бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы. В зависимости от стадии минерализации органического вещества доминируют те или другие представители. Активными возбудителями аммонификации являются бактерии рода *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus* и др.

Белки сначала вне клетки расщепляются протеолитическими ферментами, катализирующими разрыв определенных пептидных связей, на отдельные фрагменты — пептиды, которые затем поглощаются клеткой и расщепляются внутриклеточными протеолитическими ферментами до отдельных аминокислот.

В результате образуются более простые продукты: белок → пептовы → пептиды → аминокислоты.

Дальнейшее их превращение возможно по нескольким направлениям: 1) аминокислоты непосредственно используются в конструктивном метаболизме для построения белковых молекул; 2) аминокислоты служат основным материалом в энергетических процессах.

Аминокислоты ассимилируются бактериями как источники питания, и под действием внутриклеточных ферментов дезаминаз от них отщепляется аммиак — конечный продукт аммонификации.

Метаболизирование аминокислот начинается с их декарбоксилирования или дезаминирования.

В результате декарбоксилирования аминокислот образуются CO_2 и первичные амины



Дезаминирование — отщепление аминогруппы от аминокислоты, приводящее к выделению азота в виде аммиака



Дезаминирование, при котором происходят окислительные (1) или гидролитические (2) преобразования углеродного скелета аминокислот, получило название окислительного или гидролитического дезаминирования соответственно.

Чаще всего наблюдается гидролитическое и окислительное дезаминирование, реже — дезаминирование, приводящее к образованию ненасыщенных соединений; для анаэробных условий характерно восстановительное дезаминирование.

Дезаминированию подвергаются вещества и небелковой природы, например мочевины. Большое число бактерий способно использовать мочевины в качестве источника азота.

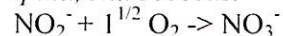
На третьем этапе круговорота азота происходит **нитрификация**. Образовавшийся при аммонификации аммиак окисляется до нитринов (азотистой кислоты — NO_2^-) и нитратов (азотной кислоты — NO_3^-).

Типичные нитрификаторы относятся к облигатным аэробам, группе хемолитоавтотрофов. Процесс нитрификации является двухфазным, причем каждая фаза осуществляется различными видами бактерий. С помощью кислорода они окисляют аммиак до азотистой кислоты, а затем азотистую кислоту до азотной.

Первую фазу нитрификации (1) — окисление аммиака или солей аммония до нитритов — ведут нитрозные бактерии, относящиеся к родам *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrospira*.



Вторую фазу нитрификации (2) — окисление нитритов в нитраты — осуществляют нитратные бактерии родов *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*.



Кроме типичных нитрификаторов, многие гетеротрофные бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Xanthomonas* способны окислять аммиак и другие восстановленные соединения азота до нитритов и нитратов. Этот тип нитрификации получил название гетеротрофной. В отличие от нитрификации, осуществляемой хемолитотрофными бактериями, гетеротрофная нитрификация не является источником энергии для бактерий.

Процесс нитрификации — второе важное звено в цикле трансформации азотсодержащих веществ. Нитраты служат одной из форм минерального азота, необходимого для питания растений.

Денитрификация — процесс восстановления нитритов и нитратов денитрифицирующими бактериями до свободного азота. Этот процесс вреден для сельского хозяйства, так как приводит к частичному выносу (приблизительно 20%) азота из почвы.

Эти бактерии являются факультативными анаэробами. Нитраты они восстанавливают в анаэробных условиях, когда в процессе дыхания при окислении органических веществ используют кислород нитратов в качестве акцептора водорода.

Если нитраты служат не только источниками азота, но и акцепторами электронов в бескислородных условиях, говорят о **денитрификации**. В результате ее образуется либо NH_4^+ , либо N_2 который выделяется в атмосферу и возвращаются в цикл.

РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В КРУГОВОРОТЕ СЕРЫ, ФОСФОРА И ЖЕЛЕЗА В ПРИРОДЕ.

Круговорот серы.

Сера – необходимый питательный элемент для организмов. В почве сера встречается в форме сульфатов ($\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), сульфидов (FeS_2 , Na_2S , ZnS и др.) и органических соединений.

Сера содержится в аминокислотах белков растений, животных и микроорганизмов.

Валовые запасы серы в почвах сравнительно невелики и растения часто ощущают недостаток в ней.

Органические и неорганические формы серы под влиянием деятельности микроорганизмов подвергаются в почве различным превращениям.

В природе постоянно происходят многообразные превращения серы, где основную роль играют микроорганизмы, и только один из этапов серного цикла (ассимиляционная сульфатредукция) может происходить без участия прокариот.

Микроорганизмы осуществляют три важнейших этапа в превращении серы: минерализацию органической серы, окисление и восстановление минеральной серы. Эти этапы определяют три основные формы природной серы: органическую серу (белки, аминокислоты); сульфаты и сульфиты; сероводород и сульфиды.

Органические соединения серы могут быть разрушены и минерализованы.

В определенных условиях восстановленные неорганические соединения серы подвергаются окислению микроорганизмами. А окисленные соединения (сульфаты и сульфиды) могут быть восстановлены в H_2S .

В процессе минерализации органической серы участвуют многочисленные неспециализированные гетеротрофные микроорганизмы (аэробные и анаэробные бактерии, грибы и некоторые актиномицеты).

В настоящее время установлено, что в процессе минерализации серосодержащих соединений образуется не только сероводород, но и другие соединения: меркаптаны, минеральная сера и сульфиты.

Активными окислителями восстановленных соединений серы являются следующие группы микроорганизмов:

- тионовые бактерии, представленные четырьмя родами: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron* и *Sulfolobus*;
- одноклеточные и многоклеточные (нитчатые) формы, образующие трихомы и относящиеся к родам *Achromatium*, *Thiobacteriurnta*, *Thiospira*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca* и др.;
- фотосинтезирующие пурпурные и зеленые серобактерии, а также некоторые цианобактерии;
- хемоорганогетеротрофные организмы из родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиномицеты и грибы (*Penicillium*, *Aspergillus*).

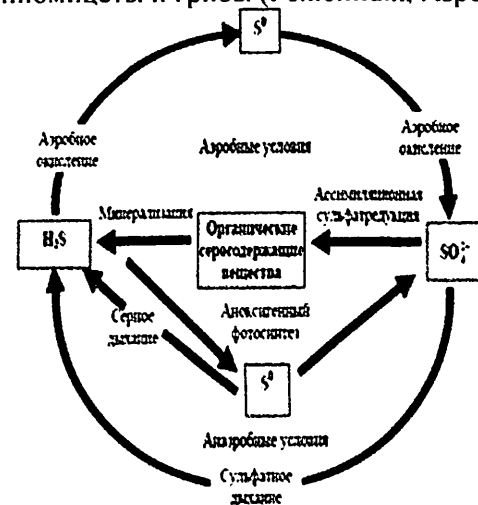


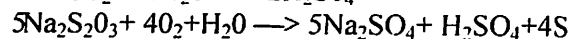
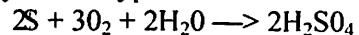
Схема круговорота серы

Окисление минеральной серы, получившее название **сульфофикации**, включает процессы окисления сероводорода, элементарной серы, тио- и тетрасоединений до серной кислоты.

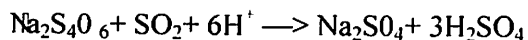
Первая группа микробов обитает в почве. Нитчатые формы встречаются главным образом в грязевых водоемах. Возможно их развитие в затопленных почвах, содержащих восстановленные формы серных соединений. Фотосинтезирующие бактерии свойственна водной среде (пруды, морские лагуны, озера и т. д.).

Наиболее широко распространены тионовые бактерии рода *Thiobacillus*, впервые выделенные из морского ила в 1902 г. Натансоном, а в 1904 г. — М. Бейеринком. Эти бактерии способны окислять тиосульфат, сероводород, сульфиды, тетратионаты и тиоцианаты. Бейеринк отнес эти микроорганизмы к особой группе с родовым названием *Thiobacillus*. Род *Thiobacillus* представлен многими видами (*Th. thiooxidans*, *Th. thioparus*, *Th. novellus*, *Th. denitrificans*, *Th. ferrooxidans* и др.).

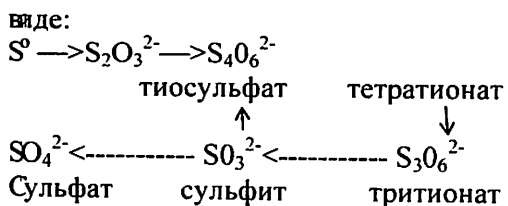
За исключением *Th. novellus* и некоторых других видов, относящихся к факультативным хемолитоавтотрофам и хемолитогетротрофам, представители рода *Thiobacillus* — облигатные хемолитоавтотрофы, то есть живут за счет энергии, выделяющейся в процессе окисления неорганических соединений серы. Ход окислительных процессов, вызываемых серобактериями, может быть представлен следующими уравнениями:



Тетратионаты могут подвергаться дальнейшему окислению до серной кислоты:



Гипотетическая цепь реакций окисления элементарной серы бактериями рода *Thiobacillus* может быть представлена в следующем



По современным представлениям, сера из среды поступает в клеточную вакуоль (наполненную волютином) тиобактерии путем диффузии и накапливается в ней в виде запасного материала. Эта сера может окисляться по мере надобности. Скорость ее окисления зависит от площади соприкосновения серы с бактериальными клетками. Это позволило предположить, что на клеточной поверхности бактерий действуют ферменты, способствующие поступлению серы внутрь клетки, и под их воздействием сера восстанавливается до сульфидного иона, окисление которого происходит в дальнейшем внутриклеточно.

Восстановление сульфатов как наиболее распространенной в биосфере формы серы до сероводорода осуществляется облигатными сульфатредуцирующими анаэробами в процессе **диссимиляционной сульфатредукции** (сульфатное дыхание). В качестве конечного акцептора электронов они используют сульфаты, донором электронов могут служить различные органические соединения и молекулярный водород.

Восстановление сульфатов до сульфидов с последующим включением их в состав органических веществ (цистина, цистеина, метионина, кофермента А, биотина, тиамина, липоевой кислоты) происходит в процессе **ассимиляционной сульфатредукции**, в которой могут принимать участие растения или микроорганизмы.

В плохо аэрированных, затопляемых почвах, с дефицитом O_2 , а также в водах (лиманах, некоторых морях и других водоемах) в зоне анаэробнозиса происходит микробиологическое восстановление сульфатов. Иногда этот процесс называется десульфофикацией.

Бактерии, вызывающие восстановление сульфатов, разделяют на два рода: неспорообразующие — *Desulfovibrio* и спорообразующие — *Desulfotomaculum*.

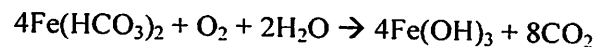
Сульфатвосстанавливающие бактерии — весьма специализированная группа микроорганизмов, которая использует сульфат в качестве акцептора электронов (водорода) в анаэробных условиях для окисления органических соединений или водорода. Вопреки ранее распространенным представлениям сульфатвосстанавливающие бактерии не способны к автотрофному связыванию CO_2 и для своего роста нуждаются в готовых органических веществах, то есть они относятся к хемоорганогетеротрофам. Донором электронов (водорода) служат углеводы, органические кислоты, спирты, а также молекулярный водород. Водород окисляемых органических субстратов переносится на окисленные соединения серы (сульфаты, сульфиты, тиосульфаты), которые восстанавливаются до H_2S .

Круговорот железа.

Железобактерии — бактерии, способные окислять двухвалентное железо (Fe^{2+}) до трехвалентного (Fe^{3+}) и использовать освобождающуюся при этом энергию на усвоение углерода из углекислого газа или карбонатов. Железобактерии были открыты С. Н. Виноградским.

Acidithiobacillus ferrooxidans были открыты в 1950 году (назывались *Thiobacillus ferrooxidans*), и в дальнейшем их использовали в промышленности для производства меди.

Они чрезвычайно широко распространены как в пресных, так и в морских водоемах, играют большую роль в круговороте железа в природе. Благодаря их жизнедеятельности на дне болот и морей образуется огромное количество отложенных руд железа и марганца. Окисление протекает следующим образом:



При этой реакции энергии выделяется немного, поэтому железобактерии окисляют большое количество двухвалентного железа.

Некоторые из железобактерий являются литоавтотрофами.

Железо **присутствует** в организмах всех растений и животных как **микроэлемент**, то есть в очень малых количествах (в среднем около 0,02%). Однако железобактерии, использующие энергию окисления железа(II) в железо(III) для хемосинтеза, могут накапливать в своих клетках до 17-20% железа. Основная биологическая функция железа — участие в транспорте кислорода и окислительных процессах. Эту функцию железа выполняет в составе сложных белков — гемопротеидов, простетической группой которых является железопорфириновый комплекс — гем. Среди важнейших гемопротеидов дыхательные пигменты гемоглобин и миоглобин, универсальные переносчики электронов в реакциях клеточного дыхания, окисления и фотосинтеза цитохромы, ферменты каталазы и пероксидазы, и других. У некоторых беспозвоночных железосодержащие дыхательные пигменты гелозеритрин и хлорокруорин имеют отличное от гемоглобинового строение. При биосинтезе гемопротеидов железо переходит к ним от белка ферритина, осуществляющего запасание и транспорт железа. Этот белок, одна молекула которого включает около 4 500 атомов железа, концентрируется в печени, селезенке, костном мозге и слизистой кишечника млекопитающих и человека. Суточная потребность человека в железе (6-20 мг) с избытком покрывается пищей (железом богаты мясо, печень, яйца, хлеб, шпинат, свекла и другие). В организме среднего человека (масса тела 70 кг) содержится 4,2 г железа, в 1 л крови — около 450 мг. При **недостатке железа** в организме развивается железистая

анемия, которую лечат с помощью препаратов, содержащих железо. Препараты железа применяются и как общеукрепляющие средства. Избыточная доза железа (200 мг и выше) может оказывать токсичное действие. Железо также **необходимо** для нормального развития растений, поэтому существуют микроудобрения на основе препаратов железа.

Круговорот фосфора.

По значению в питании растений фосфор занимает второе место после азота. Он находится в почве, растениях и микроорганизмах, в органических и неорганических соединениях.

Фосфор, относящийся к группе биогенов, представляет собой химический элемент, без которого невозможны основные биосинтетические реакции в клетке. Более того, считается, что рост, накопление биомассы и продуктивность живых организмов определяются соотношением N : P, которое может варьировать от 10—15 до 2. Однако почти во всех экологических системах фосфора меньше, чем азота, и именно он лимитирует массу живого вещества.

В почву соединения фосфора поступают с растительными и животными остатками, а также с минеральными удобрениями.

Сельскохозяйственные растения содержат в своих тканях от 0,05 до 0,5% фосфора. У растений (как и у животных) этот элемент находится в форме органических соединений (фитин, фосфолипиды, нуклеиновые кислоты и т. д.). Фосфор (неорганический ортофосфат) может также присутствовать в клеточных вакуолях в качестве внутреннего буфера.

В противоположность азоту и сере, которые в тканях находятся в восстановленной форме ($-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$), фосфор входит в органические соединения в окисленной форме в виде фосфата.

Органические соединения фосфора разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*), грибами из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Alternaria*, некоторыми актиномицетами и другими микроорганизмами.

Разложение указанных соединений также осуществляют дрожжи (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* и др.).

При разложении органических веществ микроорганизмами последние фиксируют в своих клетках определенные количества фосфора, содержащегося в этих веществах.

В живых организмах фосфор присутствует только в пятивалентном состоянии в виде свободных фосфатных ионов (PO) или органических фосфатных компонентов клетки. Живые клетки не способны поглощать большинство органических соединений, они предпочтительно используют соединения неорганического ортофосфага, из которых внутри них синтезируются органические фосфорсодержащие соединения. После отмирания организмов происходит минерализация этих соединений с помощью микроорганизмов и фосфатный ион снова освобождается.

Однако несмотря на быстрое функционирование круговорота фосфора и относительное обилие фосфатов в почвах и горных породах, вследствие малой растворимости фосфорных минералов (апатитов, варисцитов, фосфатов железа и кальция) содержание неорганического фосфата во многих природных местообитаниях ограничено. Доступность фосфатов лимитируется также их способностью адсорбироваться на органических и неорганических полимерах. Все это приводит к тому, что фосфат служит фактором, ограничивающим рост многих организмов.

Микроорганизмы осуществляют следующие преобразования соединений фосфора: перевод в растворимую форму фосфатных минералов, включение неорганического фосфата в органические соединения клеток и минерализацию органических соединений фосфора.

РОЛЬ И ЗНАЧЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВООБРАЗОВАНИИ.

С давних времен происхождение почвы связывали с обогащением поверхностного слоя Земли растительными остатками. Так, М.В.Ломоносов в сочинении «О слоях земных» (1763) писал, что сущность почвообразовательного процесса, осуществляемого во времени и сопровождающегося накоплением плодородия, это результат взаимодействия растительности с горными породами.

По определению В.В.Докучаева (1846-1903), почвой следует называть «дневные», или поверхностные, горизонты горных пород естественно измененные влиянием факторов. Тип почвы складывается в зависимости от: материнской породы, климата, растительности, рельефа страны, возраста почвообразовательного процесса. Докучаев отмечал, огромную роль живых организмов, в частности микроорганизмов в формировании почвы.

В 1890 И.В.Ковалевский в сообщении «Запросы современного сельского хозяйства к естествознанию» основное внимание уделил значению микроорганизмов в создании плодородия почв.

Почва как среда обитания микроорганизмов.

Почва является средой обитания микроорганизмов. Они находят в почве все условия, необходимые для своего развития: пищу, влагу и защиту от губительного влияния прямых солнечных лучей и высушивания.

Количественный и качественный состав микрофлоры различных почв значительно колеблется в зависимости от химического состава почвы, ее физических свойств, реакции, влагоемкости, степени аэрации. Существенно влияют также климатические условия, время года, способы сельскохозяйственной обработки почвы, характер растительного покрова и многие другие факторы.

Неодинаково распространены микроорганизмы и по горизонтам почвы. Меньше всего их содержится обычно в самом поверхностном, толщиной в несколько миллиметров, слое, где микроорганизмы подвергаются неблагоприятному воздействию солнечного света и высушивания.

Особенно обильно населен следующий слой почвы, толщиной до 5 см. По мере углубления число микроорганизмов падает. На глубине 25 см, количество их в 10-20 раз меньше, чем в поверхностном слое толщиной 1-2 см, (по данным А. С. Разумова). Меняется с глубиной и состав микрофлоры. В верхних

слоях почвы, содержащих много остатков животных и растений, а также подвергающихся хорошей аэрации, преобладают аэробные сапрофитные организмы, способные расщеплять сложные органические соединения. Чем глубже почвенные слои, тем беднее они органическими веществами; доступ воздуха в них затруднен, поэтому здесь преобладают анаэробные бактерии.

Количество бактерий в почве измеряется сотнями и тысячами. Микрофлора почвы представлена разнообразными видами бактерий, актиномицетов, грибов, водорослей и простейших животных. К постоянным обитателям почвы относятся различные споровые бактерии. Из аэробов чаще встречаются *Bacillus mycoides*, *B. mesentericus*, *B. megatherium*, из анаэробов *Clostridium sporogenes*, *C. perfringens*, *C. putrificum*.

В почве находятся также бактерии маслянокислые, разлагающие клетчатку, нитрифицирующие, денитрифицирующие, азотфиксирующие. Наряду с обычными обитателями почвы могут встречаться и болезнетворные микроорганизмы, преимущественно спорообразующие бактерии, например возбудители столбняка, газовой гангрены, ботулизма и др. Поэтому загрязнение почвы пищевых продуктов представляет опасность.

Патогенные бесспорные бактерии (например, брюшнотифозные, дизентерийные) сохраняются в почве сравнительно недолго (недели, месяцы), а споры бактерий — годами.

При санитарной оценке почвы критерием служит титр кишечной палочки и количество сапрофитных бактерий. Имеет значение и определение *C. perfringens* и энтерококков.

В почве одновременно с минерализацией органических веществ происходят процессы бактериального самоочищения — отмирание несвойственных почве сапрофитных и патогенных бактерий.

Деятельность почвенных микроорганизмов играет большую роль в формировании почвы, создании ее плодородия. Особо важное значение имеют микроорганизмы, фиксирующие свободный азот, и те, которые переводят соединения углерода, азота, фосфора и других элементов из недоступных для растений форм в усвояемые ими вещества. Различные микроорганизмы, последовательно сменяя друг друга, осуществляют грандиозную работу по минерализации попадающих в почву разнообразных органических веществ, что обуславливает круговорот веществ в природе.

Микроорганизмы играют большую роль в повышении плодородия почвы, так как в процессе роста и развития улучшают её структуру, обогащают питательными веществами, способствуют более полному использованию удобрений.

Микрофлора почвы оказывает непосредственное влияние на её плодородие и, как следствие, на урожайность растений. Почвенные микроорганизмы в процессе роста и развития улучшают структуру почвы, накапливают в ней питательные вещества, минерализуют различные органические соединения, превращая их в легкоусвояемые растением компоненты питания. Для стимуляции этих процессов применяют различные бактериальные удобрения, обогащающие ризосферу растений полезными микроорганизмами. Микроорганизмы, используемые для производства бактериальных препаратов, способствуют снабжению растений не только элементами минерального питания, но и физиологически активными веществами (фитогормонами, витаминами и др.).

Интенсивное растениеводство обедняет почву азотом, так как ежегодно значительная его доля вместе с урожаем выносится из почвы. С древних времён для восстановления и улучшения почв существует практика использования бобовых растений, способных в симбиозе с азотфиксирующими микроорганизмами восполнять почвенные запасы азота в результате *дiazотрофности*.

Впервые наличие бактерий в клубеньках на корнях бобовых растений описали Лахман в 1858 и Воронин в 1866 г. Чистая культура азотфиксаторов была получена Бейеринком в 1888 г. Вскоре были выделены и описаны другие азотфиксирующие микроорганизмы; Виноградский в 1893 г. впервые выделил анаэробную спороносную бактерию, фиксирующую молекулярный азот, назвав её в честь великого Л. Пастера *Clostridium pasteurianum*; в 1901 г. Бейеринк открыл вторую свободноживущую азотфиксирующую бактерию *Azotobacter*.

Как только была выяснена роль симбиотических бактерий рода *Rizobium* в азотфиксации, стали разрабатывать способы внесения этих микроорганизмов в почву и также инокуляции семян. Затраты в использовании этих способов невелики, техника применения весьма проста, а эффект значителен. Культивирование бобовых, положительно влияя на азотный баланс почв, также облегчает борьбу с эрозией и помогает восстанавливать истощенные земли.

Основные положения экологии микроорганизмов

Взаимоотношениями организмов между собой и с окружающей средой занимается **экология**. Экология микроорганизмов исследует лишь отдельные части целостных экологических систем

Существует понятие общей экологии (синэкологии) и частной (аутоэкологии). Предмет общей экологии – изучение баланса энергетических и продукционных процессов, происходящих в экосистеме и биосфере во всех ее звеньях и уровнях, распределение вещества и энергии по пищевым цепям в каждой конкретной экосистеме. Однако функционирование экосистемы в целом невозможно без понимания процессов, протекающих в отдельных ее блоках. Необходимо изучение места и роли отдельных групп организмов в экосистеме, в частности грибов.

Предметом изучения частной экологии, или аутоэкологии, является исследование взаимоотношений организмов внутри вида и приспособление к среде отдельных видов на уровне популяций, изучение закономерностей изменения численности структуры популяций и влияния факторов внешней среды на развитие той или иной популяции и организмов, ее составляющих, и их обратное влияние на среду. Изучение особенностей организмов, позволяющих им развиваться в тех или иных условиях внешней среды.

Можно исходить из того, что каждый вид (или популяция) выполняет определенную функцию, которая обусловлена его (ее) потребностями в пище, подвижностью, способом размножения, биохимическими возможностями, структурными особенностями и пределами толерантности (терпимости) к условиям среды.

В настоящее время эти взаимоотношения можно представить в виде следующих форм:

1. Сожительство создает благоприятные моменты для обоих партнеров (взаимовыгодный симбиоз - мутуализм).
2. Один из партнеров по симбиозу испытывает вредное воздействие другого (в этом случае говорят о паразитизме, об антагонизме).
3. Во многих случаях партнеры могут не оказывать друг на друга никакого влияния (нейтрализм).
4. Партнерство может быть выгодно одному из организмов без оказания вредного воздействия на другого (комменсализм).

Общие термины, применяемые в экологии микроорганизмов

Экосистема. Основной единицей в экологии является экосистема. В нее входят как биотические, так и абиотические компоненты. Биотические компоненты составляют сообщество организмов, или биоценоз. При этом речь идет, как правило, о популяциях микроорганизмов, причем популяция может состоять из клонов одного вида или нескольких различных видов. Под абиотическими компонентами следует понимать физические и химические условия экосистемы, в которой живут организмы. Размеры микробных экосистем очень разнообразны. Это может быть, например, пруд, озеро или корневая система дерева. Возможны и такие малые экосистемы, как ротовая полость человека, рубец жвачного животного или участок кишечника. Все жизненное пространство нашей планеты в совокупности – биосферу – можно рассматривать как гигантскую экосистему. С той или иной экосистемой часто связывают понятие «**окружающая среда**». Эта среда поддерживает взаимоотношения определенного организма (или популяции) с окружающими его (ее) биотическими или абиотическими компонентами экосистемы.

Местообитание. В пределах экосистемы для каждого вида можно описать его местообитание. Это тот участок или жизненное пространство (местность), в котором обычно живет данный микроорганизм (индивидуум или популяция). Для каждого организма можно указать как минимум одно местообитание, в котором он обычно встречается, где он благополучно растет и развивается и где его с большей вероятностью можно встретить вновь и выделить. Местообитанием могут быть донные отложения моря, плодородная гумусная почва, носовая полость или кишечник человека. В рамках определенной экосистемы микроорганизм имеет, как правило, только одно-единственное местообитание, но может иметь и несколько таких мест, каждое в отдельной экосистеме. Например, бактерии рода *Rhizobium* живут как в почве, так и в растениях. Иными словами местообитание – это «улица» и «номер дома» организма; некоторые организмы могут иметь по несколько адресов.

Экологическая ниша. В отличие от термина «местообитание» понятие «экологическая ниша» отражает не место в пространстве, а **функцию** какого-то вида или популяции в сообществе организмов. Экологическая ниша характеризует «профессию» вида. Можно исходить из того, что каждый вид (или популяция) выполняет опреде-

ленную функцию, которая обусловлена его (ее) потребностями в пище, подвижностью, способом размножения, биохимическими возможностями, структурными особенностями и пределами толерантности к условиям среды. Может или не может какой-либо вид выполнять определенную функцию в определенной экосистеме, зависит от совокупности его свойств. Обычно границы распространения какого-то вида или популяции фактически бывают уже, чем можно было ожидать, исходя из свойств этого вида. Иными словами, реальные ниши, как правило, уже потенциальных. Будет ли вид действительно выполнять ту функцию, к которой он потенциально способен – это часто определяется вторичными, привходящими обстоятельствами.

Обитатели экосистемы. Согласно концепции, выдвинутой Виноградским в 1925 году, микроорганизмы, встречающиеся в экосистеме, можно разделить на две категории – автохтонные и аллохтонные (или зимогенные). *Автохтонные* микроорганизмы являются типичными обитателями данной экосистемы (например, почвы, кишечника) и присутствуют там всегда. Их неизменно можно найти, скажем в почве, независимо от того, вносятся туда извне определенные питательные вещества или нет. Наличие таких видов обусловлено более или менее постоянным присутствием питательных веществ, характерных для данной экосистемы. Под *аллохтонными* микроорганизмами понимают такие, наличие которых зависит от случайного повышения концентрации питательных веществ или от добавления определенных веществ. Такие виды в известной мере чужды данной экосистеме, присутствуют в ней временно или пребывают в состоянии покоя.

К автохтонным обитателям экосистем относятся обычно высокоспециализированные организмы, такие как нитрифицирующие бактерии, обитатели горячих источников и других экстремальных экосистем. К зимогенным представителям принадлежат многие почвенные и водные бактерии.

Микрофлора почвы

Под почвой понимается поверхностный слой земного шара, который образуется в результате изменения горных пород при воздействии биоты, климата и других факторов почвообразования.

Почва – естественная среда обитания микроорганизмов. Характер почвы и видовой состав ее микрофлоры неразрывно связаны.

Основное место обитания микроорганизмов – твердая фаза, содержащая запасы питательных веществ.

На распределение микроорганизмов в почве влияют корни растений, выделяющие во внешнюю среду органические вещества. На поверхности корней и в прикорневой зоне сосредоточено большое количество микроорганизмов.

Наиболее многочисленной группой среди микроорганизмов всех типов почв являются бактерии, составляющие от 65 до 96 % общего числа клеток.

Количество грибов в почве не превышает 0,5–0,8 % общего числа микроорганизмов и зависит от pH почвы. В сильно кислых подзолистых почвах (при pH около 4) грибы составляют до 3 % всех микроорганизмов.

Различные виды обработки почв (рыхление, орошение, вспашка, внесение удобрений) способствуют усиленному размножению микроорганизмов, поэтому в окультуренных почвах число их в несколько раз больше, чем в целинных.

Микрофлора почвы характеризуется большим разнообразием микроорганизмов, которые принимают участие в процессах почвообразования и самоочищения почвы, круговорота в природе азота, углерода и других элементов. В почве обитают бактерии, грибы, лишайники (симбиоз грибов с цианобактериями) и простейшие.

На поверхности почвы микроорганизмов относительно мало, т.к. на них губительно действуют УФ-лучи, высушивание и т.д.

Наибольшее количество микроорганизмов содержится в верхнем слое почвы толщиной до 10 см. По мере углубления в почву количество микроорганизмов уменьшается и на глубине 3–4 м они практически отсутствуют.

Состав микрофлоры почвы меняется в зависимости от типа и состояния почвы, состава растительности, температуры, влажности и т.д. Большинство микроорганизмов почвы способны развиваться при нейтральном pH, высокой относительной влажности, при температуре от 25 до 45°C

Понятно, что почва является «обжитой» средой обитания для микроорганизмов. Так, можно говорить, что в 1 г почвы живут миллионы – миллиарды микроорганизмов, или на глубине горизонтов 25 см на территории 1 га окультуренной почвы емкость бактерий будет равняться 3–5 тонн бактерий. В почве количество микроорганизмов больше чем в воде и воздухе.

Плотность микробного населения определяется, прежде всего, органическими веществами. Так, в 1 г чернозема содержится до 3 млрд клеток микроорганизмов; в бедных органическими веществами подзолистых почвах — от 300 млн до 2 млрд, в песках пустыни Сахары, где низкая влажность среды, — около 1 млн.

Количество микроорганизмов в 1 г различных почв

Торфяные почвы	707 000 000
Лесные подзолистые почвы	2 246 000 000
Полivные окультуренные сероземы	1 830 000 000
Черноземные почвы	1 930 000 000
Приусадебные участки	5 286 000 000

Из структурных частей почвы для микробиологии особый интерес представляет ее органическое вещество — гумус, состоящий из остатков животных и растительных организмов и обитающих в почве микробов.

Поверхностный слой почвы беднее микробами, так как на них вредно воздействуют факторы внешней среды: высушивание, ультрафиолетовые лучи, солнечный свет, повышенная температура и др.

Наибольшее количество микроорганизмов находится на глубине 5—15 см, меньше их на глубине 20—30 и еще меньше на глубине 30—40 см.

Наиболее богаты микрофлорой возделываемые (культурные) почвы, бедны — песчаные, горные, а также почвы, лишенные растительности; содержание их в почве увеличивается с севера на юг.

К типичным почвенным бактериям относятся *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megatherium*, *Cl. tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. oedematicus*, *Cl. histolyticus*, *Cl. botulinum*, *Cl. chauvovaeij* а также термофильные, пигментные, непигментные и другие микроорганизмы, составляющие иногда 80-90 % всей микрофлоры почвы

Почвенные микроорганизмы условно подразделяются на несколько групп.

Микроорганизмы, разлагающе свежий растительный опад, С. Н. Виноградский назвал зимогенной микрофлорой. В основном это бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. Если в почве мало лег-

коразлагаемых питательных веществ, зимогенные микроорганизмы переходят в покоящуюся форму или даже погибают.

Автохтонные микроорганизмы постоянно живут в почве, и численность их не зависит от поступления легкодоступных питательных веществ. Характерный представитель этой группы — бактерии рода *Arthrobacter*. Автохтонные микроорганизмы принимают активное участие в синтезе гумуса (автохтонная микрофлора А) и его распаде (автохтонная микрофлора Б).

Олиготрофные микроорганизмы — виды, способные усваивать питательные вещества из растворов с низкой концентрацией. Это бактерии родов *Microcycylus*, *Hyphomicrobium*, *Agrobacter*, *Caulobacter* и др.

Хемолитоавтотрофные бактерии — почвенные микроорганизмы, окисляющие неорганические субстраты. Группа включает нитрифицирующие, тионовые, водородные, железобактерии и др.

Почвы различаются по содержанию воды: слишком сухие и слишком влажные ограничивают рост и развитие микроорганизмов. Оптимальна для большинства микроорганизмов влажность, равная 50—60 % максимальной влагоемкости (наибольшего количества воды, которое почва может удерживать). Некоторые, например *Clostridium pasteurianum*, могут расти при 100 %-й влагоемкости почвы. Для микроорганизмов важна концентрация солей в почвенном растворе. Засоленные почвы беднее микроорганизмами, однако некоторые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* хорошо развиваются на субстратах с 20—30 % NaCl, некоторые почвенные микроорганизмы развиваются при высоких концентрациях минеральных солей (осмофильные).

Почвенные микроорганизмы очень чувствительны к изменениям pH среды: грибы лучше растут в кислой среде, а бактерии — в нейтральной или слегка щелочной. Изменение pH почвы вызывает изменения в популяциях почвенных микроорганизмов.

Из внешних факторов, существенно влияющих на развитие микроорганизмов в почве, основным является температура. Лучше всего почвенные микроорганизмы развиваются при температуре 15—25 °С, но могут встречаться термофильные (оптимум 50 °С) и криофильные, развивающиеся при температуре, близкой к 0 °С. Микроорганизмы обитают главным образом в профиле, отличающемся большой амплитудой колебаний температур, зависящей от времени года, характера местности и даже от времени суток, от

Плотность микробного населения определяется, прежде всего, органическими веществами. Так, в 1 г чернозема содержится до 3 млрд клеток микроорганизмов; в бедных органическими веществами подзолистых почвах – от 300 млн до 2 млрд, в песках пустыни Сахары, где низкая влажность среды, – около 1 млн.

Количество микроорганизмов в 1 г различных почв

Торфяные почвы	707 000 000
Лесные подзолистые почвы	2 246 000 000
Полivные окультуренные сероземы	1 830 000 000
Черноземные почвы	1 930 000 000
Приусадебные участки	5 286 000 000

Из структурных частей почвы для микробиологии особый интерес представляет ее органическое вещество — гумус, состоящий из остатков животных и растительных организмов и обитающих в почве микробов.

Поверхностный слой почвы беднее микробами, так как на них вредно воздействуют факторы внешней среды: высушивание, ультрафиолетовые лучи, солнечный свет, повышенная температура и др.

Наибольшее количество микроорганизмов находится на глубине 5—15 см, меньше их на глубине 20—30 и еще меньше на глубине 30—40 см.

Наиболее богаты микрофлорой возделываемые (культурные) почвы; бедны — песчаные, горные, а также почвы, лишенные растительности; содержание их в почве увеличивается с севера на юг.

К типичным почвенным бактериям относятся *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megatherium*, *Cl. tetani*, *Cl. perfringens*, *Cl. oedomaticus*, *Cl. histolyticus*, *Cl. botulinum*, *Cl. chauvovoeij* а также термофильные, пигментные, непигментные и другие микроорганизмы, составляющие иногда 80-90 % всей микрофлоры почвы

Почвенные микроорганизмы условно подразделяются на несколько групп.

Микроорганизмы, разлагающе свежий растительный опад, С. Н. Виноградский назвал зимогенной микрофлорой. В основном это бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. Если в почве мало лег-

коразлагаемых питательных веществ, зимогенные микроорганизмы переходят в покоящуюся форму или даже погибают.

Автохтонные микроорганизмы постоянно живут в почве, и численность их не зависит от поступления легкодоступных питательных веществ. Характерный представитель этой группы — бактерии рода *Arthrobacter*. Автохтонные микроорганизмы принимают активное участие в синтезе гумуса (автохтонная микрофлора А) и его распаде (автохтонная микрофлора Б).

Олиготрофные микроорганизмы — виды, способные усваивать питательные вещества из растворов с низкой концентрацией. Это бактерии родов *Microcycylus*, *Hyphomicrobium*, *Agrobacter*, *Caulobacter* и др.

Хемолитоавтотрофные бактерии — почвенные микроорганизмы, окисляющие неорганические субстраты. Группа включает нитрифицирующие, тионовые, водородные, железобактерии и др.

Почвы различаются по содержанию воды: слишком сухие и слишком влажные ограничивают рост и развитие микроорганизмов. Оптимальна для большинства микроорганизмов влажность, равная 50–60 % максимальной влагоемкости (наибольшего количества воды, которое почва может удерживать). Некоторые, например *Clostridium pasteurianum*, могут расти при 100 %-й влагоемкости почвы. Для микроорганизмов важна концентрация солей в почвенном растворе. Засоленные почвы беднее микроорганизмами, однако некоторые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* хорошо развиваются на субстратах с 20–30 % NaCl, некоторые почвенные микроорганизмы развиваются при высоких концентрациях минеральных солей (осмофильные).

Почвенные микроорганизмы очень чувствительны к изменениям pH среды: грибы лучше растут в кислой среде, а бактерии — в нейтральной или слегка щелочной. Изменение pH почвы вызывает изменения в популяциях почвенных микроорганизмов.

Из внешних факторов, существенно влияющих на развитие микроорганизмов в почве, основным является температура. Лучше всего почвенные микроорганизмы развиваются при температуре 15–25 °С, но могут встречаться термофильные (оптимум 50 °С) и криофильные, развивающиеся при температуре, близкой к 0 °С. Микроорганизмы обитают главным образом в профиле, отличающемся большой амплитудой колебаний температур, зависящей от времени года, характера местности и даже от времени суток, от

температуры воздуха, поэтому почвенные микроорганизмы обладают большой пластичностью в отношении температур.

Важнейшее свойство почвы, плодородие, определяет ее очевидную значимость как основного средства сельскохозяйственного производства. Кроме этого она участвует во всех важнейших процессах функционирования наземных экосистем и биосферы в целом (от обеспечения ресурсами и пространством всей наземной растительности до поддержания параметров атмосферы и гидросферы включая проблемы «парниковых» газов, чистых поверхностных и грунтовых вод, устранения ксенобиотиков). Во всех этих процессах ключевую роль играют микроорганизмы, которые обитают в почве и выполняют многообразные экосистемные функции.

Интерес к почвенным микроорганизмам во многом определяется их исключительной ролью в формировании качества почвы как способности почвенной биосистемы в заданных пространственных границах поддерживать продуктивность растений и животных, сохранять приемлимое качество воды и воздуха, а также обеспечивать здоровье людей, животных и растений.

ВЗАИМОТНОШЕНИЯ РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ

Микробно-растительные взаимодействия

Микробно-растительные взаимодействия являются основой поддержания жизни на планете. Растения поставляют кислород и продукты питания для человека, животных и существенной части микромира. Микроорганизмы осуществляют возврат питательных элементов для растений, разлагая и потребляя в качестве субстратов как отмершие растения, так и зачастую живые.

В последнем случае мы имеем дело с паразитизмом микроорганизмов на растениях.

В целом же микроорганизмы и растения успешно сосуществуют вместе. Более того, именно совместное развитие бактерий рода *Rhizobium* и растений семейства бобовых, а также микоризных грибов и разнообразных растений – распространенный пример симбиоза.

Двигателем в познании микробно-растительных взаимодействий была и является фитопатология, где накоплен огромный материал о микробно-растительных взаимодействиях.

О важности проблемы микробно-растительных взаимодействий можно судить по наличию многочисленных научно-исследовательских кафедр, лабораториях, институтов и компаний, занимающихся проблемой микробно-растительных взаимодействий, и в частности защитой растений от действия на них грибов, бактерий, вирусов и простейших.

При систематизации микробно-растительных взаимодействий необходимо отметить уровни способов взаимодействия с точки зрения организации материи.

Наиболее важным является химический уровень взаимодействий. На этом уровне имеют место такие взаимодействия, как «узнавание» хозяина, обмен «информацией», восприятие или отторжение организмов и др.

Физический уровень – это физический контакт микроорганизмов и растений.

Биологический уровень – это и молекулярно-генетический уровень взаимодействий, и клеточный уровень. Клеточный уровень по отношению к микроорганизмам является уже и организменным.

Клеточный уровень взаимодействий по отношению к микроорганизмам трудно отделим от популяционного уровня.

Микроорганизмы в жизни растений выполняют функцию средооброзования и общего питания. Они осуществляют разложение и минерализацию растительных остатков и органического вещества в целом, высвобождая и возвращая в почву минеральные элементы, необходимые для роста растений, а в атмосферу – CO₂ и некоторые другие газы.

Микроорганизмы продуцируют стимуляторы роста и токсические для растений вещества и др.

Микроорганизмы фактически создают почву. Важность их для растений весьма велика. Бактерии играют ключевую роль в обеспечении экосистем азотом. Активными и наиболее изученными азотфиксаторами являются азотфиксирующие бактерии. Помимо таких облигатных компонентов, в настоящее время выявлено много бактерий, которые не являются активными азотфиксаторами, но обладают этой способностью. Существенную роль микроорганизмы, а именно грибы играют в обеспечении растений фосфором. Грибы образуют корни растений с образованием микоризы.

Микроорганизмы и растения.

В ризосфере (зоне, окружающей корни) многих растений часто бывает больше бактерий, чем в остальной почве. По-видимому, росту бактерий способствуют здесь питательные вещества, выделяемые корнями. Полезность для растений этой довольно слабой ассоциации трудно установить. Но все же, поскольку многие почвенные бактерии выполняют важные для растений функции, например связывают азот или делают легко усвояемыми труднорастворимые питательные соли, можно думать о мутуалистических отношениях. В последние годы азотфиксаторами были признаны некоторые бактерии, постоянно сопутствующие определенным травянистым растениям (бактерия *Azotobacter paspali* в ризосфере *Paspalum notatum*; *A. zospirillum lipoferum* в прикорневой области *D. digitaria* и кукурузы).

У многих растений существует тесная ассоциация корней с грибами и - микориза. Многие почвенные грибы, в том числе агариковые, могут проникать в корни растений и внедряться в их клетки; при этом они стимулируют рост корней, выделяя ауксины. Опытные грибники знают, что некоторые съедобные грибы растут только вблизи определенных видов деревьев (ель, лиственница, сосна, дуб), которые в микоризе играют роль растения-хозяина. Гриб, проникший в клетки

корневой коры, образует в ней разветвления в виде пузырьков и веточек (везикулярно-арбускулярная микориза). Польза такой ассоциации для гриба состоит в том, что он получает от растения продукты ассимиляции, а для растения - в более эффективном поглощении минеральных веществ (фосфата, связанного азота) из почвы.

Мы уже рассматривали ассоциацию растений с азотфиксирующими эндо- или эктосимбиотическими бактериями. Симбиоз видов *Rhizobium* с клетками бобовых растений в корневых клубеньках относится к наиболее дифференцированным симбиотическим взаимоотношениям. Он служит прекрасным примером развития тесной ассоциации внутриклеточного симбионта с клеткой-хозяином; это один из важнейших фактов, подкрепляющих гипотезу об эндосимбиотическом происхождении некоторых клеточных органелл.

Микробно-растительные взаимодействия в ризосфере и ризоплане

Пространство и почву, окружающие формирующийся корень называют ризосферой. Считается, что первое определение понятия ризосферы было дано Хилтнером в 1904 году.

В настоящее время под ризосферой понимают пространство вокруг корня от 0 до 2 – 8 мм в диаметре, в котором имеет место более обильное развитие микроорганизмов из-за стимулирования их роста корневыми экссудатами (выделениями). Пространство ризосферы иногда называют еще эндоризосферой, включая в это понятие и ткани самого корня в противовес ризоплане, под которой понимают только то, что находится непосредственно на поверхности на поверхности корня и прикреплено к корню.

Общую численность микроорганизмов в ризосфере назвать очень трудно. Она зависит от типа почвы, растения и других факторов и может колебаться от миллионов до сотен миллиардов клеток на грамм сухой почвы.

Rizosfera

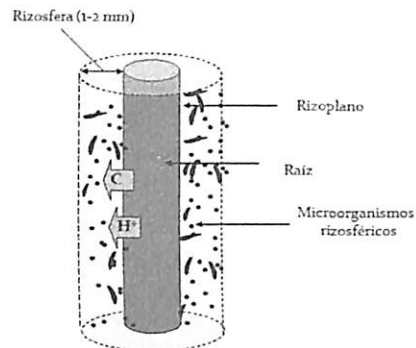


Рис.21. Расположение ризосферных микроорганизмов возле корня

Микробно-растительные взаимодействия в филлосфере и филлосфере

Пространство окружающее надпочвенную поверхность растения, включая ткани этого растения называют филлосферой, а поверхность растения филлопланой.

Микроорганизмы, колонизирующие надземные поверхности растений, называют иногда эпифитными микроорганизмами. Количество микроорганизмов, обнаруживаемых на поверхности листьев, иногда может достигать 108 клеток на грамм свежих листьев, или 106 на 1 см².

Численность и разнообразие микроорганизмов существенно зависят от вида растения и его местообитания, климата и других факторов. Имеются различия в микробном сообществе верхней и нижней стороны листа. Важную роль играют свет и температура.

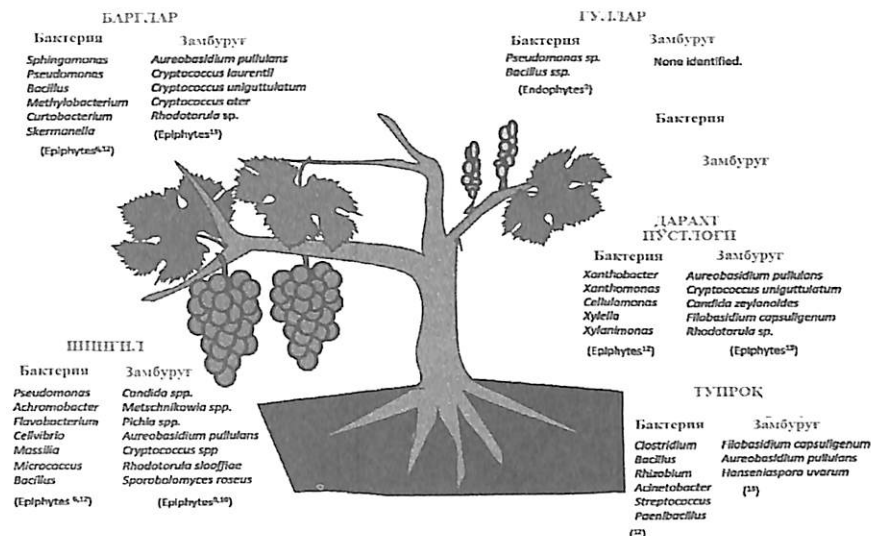


Рис.22. Эпифитная микробиота

Выявление состава ризосферной и эпифитной микробной биоты

Чаще применяется при изучении состава грибов. Большинство почвенных микроорганизмов аккумулируется вблизи корней растений. С поверхности корней растений и почвы, находящейся в непосредственной близости от них, микроорганизмы изолируют методом водных смывов. Этот метод приемлем и для выделения микроорганизмов с поверхности листьев, растительных остатков.

С корней или других растительных остатков осторожно стряхивают почву, 10 г которой, а в случае корней, ножницами, предварительно погруженными в банку со спиртом и обожженными над пламенем горелки, разрезают корни на отрезки 3-5 см, которые стерильным пинцетом переносят (обычно по 3-4 отрезка) в заранее подписанные колбы содержащие 90 мл стерильной воды и встряхивают 5 мин. Затем по 1 мл полученной суспензии высевают в чашки, предварительно подготовив нужное разведение. Суспензию 3 или 4 разведения разливают в 3 или 4 чашки Петри по 1 мл в каждую, заливают расплавленной, но охлажденной агаризованной питательной средой и перемешивают легкими покачиваниями до остывания агара. После этого чашки Петри ставят в термостат для инкубации. Оставшуюся в колбе водную суспензию почвы осто-

рожно отфильтровывают через взвешенный и надписанный бумажный фильтр, который высушивают до постоянной массы для определения сухой массы почвы смытой с поверхности корней.

Антибиотическая активность микроорганизмов

В естественных условиях обитания микроорганизмы существуют не изолированно друг от друга, а образуют сложные сообщества (микробценозы), в которых находятся в различных взаимоотношениях. Одним из широко распространенных типов взаимоотношений микроорганизмов является антагонизм, или антагонистические взаимоотношения, при которых один микроорганизм оказывает отрицательное воздействие на другой, задерживая его рост или вызывая полную гибель.

Антагонистическое действие вызывается большей частью тем, что один организм выделяет в окружающую среду продукты своей жизнедеятельности, оказывающие тормозящее влияние на развитие другого организма вплоть до его гибели. Такие вещества различной химической природы, образующиеся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов и обладающие способностью отрицательно воздействовать на другие микроорганизмы, получили название антибиотиков, или антибиотических веществ.

Продуцентами антибиотических веществ являются многие растительные и животные организмы, но наибольшее значение имеют микроорганизмы: бактерии, актиномицеты и грибы. Микроорганизмы-антагонисты широко распространены в природе, главным образом в почве, богатой органическими веществами, откуда были выделены наиболее активные из них (например, *Actinomyces globisporus* продуцент стрептомицина). В настоящее время многие антибиотики получены в чистом виде и находят широкое применение как в медицине и ветеринарии для лечения человека и животных, так и в фитопатологии в борьбе с грибными и бактериальными болезнями культурных растений.

МИКРОБИОЛОГИЯ ВОДЫ, ВОЗДУХА И СЫРЬЯ

Микробиота воды

Задачей водной микробиологии является изучение микроорганизмов, а также микробиологических процессов в пресных и соленых водоемах. Типичными водными экосистемами являются океаны, моря, озера, пруды и проточные водоемы. Вода – естественная среда обитания микроорганизмов. Микрофлора природных вод различается по качественному и количественному составу. В большинстве это сапротрофы, но могут встречаться патогенные и условно патогенные виды.

Водные микроорганизмы играют ключевую роль в жизни водоемов, осуществляя замкнутые циклы основных биогенных элементов (C, N, S, P, Fe и др.) и могут быть подразделены на три основные категории: планктон – основные организмы водной толщи; гаптобентос – микроорганизмы приклепляющиеся к плавающим частичкам и водным растениям, и перифитон, включающий бентосные микроорганизмы, обитающие непосредственно в донных осадках.

В состав сообществ входят *продуценты* (микроводоросли, цианобактерии, фото- и хемоавтотрофные бактерии), *деструкторы* (большинство бактерий и грибов), а также *консументы* – простейшие, присутствующие в водных системах в разных пропорциях.

В воде формируются определенные биоценозы, адаптировавшиеся к условиям местонахождения, т.е. физико-химическим условиям, освещенности, температуры, степени растворимости кислорода и диоксида углерода, содержания органических и минеральных веществ и т.д.

Условия существования микроорганизмов в сравнительно небольших озерах существенно отличаются от таковых в масштабных по площади и глубоководных морях и океанах. Объектами исследования водных микробиологов являются также реки, подземные воды и термальные источники. Все эти водные экосистемы весьма специфичны и имеют различные микробные сообщества.

Каждый водоем имеет характерные особенности распределения микроорганизмов как по вертикали, так и по горизонтали. В количественном отношении содержание их достаточно велико. В морской воде и в пресноводных водоемах от 10 млн. до 3 млрд. клеток в 1 мл. Основная масса расположена в прибрежных зонах. На

глубине 1 км встречаются единичные представители, а до 4 км они практически отсутствуют.

Подземные воды, родниковые и воды глубоких артезианских колодезей содержат единичные микробные клетки. Подземные воды обычных колодезей содержат значительное количество микроорганизмов; чем ближе к поверхности расположены грунтовые воды, тем обильнее их микрофлора.

В водах пресных водоемов обнаруживаются палочковидные, кокковидные и извитые бактерии. Загрязнение воды органическими веществами сопровождается увеличением анаэробных и аэробных бактерий, а также грибов. Особенно много анаэробов в иле, на дне водоемов. Микрофлора воды выполняет роль активного фактора в процессе самоочищения ее от органических отходов, которые утилизируются микроорганизмами.

Состав микрофлоры и микрофауны в водоеме служит хорошим индикатором степени его загрязнения.

После установления общего микробного числа определяют бактерии группы кишечной палочки. По международному стандарту вода считается превосходной, когда в 100 мл воды нет ни одной кишечной палочки; удовлетворительной – одна–три кишечные палочки; сомнительного качества – четыре–десять и неудовлетворительного качества – более десяти кишечных палочек.

Кишечные палочки в санитарной микробиологии воды используются в качестве: показателя чистоты; индикатора фекального загрязнения воды; косвенного показателя загрязнения воды патогенными микроорганизмами – возбудителями кишечных инфекций.

Интенсивность и направленность микробиологических процессов зависит от температуры и содержания в воде молекулярного кислорода. В зависимости от количества кислорода в водоемах выделяют три зоны.

1. Аэробная – поверхностная зона, содержит много кислорода. Ее населяют водоросли и микроорганизмы, осуществляющие процессы минерализации: *Pseudomonas*, *Artrobacter*, миксобактерии. Толщина слоя зависит от количества органики. Если органических веществ мало, то аэробы растут медленно, кислород проходит вглубь и зона увеличивается. Если органики много, то происходит быстрый рост микроорганизмов и кислород не проходит.

2. Анаэробная – содержит мало кислорода. Обитают факультативные и облигатные анаэробы. Нет процесса нитрификации – вы-

деляется аммиак, вода бедна нитратами. Выделяется много метана. Если содержится много сульфатов, то образуется сероводород. Если мало сульфатов, то сероводород образуется за счет расщепления серосодержащих аминокислот. В этой зоне обнаруживаются пурпурные и зеленые серобактерии, сульфатредуцирующие бактерии, можно найти формы, обладающие газовыми вакуолями, такие как *Lamprocystis*, *Amoebobacter*, *Thiodictyon*, *Thiopedia*, *Pelodictyon* и *Ancalochloris*, а также передвигающиеся с помощью жгутиков виды *Chromatium* и *Thiospirillum*.

3. Микроаэрофильная – промежуточная между первой и второй. Сверху немного кислорода, снизу – метан, аммиак, окислы металлов. Обитают хемолитоавтотрофы: водород-, метан-, железоокисляющие бактерии. Для зоны также характерна высокая биологическая активность. Здесь развиваются некоторые цианобактерии, способные переносить присутствие сероводорода и отсутствие O₂, в том числе *Oscillatoria limnetica*.

В водоеме можно найти почти всех представителей систематических и физиологических групп бактерий. Их можно подразделить на *аллохтонные*, поступающие извне, и на *автохтонные*, которые составляют собственную микрофлору экосистемы. Последние приспособлены к экологическим условиям конкретного водоема.

Сапробность – комплекс особенностей водоема, отличающихся степенью загрязненности органическими веществами и определяющих развитие соответствующих организмов в воде. Различают три типа сапробности.

1. Полисапробная зона – сильно загрязненная, характеризуется большим количеством высокомолекулярных органических соединений, незначительным содержанием кислорода. Преобладают анаэробные бактерии, вызывающие гниение и брожение. В 1 мл воды содержится несколько миллионов бактерий.

2. Мезосапробная зона – умеренно загрязненная. Идут интенсивные процессы минерализации, но преобладают окислительные процессы. За счет минерализации органических веществ уменьшается количество сапротрофных бактерий. В этой зоне содержатся аммиак и метан.

3. Олигосапробная зона – зона чистой воды, органических веществ нет, окислительные процессы прекращаются. Численность бактерий снижается до 10–100 кл/мл.

Микробиота воздуха

Воздух не является местом обитания микроорганизмов, но служит местом их повсеместного распространения: там, куда поступает воздух, могут быть и микроорганизмы. Обилие солнечных лучей приводит к их массовой гибели, а отсутствие источников питания исключает возможность размножения. Однако в атмосфере всегда содержится определенное количество жизнеспособных клеток, которые вместе с пылью поднимаются в воздух, а затем вновь оседают на поверхность земли. Повсеместное распространение микроорганизмов воздушными потоками составляет часть так называемой микробиологии атмосферы.

Фактор географической изоляции, столь важный для животных и растений, для бактерий и грибов практически не имеет значения.

В воздухе обнаруживаются кокковидные и палочковидные бактерии, бациллы и клостридии, актиномицеты, грибы и вирусы. Много микроорганизмов содержится в воздухе закрытых помещений, микробная обсемененность которых зависит от степени уборки помещения, уровня освещенности, количества людей в помещении, частоты проветривания и др.

Большое количество микроорганизмов присутствует в воздухе крупных городов, меньшее – в воздухе сельской местности. Особенно мало микроорганизмов в воздухе над лесами, горами и морями.

В составе твердых частиц в аэрозолях всегда присутствуют микроорганизмы. Над сушей это главным образом споры грибов, над морем – преимущественно бактерии. В воздухе над крупными городами микроорганизмов гораздо больше, чем в сельской местности или в лесу; летом больше, чем зимой. Особенно чистый воздух над морями, горами, ледяными полями Арктики и Антарктиды, где в 1 м³ воздуха содержатся единичные клетки

Количество микроорганизмов в воздухе уменьшается по мере удаления от поверхности земли. Верхняя граница жизни пока не установлена. Видовой состав микрофлоры атмосферы носит случайный характер и потому сильно колеблется. Среди микроорганизмов преобладают пигментные формы стрептококков, сарцин и дрожжей, которые более устойчивы (за счет наличия каротиноидов) к ультрафиолетовым лучам, а также споры бактерий и грибов.

Очень богат микроорганизмами воздух закрытых помещений, особенно таких, где неизбежно массовое хождение людей, сопровождающееся поднятием пыли. Например, в школах до занятий

численность бактерий обычно не превышает 2 тыс. в 1 м³, а после занятия – десятки тысяч.

В воздухе жилых помещений, поликлиник и больниц обнаруживаются в значительном количестве болезнетворные микроорганизмы, которые неустойчивы к действию света и высушиванию, поэтому большинство из них гибнет. Однако туберкулезные палочки, патогенные стрептококки и стафилококки хорошо переносят высушивание, в связи с этим воздух может быть источником инфекционных заболеваний.

Санитарно-показательными микроорганизмами для оценки чистоты воздуха служат гемолитические стрептококки и стафилококки – постоянные обитатели верхних дыхательных путей, слизистой носа и ротовой полости человека. Это *Streptococcus viridans* – зеленящий стрептококк, *Streptococcus haemolyticus* – гемолитический стрептококк и *Staphylococcus aureus* – золотистый стафилококк.

Воздух считается чистым, если в 1 м³ воздуха содержится летом не более 4 стрептококков, зимой – не более 16.

Загрязненным воздух считается, если в 1 м³ воздуха содержится летом более 32 стрептококков, зимой – более 56. Золотистый стафилококк используется в качестве санитарно-показательного микроорганизма в хирургических палатах и родильных домах. В 250 л воздуха не должно содержаться ни одного стафилококка

ЗНАЧЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Широкое распространение микроорганизмов свидетельствует об их огромной роли в природе. При их участии происходит разложение различных органических веществ в почвах и водоемах, они обуславливают круговорот веществ и энергии в природе; от их деятельности зависит плодородие почв, формирование каменного угля, нефти, многих других полезных ископаемых. Микроорганизмы участвуют в выветривании горных пород и прочих природных процессах.

Многие микроорганизмы используют в промышленном и сельскохозяйственном производстве. Так, хлебопечение, изготовление кисломолочных продуктов, виноделие, получение витаминов, ферментов, пищевых и кормовых белков, органических кислот и многих веществ, применяемых в сельском хозяйстве, промышленности и медицине, основаны на деятельности разнообразных микроорганизмов. Особенно важно использование микроорганизмов в растениеводстве и животноводстве. От них зависит обогащение почвы азотом, борьба с вредителями сельскохозяйственных культур при помощи микробных препаратов, правильное приготовление и хранение кормов, создание кормового белка, антибиотиков и веществ микробного происхождения для кормления животных.

Микроорганизмы оказывают положительное влияние на процессы разложения веществ не природного происхождения - ксенобиогенов, искусственно синтезированных, попадающих в почвы и водоемы и загрязняющих их.

Наряду с полезными микроорганизмами существует большая группа так называемых болезнетворных, или патогенных, микроорганизмов, вызывающих разнообразные болезни сельскохозяйственных животных, растений, насекомых и человека. В результате их жизнедеятельности возникают эпидемии заразных болезней человека и животных, что сказывается на развитии экономики и производительных сил общества.

Последние научные данные не только существенно расширили представления о почвенных микроорганизмах и процессах, вызываемых ими в окружающей среде, но и позволили создать новые отрасли в промышленности и сельскохозяйственном производстве. Например, открыты антибиотики, выделяемые почвенными микроорганизмами, и показана возможность их использования для

лечения человека, животных и растений, а также при хранении сельскохозяйственных продуктов. Обнаружена способность почвенных микроорганизмов образовывать биологически активные вещества: витамины, аминокислоты, стимуляторы роста растений - ростовые вещества и т.д. Найдены пути использования белка микроорганизмов для кормления сельскохозяйственных животных. Выделены микробные препараты, усиливающие поступление в почву азота из воздуха.

Открытие новых методов получения наследственно измененных форм полезных микроорганизмов позволило шире применять микроорганизмы в сельскохозяйственном и промышленном производстве, а также в медицине. Особенно перспективно развитие генной, или генетической, инженерии. Ее достижения обеспечили развитие биотехнологии, появление высокопродуктивных микроорганизмов, синтезирующих белки, ферменты, витамины, антибиотики, ростовые вещества и другие, необходимые для животноводства и растениеводства продукты.

Использование микроорганизмов для получения кормового белка и незаменимых аминокислот

Корма, содержащие недостаточно протеина, незаменимых аминокислот и витаминов, неэффективны и невыгодны. В условиях интенсивного ведения хозяйства важно не только обеспечить достаточное производство кормов, но и получать корма с высоким содержанием белка и сбалансированные по аминокислотному составу. Белковый и аминокислотный обмен различны у жвачных и нежвачных животных. У последних желудок однокамерный, и микроорганизмы желудочно-кишечного тракта проявляют активность в кишечнике. Существенные синтетические процессы микробиологического характера в желудке нежвачных животных не протекают. Под влиянием желудочного сока здесь из белков корма образуются аминокислоты и осуществляется реакция переаминирования. Однако такие незаменимые аминокислоты, как лизин, треонин, аргинин, в результате переаминирования не синтезируются вовсе или синтезируются в таком малом количестве, что не имеют практического значения. Поэтому для нежвачных животных перечисленные аминокислоты в необходимых количествах должны присутствовать в пищевом рационе. Жвачные животные менее требовательны к полноценности белков корма, так как обитающая в их преджелудках бо-

гатая микрофлора синтезирует даже из простых, содержащих азот веществ все аминокислоты, в том числе и незаменимые. Микроорганизмы синтезируют белок в своих клетках, после отмирания которых аминокислоты освобождаются и становятся достоянием животного-хозяина.

Указанная особенность жвачных животных позволяет для частичного восполнения дефицита белков использовать в их рационе содержащие азот простые химические вещества — мочевину и соли аммония. В рубце жвачных животных микроорганизмы синтезируют в больших количествах глутамин, глутаминовую кислоту, глицин и валин. Последние транспортируются в печень для синтеза других аминокислот.

В существующих кормовых рационах далеко не всегда достаточно белка, необходимых аминокислот и витаминов. Поэтому необходимо вводить эти вещества в корм в виде тех или иных препаратов, в частности полученных с помощью микроорганизмов. Внимание ученых привлекает вопрос получения кормового белка путем микробного синтеза.

Производство нитрагина и ризоторфина

Отечественная промышленность выпускает два вида препаратов клубеньковых бактерий: нитрагин и ризоторфин. Оба препарата производятся на основе активных жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium*. Эти бактерии в симбиозе с бобовыми культурами способны фиксировать свободный азот атмосферы, превращая его в соединения, легкоусвояемые растением.

В общем, схему производства бактериальных удобрений можно свести к следующим стадиям:

- 1) Подбор чистой культуры бактерий и внесение ее в благоприятную среду.
- 2) Культивирование со значительным наращиванием биомассы.
- 3) Выделение и выпуск готового продукта.

Роль микроорганизмов в плодородии почвы

Почва является основным средством производства в сельском хозяйстве. Все продукты сельского хозяйства состоят из органических веществ. Их синтез происходит в растениях под воздействием солнечной энергии. Разложение органических остатков и синтез новых соединений протекает при воздействии ферментов,

выделяемых разными ассоциациями микроорганизмов. При этом наблюдается непрерывная смена одних ассоциаций микробов другими.

Основными поставщиками питательных веществ для растений являются аэробные микроорганизмы, которым необходим кислород. Поэтому увеличение рыхлости, водопроницаемости и аэрации почвы ускоряют рост растений и увеличивает их урожайность.

Однако растениям для нормального роста и полноценного развития необходимы не только макроэлементы, такие как калий, азот и фосфор. Им также нужны микроэлементы, например: селен, который выступает как катализатор биохимических реакций и без которого растения не в состоянии сформировать хорошую иммунную систему.

Поставщиками микроэлементов являются анаэробные микроорганизмы. Это микроорганизмы, которые живут в более глубоких почвенных пластах и для которых кислород — яд. Анаэробные микроорганизмы способны по пищевым цепям поднимать необходимые растениям микроэлементы из глубинных слоев почвы.

Микроорганизмы в почве образуют сложный биоценоз, в котором находятся между собой в сложных отношениях. Одни из них успешно сосуществуют, а другие являются антагонистами (противниками). Антагонизм их обычно проявляется в том, что одни группы микроорганизмов выделяют специфические вещества, которые тормозят или делают невозможным развитие других.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

В современных условиях развития сельского хозяйства особую актуальность приобретает использование не только традиционных химических удобрений, но и микробиологических препаратов.

Микробиологические препараты известны довольно давно, однако их эффективность недостаточна для того, чтобы заменить ими химические удобрения. Классическими микробиологическими удобрениями являются азотобактерин и автохтонная микрофлора Б (АМБ).

Азотобактерин (азотоген) - представляет собой культуру свободноживущего азотфиксирующего аэробного микроорганизма из рода *Azotobacter*. Внесение этого препарата в почву вместе с высеваемыми семенами усиливает развитие азотобактера в зоне корня (ризосфере), что способствует улучшению роста посева. Препарат способен продуцировать биологически активные вещества (витамины и стимуляторы роста), а также вырабатывает фунгистатическое вещество, угнетающее развитие микроскопических грибов, которые задерживают рост растений. Установлено, однако, что для полевых культур азотобактерин малоэффективен. Это связано с тем, что азотобактер может развиваться лишь в хорошо окультуренных почвах и погибает в недостаточно плодородных.

Автохтонная микрофлора Б содержит группу почвенных бациллярных микроорганизмов, вызывающих минерализацию почвенного перегноя с образованием веществ, доступных для питания растений. Препарат был предложен Н. М. Лазаревым для активации биодинамики окультуриваемых почв северной зоны. При компостировании торфа в нем развивается весьма разнообразный микробный ценоз, в состав которого входят аммонификаторы, целлюлозоразрушающие, автохтонные микроорганизмы и др. В связи со сложностью изготовления использование препарата ограничено.

В настоящее время разработаны новые подходы к применению микробных препаратов, в основе которых лежит стимуляция микробно-растительных взаимодействий. Этот процесс был изучен в ассоциациях бобовых растений с клубеньковыми бактериями, которые относятся к азотфиксирующим микроорганизмам.

В зависимости от взаимоотношений с растениями азотфиксирующие микроорганизмы можно разделить на свободноживущие в почве, клубеньковые (симбиотические азотфиксаторы) и ассоциа-

тивные, среди которых различают ризосферные (корневые) и филлосферные (листовые), не образующие выраженных морфологических структур. Клубеньковые бактерии - граммотрицательные аэробные подвижные палочки. Чистая культура клубеньковых бактерий была выделена М. Бейеринком в 1888 г. Типовой вид - *Rizobium leguminosarum*. По специфичности взаимоотношений с растением-хозяином, а также по некоторым другим признакам различают ряд других видов (*R. galegae*, *R. loti*, *R. meliloti* и др.). Их характерной особенностью является способность проникать в корневые волоски бобовых растений семейства *Leguminosae*, что вызывает образование корневых клубеньков, внутри которых эти бактерии присутствуют как внутриклеточные симбионты. В корневых волосках бактерии образуют бактериоиды - специфические формы бактерий рода *Rizobium*, окруженные мембранами растительного происхождения. Живущие в почве бактерии рода *Rizobium* прикрепляются к корневым волоскам растения-хозяина, вызывают их деформацию, скручивание и формирования инфекционной нити. При симбиозе с растением клубеньковые бактерии усваивают атмосферный азот и переводят его в соединения, доступные растению. Свою нужду в пище и энергетическом материале они покрывают за счет веществ, образующихся в результате фотосинтеза в растении, а также за счет других веществ корня. Ассимилированный же бактериями азот в значительных количествах передается растению. После запашки пласта, занятого посевом бобовых или травосмесью, в которой они являются составной частью, почвенный слой обогащается легкоминерализуемыми соединениями азота. Полезные последствия выращивания бобовых растений отмечаются в течение нескольких лет.

Клубеньковые бактерии обладают избирательностью по отношению к растению-хозяину. Из 16 групп клубеньковых бактерий выделяют основные группы (по растениям-хозяевам), характерные для аридных почв Астраханской области: гороха, вики, чины, люцерны, донника, фасоли и солодки. Бактерии этих растений отличаются друг от друга и рядом морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков.

Расположение клубеньковых бактерий на корнях различных бобовых растений неодинаково. У одних клубеньки образуются в виде небольших вздутий на различных разветвлениях корней и на корневых мочках; у других они имеют вид крупных бородавчатых наро-

стов на главном корне. Форма и размер клубеньков у разных видов бобовых растений также различна: у клевера они продолговатые и очень мелкие, у гороха и вики - округлые и крупнее, у сои и фасоли их диаметр равен примерно 1 см, а на корнях нута эти разрастания имеют многочисленные выросты и толщину в несколько сантиметров.

В случае ассоциативного симбиоза на корнях растений не создается новых видимых структур, однако на поверхности корней в строго определенных местах формируются колонии ризосферных бактерий, которые способны обеспечить для растений целый ряд полезных функций. Среди них:

- ассоциативная азотфиксация в размере до 50 кг азота на гектар в год;

- выработка растительных гормонов, которые позволяют ускорить рост корневой системы и тем самым обеспечить растению успех в захвате необходимой площади питания, а также регулировать развитие растений;

- оптимизация усвоения фосфорных труднодоступных соединений;

- индукция системной реакции по защите от фитопатогенов;

- ограничение (биоконтроль) роста фитопатогенов на корнях растений с помощью таких механизмов, как выделение антибиотических соединений, растворение гифпатогенных грибов, конкуренция за места заселения на корнях, перехват питательных веществ, необходимых для развития водорослей и др.;

- подавление у растения стрессовых реакций;

- регулирование поступления в растения загрязнителей окружающей среды.

В последнее время для создания микробиологических препаратов на базе ассоциативных бактерий используются штаммы, которые способны к активному заселению корней, что создает условия для искусственного обогащения ризосферы небобовых растений (производственные культуры, такие как рис, пшеница, многолетние злаковые травы и др.) отобранными штаммами бактерий, способных к активному связыванию молекулярного азота. Наиболее доступным способом повышения уровня азотфиксации является внесение активных штаммов бактерий в ризосферу растений, что может достигаться путем прямой инокуляции семян или корней [8].

Всероссийским научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной микробиологии Российской сельскохозяйственной академии разработан ряд биопрепаратов на основе штаммов ризосферных микроорганизмов. В качестве субстрата для приготовления биопрепаратов применяется размолотый торф. Препарат имеет вид увлажненной сыпучей массы темного цвета без запаха, нерастворимой в воде. Влажность торфа при приготовлении препарата равна 45-55 %, к концу срока хранения допускается снижение содержания влаги до 40 %.

Ризоторфин - предназначен для обработки семян бобовых культур. Действующее начало - клубеньковые бактерии р. *Rizobium*, образующие на корнях растений клубеньки, где происходит процесс фиксации молекулярного азота из воздуха. Вследствие этого бобовые растения, инокулированные клубеньковыми бактериями, как правило, не нуждаются в азотных удобрениях. Агрономическая эффективность ризоторфина для бобовых культур составляет в среднем 10-30 %, дополнительный сбор белка - 2 ц/га.

Агрофил - создан на основе штамма, относящегося к роду *Agrobacterium*. Представляет собой порошковидный торфяной субстрат, обогащенный углеводами, витаминами, микроэлементами, инокулированный бактериями. Препарат находит широкое применение при выращивании овощей в условиях открытого и закрытого грунта. Повышает устойчивость к инфекционным заболеваниям и увеличивает урожайность, а также благоприятно влияет на корневую систему, улучшает всхожесть семян.

Мизорин - создан на основе штамма, относящегося к роду *Artrobacter* (*A. mysorens*, штамм 7). Представляет собой порошковидный торфяной субстрат, обогащенный питательными веществами. Обработка препаратом увеличивает всхожесть семян, стимулирует рост и повышает устойчивость растений к корневым гнилям и другим болезням. Мизорин выгодно отличается от остальных биопрепаратов определенной устойчивостью к недостатку влаги в почве. Повышает эффект ризоторфина на некоторых бобовых, стимулируя развитие симбиотического аппарата. Повышает содержание витамина С.

Экстрасол - создан на основе штаммов рода *Pseudomonas*. Эффективен при выращивании многих сельскохозяйственных культур. В 1 г торфяного препарата содержится не менее 6 млрд бактериальных клеток, в жидком - не менее 10 млрд в 1 мл. Препарат ис-

пользуется для повседневной обработки семян и клубней, для пролива почвы до и после высадки рассады, а также для внекорневой подкормки растений. Препарат способствует большему поступлению элементов минерального питания в растения, синтезирует ростовые и другие биологически активные вещества и образует соединения, снижающие активность фитопатогенных микроорганизмов.

Псевдобактерин-2 - жидкий биопрепарат защитного и стимулирующего действия на основе штамма *Pseudomonas* sp. BS 1393. Эффект защитного действия основан на способности данного штамма синтезировать ряд антибиотиков феназинового типа, подавляющих рост фитопатогенных грибов, а также способных продуцировать сидерофоры, связывающие железо и делающие его доступным для почвенных патогенов. Отмечена биологическая продуктивность против корневых гнилей, мучнистой росы, фитофтороза, парши, ризоктониоза, гельминтоспориоза, фузариоза, слизистого и сосудистого бактериоза, способствует прибавке урожая. Псевдобактерин-2 совместим с хитозаном, что дает возможность объединить технологии их применения и отказаться от паровой и химической стерилизации грунта.

Ризоаггин - создан на основе штамма, относящегося к роду *Agrobacterium* (*A. radiobacter*, штамм 204). Штамм хорошо приживается в ризосфере пшеницы, риса, ряда кормовых злаков и других сельскохозяйственных растений. Использование препарата позволяет получить больший урожай, увеличивает в зерне содержание протеина.

Биоплант-К - создан на основе *Klebsiella planticola*. Представляет собой торфяную массу, в 1 г препарата содержится не менее 4-10 млрд бактерий, влажность составляет 55-60 %. Предусмотрен выпуск препарата в жидкой форме. Препарат предназначен для повышения урожайности зерновых и овощных культур, а также некоторых кормовых трав. Бактерии препарата способны фиксировать атмосферный азот, синтезировать витамины и ростовые вещества.

Таким образом, инокуляция семян биопрепаратами комплексного действия положительно влияет на всхожесть, которая проявляется в зависимости от погодных условий, сопутствующих началу вегетации культуры. Биопрепараты оказывают положительное влияние на накопление биомассы растений в период вегетации. Эффективность инокуляции зависит от сортовых особенностей сельскохозяй-

ственных культур, вносимых минеральных удобрений, уровня плодородия почвы, погодных условий и вида штаммов, входящих в состав препарата [9].

К самым современным препаратам относятся микробиологические препараты группы экстрасол, разработанные Всероссийским НИИ сельскохозяйственной микробиологии ООО «Би-солби-Интер» на основе *Bacillus subtilis*:

БисолбиСан - биофунгицид. Препарат подавляет развитие таких болезней растений, как фитофтороз, фузариоз, гельминтоспориоз, мучнистая роса, церкоспороз, пероноспороз, черная ножка, корневые гнили и др.

БисолбиФит - микробиологическое удобрение для увеличения урожайности сельскохозяйственных культур. Улучшает питание растений, синтезирует ростостимулирующие вещества и витамины, фиксирует молекулярный азот и снабжает им растения, обладает антистрессовым действием.

БисолбиМикс - комплексное микробиологическое удобрение, содержащее грибы арбускулярной микоризы, ризобактерии, клубеньковые бактерии, улучшающие минеральное питание растений, фиксирующие азот атмосферы и блокирующие развитие фитопатогенных микроорганизмов. Выпускается в виде пудры и гранул. Применяется для внесения в почву и ризосферу растений с целью обогащения комплексом полезной микрофлоры.

БисолбиРиз - микробиологический препарат на основе клубеньковых бактерий. Применяется для обработки семян бобовых культур. Различные модификации данного препарата предназначены для разных бобовых культур.

БисолбиИнсект - микробиологический препарат, предназначенный для борьбы с насекомыми-вредителями.

Биоминеральные удобрения - представлены гранулами различных минеральных удобрений, которые опудриваются сухой формой препарата БисолбиСан. Минеральные удобрения, биологизированные таким образом, на 20-30 % лучше усваиваются растениями, а бактерии -продуценты препарата БисолбиСан не позволяют фитопатогенной микрофлоре использовать минеральное питание для собственного развития.

Использование сверхсовременных препаратов, созданных «Бисолби-Интер», обеспечивает разносторонний комплексный подход к получению качественного и хорошего урожая, если заранее

позаботиться о подготовке почвы путем применения различных препаратов в комплексе. Использование этих биологизированных удобрений позволяет также снизить норму их внесения на 30-40 % без снижения урожайности сельскохозяйственных культур. В связи с внесением в почву целого ряда разноплановых препаратов, созданных «Бисолби-Интер», крайне важно учитывать, что внесение такого комплекса способствует снижению закисления почвы.

Существует мнение, что в аридной зоне симбиоз между растениями и клубеньковыми бактериями встречается крайне редко. Изучение этого явления актуально и важно не только для доказательства существования симбиоза в аридной зоне, но и для изучения видового состава микроорганизмов, т. к. на этой основе могут быть разработаны новые микробиологические препараты, повышающие продуктивность данных почв.

ОСНОВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ.

Существенные успехи в фундаментальных исследованиях в области биохимии, молекулярной генетики и молекулярной биологии, достигнутые во второй половине текущего столетия, создали реальные предпосылки управления различными механизмами жизнедеятельности клетки. Сложившаяся благоприятная ситуация в биологии явилась мощным толчком в развитии современной биотехнологии, весьма важной области практического приложения результатов фундаментальных наук. Можно с уверенностью утверждать, что биотехнология является наиболее разительным примером того, как результаты, казалось бы "чистой науки", находят применение в практической деятельности человека.

Главными объектом биотехнологических исследований остается живая клетка, но центральное место в экспериментах занимают манипуляции с ДНК. Пользуясь методами генетической инженерии создаются искусственные структуры в виде рекомбинантных ДНК, осуществляют трансплантацию генов между разными видами микробных клеток, а также между клетками одно- и многоклеточными организмами.

Высшим достижением новейшей биотехнологии является генетическая трансформация, перенос чужеродных генов и других материальных носителей наследственности в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками.

Генная инженерия.

Главными объектом исследований остается живая клетка, но центральное место в экспериментах занимают манипуляции с ДНК. Пользуясь методами генетической инженерии создаются искусственные структуры в виде рекомбинантных ДНК, осуществляют трансплантацию генов между разными видами микробных клеток, а также между клетками одно- и многоклеточными организмами.

Высшим достижением новейшей биотехнологии является генетическая трансформация, перенос чужеродных генов и других материальных носителей наследственности в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками.

Генетическая инженерия возникла в 1972 г. В Станфордском университете США. Тогда лаборатория П.Берга получила первую

позаблаться о подготовке почвы путем применения различных препаратов в комплексе. Использование этих биологизированных удобрений позволяет также снизить норму их внесения на 30-40 % без снижения урожайности сельскохозяйственных культур. В связи с внесением в почву целого ряда разноплановых препаратов, созданных «Бисолби-Интер», крайне важно учитывать, что внесение такого комплекса способствует снижению закисления почвы.

Существует мнение, что в аридной зоне симбиоз между растениями и клубеньковыми бактериями встречается крайне редко. Изучение этого явления актуально и важно не только для доказательства существования симбиоза в аридной зоне, но и для изучения видового состава микроорганизмов, т. к. на этой основе могут быть разработаны новые микробиологические препараты, повышающие продуктивность данных почв.

ОСНОВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ.

Существенные успехи в фундаментальных исследованиях в области биохимии, молекулярной генетики и молекулярной биологии, достигнутые во второй половине текущего столетия, создали реальные предпосылки управления различными механизмами жизнедеятельности клетки. Сложившаяся благоприятная ситуация в биологии явилась мощным толчком в развитии современной биотехнологии, весьма важной области практического приложения результатов фундаментальных наук. Можно с уверенностью утверждать, что биотехнология является наиболее разительным примером того, как результаты, казалось бы "чистой науки", находят применение в практической деятельности человека.

Главными объектом биотехнологических исследований остается живая клетка, но центральное место в экспериментах занимают манипуляции с ДНК. Пользуясь методами генетической инженерии создаются искусственные структуры в виде рекомбинантных ДНК. осуществляют трансплантацию генов между разными видами микробных клеток, а также между клетками одно- и многоклеточными организмами.

Высшим достижением новейшей биотехнологии является генетическая трансформация, перенос чужеродных генов и других материальных носителей наследственности в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками.

Генная инженерия.

Главными объектом исследований остается живая клетка, но центральное место в экспериментах занимают манипуляции с ДНК. Пользуясь методами генетической инженерии создаются искусственные структуры в виде рекомбинантных ДНК, осуществляют трансплантацию генов между разными видами микробных клеток, а также между клетками одно- и многоклеточными организмами.

Высшим достижением новейшей биотехнологии является генетическая трансформация, перенос чужеродных генов и других материальных носителей наследственности в клетки растений, животных и микроорганизмов, получение трансгенных организмов с новыми или усиленными свойствами и признаками.

Генетическая инженерия возникла в 1972 г. В Станфордском университете США. Тогда лаборатория П.Берга получила первую

рекомбинантную (гибридную) ДНК. Она соединяла в себе фрагменты ДНК: фага лямбда, кишечной палочки и обезьяньего вируса SV40.

В основе генной инженерии лежит обусловленная последними достижениями молекулярной биологии и генетики возможность целенаправленного манипулирования с фрагментами нуклеиновых кислот.

К этим достижениям следует отнести:

- Установление универсальности генетического кода, т.е. включение одних и тех же аминокислот в белковую молекулу кодируются одними и теми же последовательностями в цепи ДНК;

- Успехи генетической энзимологии, представившей в распоряжении исследователя набор ферментов, позволяющих получить в изолированном виде отдельные гены или фрагменты нуклеиновой кислоты;

- Осуществлять *invitro* синтез фрагментов нуклеиновых кислот, объединять в единое целое полученные фрагменты.

По А.А. Баеву, генетическая инженерия — это конструирование *invitro* функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК), или иначе — создание искусственных генетических программ. Рекомбинантные ДНК придают организму новые генетические и другие свойства.

В конце 60-х годов многие исследователи считали, что молекулярные механизмы фундаментальных генетических процессов — репликации, транскрипции, трансляции, а также система их регуляции в основном изучены. Стройное, логичное здание молекулярной биологии, казалось, было в основном построено. Схема, показывающая строго однонаправленный поток генетической информации, ДНК —> РНК —> белок, была названа основной догмой молекулярной биологии и свидетельствовала о незыблемости возведенного здания. Правда, основные положения этой схемы были в основном показаны для кишечной палочки *Escherichiacoli*, которая является прокариотическим организмом, не имеющим истинного ядра. Однако логичность и простота схемы давала возможность считать ее универсальной для всего живого, в том числе и для эукариотических организмов, имеющих ядро, к которым относятся животные, растения и человек.

Однако, несмотря на несомненные успехи молекулярной биологии прокариот, геном сложных организмов был практически недоступен для анализа. Изучение общих биохимических свойств

клетки не давало надежды на установление деталей генетической организации: слишком велики были геномы эукариотических организмов и слишком сложно было проводить с ними какие-либо эксперименты. Для этого необходимо было, как минимум, научиться «разрезать» ДНК не в случайных, а в строго определенных местах, с точностью до одного нуклеотида. Возникла и другая проблема — невозможность определения последовательности нуклеотидов в ДНК. Не было выделено ни одного гена, не была расшифрована структура гена. Одна из причин такой ситуации заключается в том, что даже простейшие организмы содержат очень длинные молекулы ДНК (геном кишечной палочки составляет $4,2 \cdot 10^6$ нуклеотидных пар), а геном высших эукариот, в том числе растений и млекопитающих, содержит 10^9 — 10^{11} н. п. В геноме содержится несколько десятков тысяч генов.

Сейчас генетическая инженерия позволяет вводить в ядерный аппарат реципиента не только отдельные новые гены и регуляторные последовательности, исходно не присущие данному организму, но и получать новые формы организмов путем введения целых хромосом, отдельных оргanelл или слияния двух клеток.

Таким образом, изменение наследственных свойств организма с помощью генной инженерии сводится к конструированию из различных фрагментов нового генетического материала и введение его в реципиентный организм, создания условий для его функционирования и стабильного исследования.

ДНК и РНК

Нуклеиновые кислоты представляют собой последовательность химически связанных структурных единиц — *нуклеотидов* в состав которых входит азотистое основание (производное пиримидина или пурина), моносахарида пентозы и остатка фосфорной кислоты.

Нуклеиновые кислоты играют главную роль в передаче наследственных признаков (генетической информации).

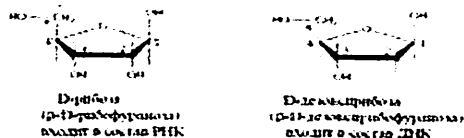
Нуклеиновые кислоты относят к одному из двух классов: РНК и ДНК.

При полном гидролизе РНК образуется пентоза D-рибоза, а при гидролизе ДНК образуется 2-дезоксид- D-рибоза. Неполный гидролиз нуклеиновых кислот дает нуклеотиды, которые могут

быть гидролизрованы до фосфорной кислоты и нуклеозидов. Нуклеозид – соединение азотистого основания и пентозы.

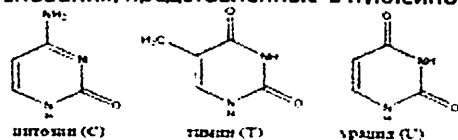
При гидролизе нуклеозида получают нуклеиновое основание и соответствующую пентозу.

1. Моносахарид пентоза:

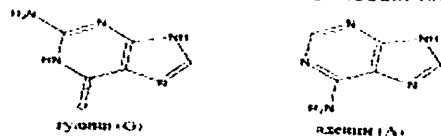


2. Азотистые основания:

Пиримидиновые основания, представленные в нуклеиновых кислотах:



Пуриновые основания представленные в нуклеиновых кислотах:



3. Остатки фосфорной кислоты – фосфатные группы

Три из азотистых оснований – аденин (A), гуанин (G) и цитозин (C) типичны для как для ДНК, так и для РНК. Тимин (T) входит только в состав ДНК, а урацил (U) – только в РНК.

В состав каждой нуклеиновой кислоты входит четыре основания:
Следовательно:

- ДНК содержит - аденин (A), гуанин (G), цитозин (C) и тимин (T);
- РНК содержит - аденин (A), гуанин (G), цитозин (C) и урацил (U).

Дезоксирибонуклеотиды в организме используются для образования ДНК.

Функции рибонуклеотидов более разнообразны. Основная их масса расходуется на образование РНК, а также выполняют роль коферментов в некоторых трансферазных реакциях.

Первичную структуру нуклеиновых кислот можно сравнить с буквенной записью, причем имеется не произвольное, а строго определенное чередование элементов – мономеров или букв.

Первичная структура РНК может быть записана:

AUAAGUCCGAUUAC

Запись структуры ДНК отмечается приставкой «d» (дезокси)

dAdTdAdAdGdTdCdCdGdAdTdTdAdC, или

d(ATAAGTCCGATTAC)

На этом основании нуклеиновые кислоты называют информационными молекулами. Чтобы получить такие молекулы, недостаточно смешать мономеры и обеспечить условия образования связи, необходима еще программа, определяющая последовательность присоединения разных мономеров к растущей цепи полимера. При биосинтезе новых молекул нуклеиновых кислот и белков носителей такой программы являются нуклеиновые кислоты, в этой роли их называют *матрицами*.

В 1953 году Джеймс Уотсон, Френсис Крик и Морис Уилкинс (Великобритания) предложили *модель строения ДНК*.

Основные характеристики:

1. Молекула ДНК построена из двух полинуклеотидных цепей, которые на всем протяжении связаны друг с другом водородными связями:

2. Водородные связи между цепями образуются за счет взаимодействия аденилового остатка одной цепи с тиминным остатком другой цепи (пара А ... Т) и гуанинового остатка одной цепи с цитозинным остатком другой цепи (пара С ... G). Основания образующие пару комплементарны друг другу.

3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК комплементарна первичной структуре другой цепи.

4. Обе цепи закручены в спираль. Цепи могут быть разделены только путем раскручивания. Пуриновые и пиримидиновые основания обращены внутрь спирали, а пентозофосфатные части располагаются по периферии.

Молекулы РНК, в отличие от ДНК, построены из одной полинуклеотидной цепи. Однако для этой цепи также обязательно правило комплементарности — А ... U, G ... C.

По особенностям структуры и функций различают три основных типа РНК: рибосомные РНК (р-РНК), транспортные РНК (т-РНК) и матричные РНК (м-РНК) или информационные РНК (и-РНК).

Методы генной инженерии

В генной инженерии применяются методы создания молекул ДНК путем соединения последовательностей, имеющих совершенно различное происхождение. Получаемый продукт называют **рекомбинантной ДНК**. Рекомбинантная ДНК содержит ген (или гены) и встраиваемый вектор.

Вектор — это фрагмент ДНК, обеспечивающий размножение ДНК и синтез конечных продуктов деятельности генетической системы. Векторами называются молекулы ДНК, способные акцептировать чужеродную ДНК и обеспечивающие ее репликацию, экспрессию и/или трансформацию (перенос в другие организмы). Таким образом, вектор позволяет осуществить введение в клетку дополнительной генетической информации. В качестве векторов используют, как правило, плазмиды, бактериофаги, мобильные элементы, вирусы животных.

Ферменты генетической инженерии — это ферменты, позволяющие проводить различные манипуляции с молекулами ДНК: разрезать в определенных местах, соединять различные по происхождению фрагменты, синтезировать новые, не существующие в природе последовательности, и т. д. Рассмотрим основные ферменты генетической инженерии.

ДНК-полимеразы. Одним из наиболее часто используемых в генетической инженерии ферментов является ДНК-полимераза I, выделенная из *E. coli* или фага Т4. ДНК-полимераза I обладает способностью удлинять цепь ДНК путем присоединения комплементарного нуклеотида. Это свойство ДНК-полимераз используется в генной инженерии для построения второй комплементарной цепи: при добавлении фермента к одноцепочечной ДНК-матрице в присутствии праймера произойдет ее удвоение. Это свойство используется, например, при создании кДНК-библиотек. ДНК-полимеразы применяются также для заполнения «бреши» в цепи ДНК, например,

при застраивании фрагментов. Экзонуклеазная активность ДНК-полимераз используется для введения радиоактивной метки во фрагмент ДНК.

Из некоторых вирусов была выделена специфическая ДНК-полимераза — РНК-зависимая ДНК-полимераза, названная обратной транскриптазой, или *ревертазой*. Ревертазы могут синтезировать комплементарную цепь ДНК на РНК-Матрице. С помощью ревертаз можно получать кДНК-ДНК-копии мРНК. кДНК позволяют изучать строение генов и идентифицировать полноценные копии этих генов в геноме.

ДНК-лигаза осуществляет одну функцию — соединение фрагментов ДНК путем восстановления фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами. Этот процесс называется лигированием. Наиболее часто для лигирования в генной инженерии используют ДНК-лигазу фага Т4. С помощью лигазы Т4 соединяют любые фрагменты ДНК с любыми концами: «липкими» или «тупыми». Это один из наиболее часто используемых ферментов. ДНК-лигаза осуществляет одну функцию — соединение фрагментов ДНК путем восстановления фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами. Этот процесс называется лигированием. Наиболее часто для лигирования в генной инженерии используют ДНК-лигазу фага Т4. С помощью лигазы Т4 соединяют любые фрагменты ДНК с любыми концами: «липкими» или «тупыми».

Отдельную группу, особенно с утилитарной точки зрения ее применения в генной инженерии, представляют специфические эндонуклеазы — *рестриктазы* часто используемых ферментов.

В основе метода, позволившего непосредственно приступить к манипуляциям с генами, лежит открытие ферментов, названных рестрикционными эндонуклеазами (рестриктазами). Еще в 1953 г. было обнаружено, что ДНК определенного штамма *E. coli*, введенная в клетки другого штамма (например, ДНК штамма Вв в клетки штамма С), не проявляет, как правило, генетической активности, так как быстро расщепляется на фрагменты ДНК специфическими ферментами — рестриктазами. К настоящему времени из разных микроорганизмов выделено более тысячи различных рестриктаз. В генетической инженерии наиболее широко используются около двухсот.

Рестриктазы представляют собой особый класс эндонуклеаз, которые гидролизуют ДНК строго по определенным специфическим последовательностям, называются *сайтами рестрикции*. Каж-

дая из рестриктаз узнает свой сайт рестрикции и разрезает ДНК либо внутри последовательности сайта рестрикции, либо в непосредственной близости от него. Таким образом, при действии конкретной рестриктазы одна и та же последовательность ДНК будет всегда образовывать одинаковый набор фрагментов. Обозначение рестриктаз складывается из начальных букв латинского названия вида бактерий, из которого был выделен фермент, и дополнительного обозначения, так как из бактерий одного вида может быть выделено несколько различных рестриктаз: *Escherichiacoli* — *EcoRI*, *EcoRV*, *Haemophilusinfluenzae* — *HinfI*, *Sreptomycosalbus* — *Sall*, *Thermusaquaticus* — *TaqI*.

Рестриктазы делятся на несколько типов по характеру расщепления нуклеотидной последовательности. Рестриктазы I типа узнают сайт рестрикции, но расщепляют последовательность ДНК на произвольном расстоянии (от нескольких десятков до нескольких тысяч пар нуклеотидов) от сайта узнавания. Такие рестриктазы невозможно использовать для решения генно-инженерных задач. Рестриктазы III типа похожи на рестриктазы I типа, они гидролизуют ДНК на расстоянии 20—35 н. п. от сайтов узнавания и также довольно редко используются для практических целей.

Ферменты, используемые для получения рекомбинантных молекул, — рестриктазы II типа. Основной характеристикой таких рестриктаз является то, что у них сайты узнавания и места рестрикции совпадают. Обычно рестриктаза II типа узнает определенную последовательность на ДНК и гидролизует ее внутри последовательности сайта рестрикции.

Рестриктазы II типа можно отнести к двум группам по тому, как они расщепляют последовательность ДНК. Одни вносят разрывы по оси симметрии узнаваемой последовательности, а другие — со сдвигом, с образованием «ступеньки». В первом случае образуются так называемые «тупые» концы, а во втором — «липкие», т. е. фрагменты имеют на своих концах одонитевые взаимно комплементарные участки.

Фрагменты ДНК, имеющие одинаковые «липкие» концы, могут соединяться друг с другом с помощью ДНК-лигазы, при этом сайт рестрикции восстанавливается. Фрагменты, имеющие «тупые» концы, могут быть соединены вне зависимости от того, какой рестриктазой они были образованы. Фрагменты с «липкими» концами более удобны для создания рекомбинантных ДНК, так как ДНК-

лигаза обеспечивает беспрепятственное соединение фрагментов.

Наиболее распространенный метод получения рекомбинантных ДНК, т. е. содержащих чужеродный ген, *плазмид*.

Клетки бактерий содержат хромосомную ДНК. Однако помимо хромосом бактерии содержат большое число небольших (1—25 т. н. п.) кольцевых молекул ДНК. Такие кольцевые молекулы называют плазмидами. Некоторые плазмиды имеют в своем составе гены устойчивости к антибиотикам, представленные большим числом копий. Высокая копияность плазмид обеспечивает клетке синтез большого количества ферментов, биохимически нейтрализующих антибиотики, что и обеспечивает устойчивость бактериальной клетки к последним.

Плазмиды — двухцепочные молекулы ДНК. Каждая бактерия, помимо основной не покидающей клетку молекулы ДНК, может содержать несколько различных плазмид, которыми она обменивается с другими бактериями. Хотя на долю плазмид приходится лишь небольшая часть клеточной ДНК, они несут жизненно важные гены для бактерий.

Для получения рекомбинантной плазмиды ДНК одна из плазмид «хозяина» расщепляется выбранной рестриктазой.

Гены, которые нужно ввести в бактериальную клетку, выщепляют из ДНК другого организма с помощью той же рестриктазы, поэтому его «липкие концы» являются комплементарными нуклеотидным последовательностям на концах плазмиды.

Ферментом — лигазой «сшивают» оба конца ДНК (гена и плазмиды), в результате получается рекомбинантная кольцевая плазида, которую вводят в бактерию *E.coli*. Все потомки этой бактерии называют клоном и содержат в плазмидах чужеродный ген, способный вырабатывать белок, кодируемый этим геном. Весь процесс получения таких бактерий называется клонированием.

Клонирование состоит из последовательных стадий:

1. Рестрикция — разрезание ДНК «хозяина» рестриктазой на множество различных фрагментов, но с одинаковыми «липкими» концами. Такие же концы получают при разрезании плазмидной ДНК той же рестриктазой.

2. Лигирования — включения фрагмента ДНК в плазмиды благодаря сшиванию «липких концов» ферментом лигазой

3. Трансформации — введение рекомбинантных плазмид в бактериальные клетки, обработанные специальным образом так,

чтобы они на короткое время стали проницаемыми для макромолекул. Каждая из трансформированных бактерий размножается и образует колонию из клонов.

4. Скрининга — отбора среди клонов трансформированных бактерий тех, которые сохраняют плазмиды, несущие необходимый ген.

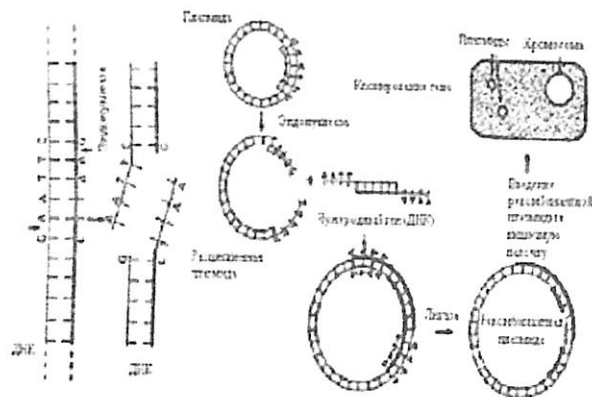


Рис. 3.3 Введение гена в плазмиду *Escherichia coli* и клонирование этого гена в клетках эпидермисной палочки. Плазмида *E. coli* расщепляется рестрикционной эндонуклеазой в специфическом участке в обеих цепях ДНК, так что на концах расщепленной плазмиды располагаются короткие неспаренные последовательности дезоксирибонуклеотидов (TTAA или AATT), т.е. по четыре нуклеотида, в которых основания представлены тимином и аденином. Ген, который нужно встроить в плазмиду, выщипывают с помощью этой же рестриктазы, так что его концы являются комплементарными нуклеотидными последовательностями на концах плазмиды (AATT и TTAA). Обе ДНК (ген и плазмиду) смешивают вместе с помощью лигазы. Затем рекомбинантную плазмиду вводят в клетки *E. coli*, которая размножается, образуя клоны, все клетки которых содержат рекомбинантную плазмиду, а поэтому и опухолевый ген. Последний теперь клонируется в клетках эпидермисной палочки и индуцирует в ней синтез специфического белка.

КЛЕТОЧНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В ПРАКТИКЕ ЛЕСНОГО РАСТЕНИЕВОДСТВА

Современная биотехнология — это наука и отрасль производства, развивающаяся в трех основных направлениях:

- молекулярная биология и генетическая инженерия;
- микробиология и микробиологическая промышленность;
- культура клеток и тканей *in vitro*.

Клеточная биотехнология базируется на использовании культуры клеток, тканей и протопластов. Для того чтобы манипулировать клетками, нужно выделить их из растения и создать такие условия, при которых они могли бы жить и размножаться вне растительного организма (*in vitro*).

Они предлагают принципиально новые пути, такие как соматическая изменчивость, клеточная селекция, соматическая гибридизация для создания генетического разнообразия и отбора форм с искомыми признаками. Кроме того, клеточные технологии эффективны в создании безвирусного материала вегетативно размножаемых растений.

Основная форма существования жизни — клетка, в которой протекают все физиологические процессы как у одноклеточных, так и у многоклеточных организмов. Рост и размножение организмов связаны с образованием новых клеток.

Клетка является элементарной единицей жизни: в ней имеется все необходимое для поддержания обмена веществ и размножения. Соматические и половые клетки многоклеточных животных и растений, а также одноклеточные организмы сходны по строению.

Роль культуры изолированных клеток и тканей в биотехнологии следует рассматривать в трех направлениях.

- Первое направление связано со способностью изолированных растительных клеток продуцировать ценные для медицины, парфюмерии, косметики и других отраслей промышленности вещества вторичного синтеза: алкалоиды, стероиды, гликозиды, гормоны, эфирные масла и др. Как правило, вторичные вещества получают из каллусной ткани, выращенной на твердой (агаризованной) или жидкой (сuspensionная культура) питательной среде.

- Второе направление — это использование культуры изолированных тканей для размножения и оздоровления посадочного материала. Этот метод, названный клональным микроразмножением

растений, позволяет получать от одной меристемы сотни тысяч растений в год.

- Третье направление — использование изолированных клеток в селекции растений, дающее возможность получать быстрорастущие растения, устойчивые к различным неблагоприятным факторам среды: засуха, засоление, низкие и высокие температуры, фитопатогены, тяжелые металлы и др.

Клеточная биотехнология базируется на способности клеток к существованию и размножению *in vitro*, их *тотипотентности* и регенерации. Любая растительная клетка обладает одинаковыми потенциальными возможностями, так как содержит весь набор генов и, следовательно, клетки сохраняют свойственную зиготе программу развития. Поэтому если мы получаем каллус из клеток лепестка цветка или из клеток сердцевинной паренхимы стебля, или из клеток любой ткани, то в принципе каждая такая клетка может регенерировать целое растение.

Тотипотентность — возможность получения целого организма из каждой соматической клетки растения.

Метод культивирования изолированных тканей на искусственных питательных средах в стерильных условиях (*in vitro*) применяют в растениеводстве для сохранения и размножения ценных генотипов, в эмбриогенезе, оздоровлении посадочного материала, для получения продуктов вторичного метаболизма, в создании форм растений, устойчивых к абиотическим и биотическим факторам окружающей среды и т.д.

Успех в применении культуры клеток и тканей в первую очередь зависит от оптимизации физиологических процессов, обеспечивающих нормальное деление клеток, их дифференцировку и регенерацию из них взрослых растений. Наиболее сложной является регенерация растений из отдельных клеток.

В 30-40х годах XX в. французский ученый Р. Готре, показал возможность долгого культивирования в условиях *in vitro* растительных тканей за счет периодического пересаживания их на свежую питательную среду. Питательные среды для культивирования изолированных клеток и тканей должны включать все необходимые растениям макроэлементы (азот, фосфор, калий, кальций, магний, серу, железо) и микроэлементы (бор, марганец, цинк, медь, молибден и др.), а также витамины, углеводы, фитогормоны или их синтетические аналоги.

История развития метода культуры клеток, тканей и органов растений.

1. Период с 1892 по 1902 г.г. Можно считать предисторией развития метода культуры клеток и тканей растений. Немецкие ученые Х.Фехтинг (1892), К.Рехингер (1893), Г.Габерландт (1902) пытались выращивать изолированные из растений кусочки тканей, группы клеток. Длительно растущих *in vitro* культур они не получили. Не достигнув экспериментальных успехов, эти первые исследователи высказали ряд идей реализованных позже. Так Рехингер наблюдал процесс образования каллуса и определили минимальный размер фрагмента способного образовывать каллус; Габерландт выдвинул гипотезу о тотипотентности любой живой клетки растений.

2. Период с 1902 по 1922 г.г. не принес удачи ботаникам, работающим над созданием питательных сред, способных обеспечить существование и длительное размножение *in vitro* изолированных тканей и клеток растений.

3. В 1922 г. Роббинс и независимо от него Котте показали возможность культивирования на синтетической питательной среде меристеры кончика корня томатов и кукурузы. Эти опыты можно считать началом применения метода культуры изолированных органов растений.

4. 1932-1939 г.г. — совершенствование метода культуры тканей и клеток высших растений, начавшееся с работ американского исследователя Ф.Уайта и французского Р.Готре. Они повторили опыт Роббинса и Котте, показав, что изолированные корни могут расти в культуре неограниченно долго, если их кончики периодически пересаживать на свежую питательную среду.

5. В период 1940-1960 г.г. успешно получали длительные пересадочные культуры из разных органов и тканей растений. Были разработаны составы питательных сред, изучено значение макро- и микроэлементов для поддержания нормальной ростовой активности ткани. Выявлена потребность культур в витаминах и стимуляторах роста.

6. 1960-1975 г.г. Предложен метод получения изолированных протопластов из тканей корня и плодов томатов путем обработки их смесью пеколитических и целлюлотических ферментов. Разработан метод культуры меристем, позволяющих получать тестируемые на отсутствие вирусов и других патогенов растения.

Культура каллусной ткани.

Роль культуры изолированных клеток и тканей в биотехнологии следует рассматривать как рост культуры изолированных клеток и тканей.

Культура изолированных тканей обычно бывает представлена каллусными. Каллусная культура — это неорганизованная пролиферирующая ткань, состоящая из дедифференцированных клеток. В дальнейшем они специализируются как каллусные, т. е. становятся особым образом дифференцированными. Каллус, что означает «мозоль», может образовываться как на изолированных кусочках ткани (эксплантах) *in vitro*, так и на растении при поранении.

Каллусная клетка, в результате деления которой возникает каллусная ткань или каллус, представляет один из типов клеточной дифференцировки, присущей высшему растению. Для растения каллус является тканью, возникающей в исключительных обстоятельствах (обычно при травмах) и функционирующей непродолжительное время. Эта ткань защищает место поранения, накапливает питательные вещества для анатомической регенерации или (и) регенерации утраченного органа.

Для получения культивируемых каллусных клеток фрагменты тканей разных органов высших растений (экспланты) помещают на искусственную питательную среду *in vitro* в пробирки, колбы, чашки Петри. Процесс получения первичного каллуса и поддержание пересадочной культуры требует строго стерильных условий.

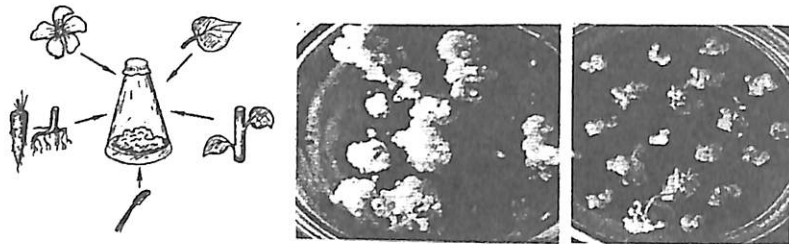


Рис.24. Получение культуры каллусной ткани из различных эксплантов: фрагментов стебля, листа, лепестков, тычинок.

Каллусная клетка, в результате деления которой возникает каллусная ткань или каллус, представляет один из типов клеточной дифференцировки, присущей высшему растению. Для растения кал-

лус является тканью, возникающей в исключительных обстоятельствах (обычно при травмах) и функционирующей непродолжительное время. Эта ткань защищает место поранения, накапливает питательные вещества для анатомической регенерации или (и) регенерации утраченного органа.

Для получения культивируемых каллусных клеток фрагменты тканей разных органов высших растений (экспланты) помещают на искусственную питательную среду *in vitro* в пробирки, колбы, чашки Петри. Процесс получения первичного каллуса и поддержание пересадочной культуры требует строго стерильных условий.

Необходимым условием работы с культурой изолированных тканей является соблюдение строгой стерильности.

Богатая питательная среда является прекрасным субстратом для развития в ней микроорганизмов, а изолированные от растения фрагменты (экспланты), которые помещают на питательную среду, легко поражаются микроорганизмами. Поэтому надо стерилизовать как эксплант, так и питательную среду. Все манипуляции с изолированными тканями (введение в культуру, пересадка на свежую питательную среду) проводят в асептическом помещении (ламинар-боксе) стерильными инструментами.

Для этого посуду, инструменты, материалы, необходимые для работы стерилизуют в автоклаве или фильтрованием через ультра-фильтры питательную среду. В автоклаве при давлении 2 атм в течение 1 ч или сухим паром в шкафах при 160°C в течение 1,5 ч.

Стерилизацию экспланта и семян проводят, выдерживая их 5—20 мин в стерилизующих растворах содержащих активный хлор или ртуть (гипохлориты, сулема, диацид), к которым для лучшего смачивания добавлены детергенты с последующей многократной промывкой экспланта стерильной водой. Время стерилизации зависит от характера экспланта и от стерилизующей активности раствора. Семена стерилизуют 10—20 мин, а вегетативные части 5—10 мин.

Дедифференцировка и каллусогенез как основа создания пересадочных клеточных культур.

Обязательным условием дедифференцировки растительной клетки и превращения ее в каллусную является присутствие в питательной среде представителей двух групп фитогормонов: ауксинов и цитокининов.

Ауксины вызывают процесс дедифференцировки клетки, подготавливающий ее к делению, а цитокинины — пролиферацию (деление) дедифференцированных клеток.

В качестве источников ауксинов в питательных средах используют 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д), индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), а-нафтилуксусную кислоту (НУК).

В качестве источников цитокининов в искусственных питательных средах используют кинетин, 6-бензиламинопури́н (БАП), зеатин.

Если в питательную среду без гормонов поместить кусочек стебля, листа, корня (без верхушки) или любой другой растительный эксплант, состоящий из специализированных (дифференцированных) клеток, то деления клеток не произойдет и каллусная ткань не образуется. Это связано с неспособностью дифференцированных клеток к делению. Каждая клетка проходит три фазы роста: 1) деление; 2) растяжение; 3) дифференцировку. Характерной чертой заключительной фазы роста является утолщение вторичной клеточной оболочки и потеря клеткой способности к делению. Для того чтобы дифференцированные клетки вновь приобрели способность к делению, необходимо, чтобы произошла их дедифференцировка, т. е. клетки как бы возвратились в меристематическое состояние. Размножение дедифференцированных клеток приводит к анархическому, неорганизованному росту, в результате чего образуется каллусная ткань.

При переходе дедифференцированной клетки к неорганизованному анархическому размножению, приводящему к образованию каллусной ткани, в клетках происходят биохимические и цитологические изменения. Дедифференцировка начинается с использования запасных веществ и разрушения специализированных клеточных органелл. Через 6—12 ч после индукции дедифференцировки клеточная стенка разрыхляется и разбухает, увеличивается число свободных рибосом, число элементов аппарата Гольджи, а также размеры и число ядрышек. Все эти изменения предшествуют началу делений, которые начинаются через 48—72 ч.

Каллусная клетка имеет свой цикл развития и повторяет развитие любой клетки, включая деление, растяжение и дифференцировку, после чего наступает старение и гибель клетки.

Для того чтобы не произошло старения, утраты способности к делению

гибели каллусных клеток, первичный каллус, возникающий на эксплантах, через 4—6 недель переносят на свежую питательную среду. Эту операцию называют пассированием. При регулярном пассировании способность к делению может поддерживаться в течение десятков лет.

Резюмируя, можно отметить, что техника культивирования тканей растений позволяет получить длительную, пересадочную каллусную культуру из любых живых тканевых клеток интактного растения. Клетки различно дифференцированные (в том числе и меристематические) переходят *invitro* к сложному процессу дедифференциации, теряют присущую им структурную организацию и специфические функции и индуцируются к делению, образуя первичный каллус.

Первичный каллус, возникший на эксплантах через 4—6 недель (в зависимости от темпов роста), переносится на свежую питательную среду (субкультивируется). Размер транспланта (переносимого кусочка) при культивировании на агаризованной питательной среде обычно колеблется от 60 до 100 мг массы ткани на 30—40 мл питательной среды.

В процессе субкультивирования формируется штамм, характеризующийся индивидуальными генетическими и физиологическими особенностями.

Культура каллусных тканей выращивается поверхностным способом на полутвердой агаризованной среде (концентрация агар-агара 0,6—1%), среде с применением других желеобразующих полимеров либо на мостиках из фильтровальной бумаги, или дисках из пенополиуретана, погруженных в жидкую питательную среду. Основными компонентами питательных сред для культуры тканей и клеток растений являются минеральные соли (макро- и микроэлементы), источник углеродного питания (обычно сахароза или глюкоза), витамины, регуляторы роста. Иногда в состав питательных сред включают комплексные органические добавки (гидролизат казеина или смесь аминокислот, дрожжевой экстракт, экстракты из разных органов растения).

Каллусная ткань, выращиваемая поверхностным способом, представляет собой аморфную массу тонкостенных паренхимных клеток, не имеющую строго определенной анатомической структуры. Цвет массы может быть белым, желтоватым, зеленым, красным — пигментированным антоцианами полностью или зонально.

В зависимости от происхождения и условий выращивания каллусные ткани бывают: 1) рыхлыми, сильно оводненными, легко распадающимися на отдельные клетки; 2) средней плотности, с хорошо выраженными меристематическими очагами; 3) плотными с зонами редуцированного камбия и сосудов (в основном трахеидоподобных элементов).

В цикле выращивания каллусные клетки после ряда делений проходят обычный для клетки растения онтогенез, они приступают к росту растяжением, затем дифференцируются как зрелые каллусные клетки и наконец деградируют.

Морфогенез в каллусных тканях.

Существует несколько путей, по которым может идти развитие клетки после ее дедифференцировки. Первый путь — это вторичная регенерация целого растения, возможна дифференцировка на уровне клеток, тканей, органов. Второй путь — это утрата клеткой способности к вторичной дифференцировке и регенерации растения, стойкая дедифференцировка, приобретение способности расти на среде без гормонов, т. е. превращение в опухолевую. Такими свойствами часто характеризуются клетки старых пересадочных культур. Третий путь — это нормальный цикл развития каллусной клетки, заканчивающийся ее старением и гибелью. В этом случае клетка претерпевает вторичную дифференцировку и прекращает делиться (стационарная фаза роста). Однако такая дифференцировка не ведет к морфогенезу, а закрепляет за ней свойства старой каллусной клетки.

Для сельскохозяйственной биотехнологии наибольший интерес представляет регенерация в культуре тканей из отдельной клетки целого растения. Иногда этот путь лежит через образование отдельных органов.

В культуре каллусных тканей морфогенезом называют возникновение организованных структур из неорганизованной массы клеток. Существует два основных типа морфогенеза. В культуре тканей он может проявляться в виде органогенеза (образования монополярной структуры, т. е. отдельных органов): корневого, стеблевого, реже флорального (цветочного) или листового, а также в виде соматического эмбриогенеза (образования биполярных зародышеподобных структур из соматических клеток). В случае органогенеза сначала регенерируют отдельные органы, а затем уже из них — целые растения, исключение составляет корневой органогенез.



Типы морфогенеза в культуре каллусной ткани

В результате соматического эмбриогенеза в отличие от органогенеза сразу образуется зародыш, имеющий как меристему корня, так и меристему верхушечной почки, из которого в дальнейшем развивается целое растение.

Способность отдельной соматической клетки полностью реализовывать свою программу развития и давать начало целому растительному организму называют тотипотентностью растительной клетки. Любая растительная клетка обладает одинаковыми потенциальными возможностями, так как содержит весь набор генов и, следовательно, клетки сохраняют свойственную зиготе программу развития. Поэтому если мы получаем каллус из клеток лепестка цветка, или из клеток сердцевинной паренхимы стебля, или из клеток любой ткани, то в принципе каждая такая клетка может регенерировать целое растение.

Клеточную основу морфогенеза составляет цитодифференцировка. Регенерация растения начинается со вторичной дифференцировки клеток. При этом дедифференцированные клетки вновь приобретают структуру и функции специализированных.

Вторичная дифференцировка каллусных клеток не всегда заканчивается морфогенезом и регенерацией растения. Иногда она приводит только к образованию тканей (гистодифференцировка). Таким путем каллусная клетка может превращаться во флоральные или ксилемные элементы. Другим примером вторичной дифференцировки может служить превращение дедифференцированной активно пролиферирующей клетки в старую неделящуюся каллусную клетку (стационарная фаза роста).

Из всех видов вторичной дифференцировки наибольший интерес представляет морфогенез, так как он позволяет получать целое растение из каллусной клетки.

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ РАСТЕНИЙ

Клональное микроразмножение растений

Для семенных растений характерно два способа размножения: семенной и вегетативный.

Оба эти способа имеют как преимущества, так и недостатки. К недостаткам семенного размножения следует отнести, в первую очередь, генетическую пестроту получаемого посадочного материала и длительность ювенильного периода. При вегетативном размножении сохраняется генотип материнского растения и сокращается продолжительность ювенильного периода.

Достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения — **клонального микроразмножения** (получение в условиях *in vitro* (в пробирке), неполовым путем растений, генетически идентичных исходному экземпляру).

В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность, т. е. под влиянием экзогенных воздействий давать начало целому растительному организму.

Этот метод, несомненно, имеет ряд преимуществ перед существующими традиционными способами размножения:

- получение генетически однородного посадочного материала;
- освобождение растений от вирусов за счет использования меристемной культуры;
- сокращение продолжительности селекционного процесса;
- ускорение перехода растений от ювенильной к репродуктивной фазе развития;
- возможность проведения работ в течение года и экономия площадей, необходимых для выращивания посадочного материала.

Первые достижения в области клонального микроразмножения были получены в конце 50-х годов XX в. Французским ученым Жоржем Морелем, которому удалось получить первые растения-регенеранты орхидей. Успеху Ж.Мореля в микроразмножении способствовала уже разработанная к тому времени техника культивирования апикальной меристемы растений в условиях *in vitro*. Как правило, исследователи в качестве первичного экспланта использовали верхушечные меристемы травянистых растений: гвоздики, хризантемы, подсолнечника, кукурузы, одуванчика, салата и др. и

изучали влияние состава питательной среды на процессы регенерации и формирования растений.

Таким образом, первые успехи в клональном микроразмножении связаны с культивированием *апикальных меристем* (меристема — образовательные ткани с активно делящимися клетками) травянистых растений на соответствующих питательных средах, обеспечивающих в конечном итоге получение растений-регенерантов.

Однако область применения микроразмножения разнообразна и имеет тенденцию к постоянному расширению. Это в первую очередь относится к размножению *in vitro* взрослых древесных пород, особенно хвойных, и использованию техники *in vitro* для сохранения редких и исчезающих видов лекарственных растений.

Основной метод, используемый при клональном микроразмножении растений, — это активация развития уже существующих в растении меристем, основывающийся на снятии апикального доминирования. Это может быть достигнуто двумя путями:

- а) удалением верхушечной меристемы стебля и последующим микрочеренкованием побега *in vitro* на безгормональной среде;
- б) добавлением в питательную среду веществ цитокининового типа действия, индуцирующих развитие многочисленных пазушных побегов.

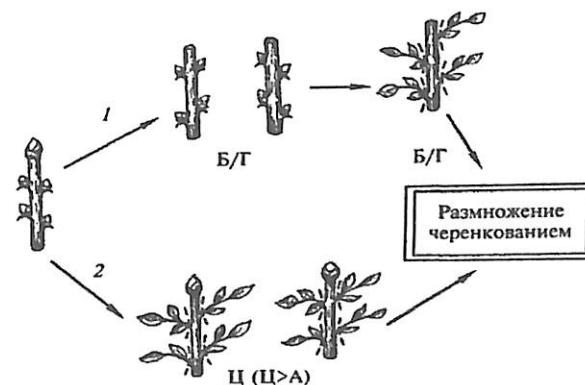


Рис.25. Схема размножения растений методом активации развития существующих меристем:

1 — удаление верхушечной меристемы; 2 — добавление в питательную среду цитокининов (Б/Г — безгормональная среда, Ц — цитокинины, А — ауксины)

Полученные таким образом побеги отделяют от первичного материнского экспланта и вновь культивируют на свежеприготовленной питательной среде, стимулирующей пролиферацию пазушных меристем и возникновение побегов более высоких порядков.

В настоящее время этот метод широко используется в производстве безвирусного посадочного материала сельскохозяйственных культур.

Второй метод — это индукция возникновения *адвентивных почек* (адвентивные почки — почки, возникшие из клеток и тканей в растениях, обычно их не образующих) непосредственно тканями экспланта.

Он основан на способности изолированных частей растения при благоприятных условиях питательной среды восстанавливать недостающие органы и таким образом регенерировать целые растения. Образования адвентивных почек можно добиться почти из любых органов и тканей растения (изолированного зародыша, листа, стебля, семядолей, чешуек и донца луковицы, сегментов корней и зачатков соцветий), если их удастся получить свободными от инфекции. Этот процесс, как правило, происходит на питательных средах, содержащих один цитокинин или в сочетании с ауксином.

Меристематические верхушки изолируют из молодых свободных от вирусных болезней растений и выращивают на модифицированной питательной среде Т. Мурасига и Ф. Скуга. Через 3—4 недели культивирования меристема развивается в проросток, в основании которого формируются адвентивные почки, которые быстро растут и дают начало новым почкам. В течение 6—8 недель образуется конгломерат почек, связанных между собой соединительной тканью и находящихся на разной стадии развития. Появляются листья на коротких черешках, в нижней части которых формируются новые адвентивные почки. Эти почки разделяют и пересаживают на свежую питательную среду. На среде с цитокинином продолжается пролиферация придаточных побегов, а на среде без регуляторов роста в течение 4—6 недель формируются нормальные растения с корнями и листьями.



Рис. 3.13. Размножение растений *in vitro* методом индукции возникновения адвентивных почек:

а — гиацинт; б — орхидея; в — сосна

Этапы и методы клонального микроразмножения растений.

Процесс клонального микроразмножения можно разделить на четыре этапа (рис.33):

- 1) выбор растения-донора, изолирование эксплантов и получение хорошо растущей стерильной культуры;
- 2) собственно микроразмножение, когда достигается получение максимального количества мериклонов;
- 3) укоренение размноженных побегов с последующей адаптацией их к почвенным условиям, а при необходимости депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре (+2°, +10°C);
- 4) выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле.

ОЗДОРОВЛЕНИЕ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ОТ ВИРУСОВ.

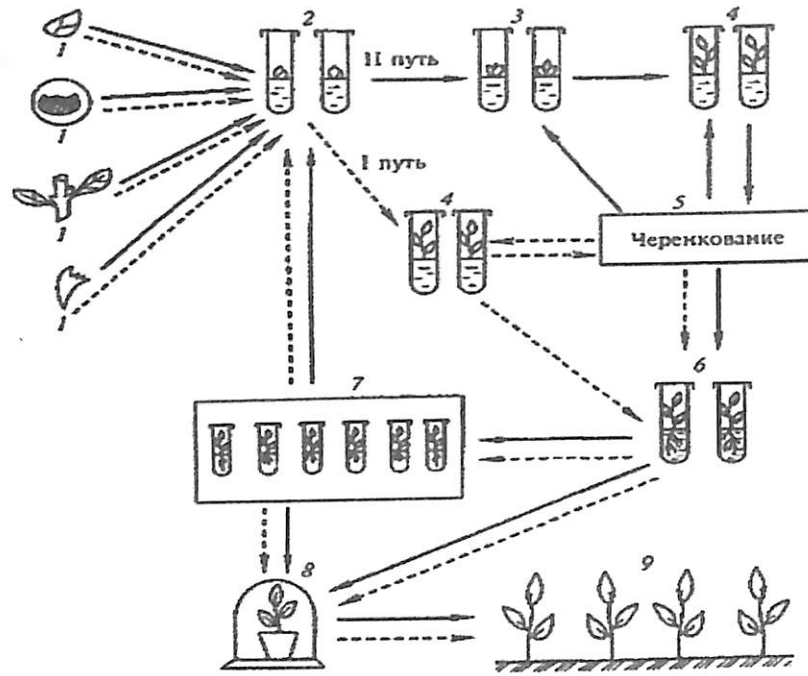


Рис.26. Схема клонального микроразмножения растений методом активации развития существующих меристем (I путь), индукции возникновения адвентивных почек на экспланте (II путь):

1 — выбор исходного эксплантa; 2 — получение стерильной культуры; 3 — образование адвентивных почек непосредственно на первичном экспланте; 4 — рост почек и формирование микропобегов; 5 — размножение микропобегов (черенкование); 6 — укоренение микропобегов; 7 — депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре; 8 — перевод растений в тепличные условия; 9 — высадка растений-регенерантов в поле

Основное преимущество клонального микроразмножения — это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала. Этого возможно достичь, используя меристемные ткани апексов и пазушных почек органов стеблевого происхождения. Как правило, меристема состоит из конуса нарастания, а также одного или двух листовых зачатков (примордиев) и является свободной от инфекции.

Начиная с 50-х годов XX века были предприняты первые успешные опыты по получению свободных от вирусов растений герогина из точки роста. Авторы этого метода Ж. Морель и С. Мартин полагали, что в больном растении вирус распространяется с отставанием от быстро растущих молодых органов, особенно в молодых недифференцированных тканях, где концентрация вируса может снижаться, вплоть до полного отсутствия.

Практически возможно получение безвирусной апикальной меристемы от больного растения, но при этом риск попадания вирусов в здоровые ткани должен быть снижен до нуля. Это может быть достигнуто путем применения предварительной термотерапии исходных растений или хемотерапии.

Метод термотерапии применяется как в условиях *invivo*, так и *invitro* и предусматривает использование сухого горячего воздуха. Для объяснения механизма освобождения растений от вирусов в процессе термотерапии существуют различные гипотезы.

Согласно одной из них, высокие температуры воздействуют непосредственно на вирусные частицы через их рибонуклеиновую кислоту и белковую оболочку, вызывая физическое разрушение и лишая вирусные частицы инфекционности.

Вторая гипотеза состоит в том, что высокая температура действует на вирусы через метаболизм растений. Под влиянием высоких температур нарушается равновесие между синтезом и деградацией вирусных частиц. Если преобладает синтез, то концентрация вируса в зараженных тканях растет, и наоборот.

Растения, подвергающиеся *термотерапии*, помещают в специальные термокамеры, где в течение первой недели повышают температуру от 25 до 37 °C путем ежедневного увеличения температуры на 2 °C. Не менее важно при термотерапии создавать и под-

держивать на протяжении всего процесса оптимальные режимы: температуру 37 °С, освещенность лампами дневного света 5 тыс. лк, фотопериод в зависимости от культуры 14—16 ч в сутки при относительной влажности воздуха в термокамере 90 %.

Продолжительность термотерапии всецело зависит от состава вирусов и их термостойкости. Если, например, для гвоздики достаточно 10—12-недельного воздействия теплом, то для освобождения хризантемы от Б-вируса этот период длится 12 недель и более.

Другой способ, применяемый для освобождения растений от вирусов,— *хемотерапия*. Он заключается в добавлении в питательную среду, на которой культивируют апикальные меристемы, аналога гуанозина (коммерческое название вирозол) в концентрации 20—50 мг/л. Это противовирусный препарат широкого спектра действия. При использовании вирозола в культуральной среде процент безвирусных меристемных растений для ряда обычных для этих растений вирусов увеличивался до 80—100 % при 0—41 % в контроле.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОВЫШЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВЫ

Присутствующая в почве микрофлора оказывает непосредственное влияние на ее плодородие, а, следовательно, и на повышение урожайности. Почвенные микроорганизмы в процессе роста и развития улучшают структуру почв, накапливают в них питательные вещества, превращая органические и неорганические соединения в легкоусвояемые растениями компоненты питания.

С целью стимулирования деятельности почвенной микрофлоры разработаны различные бактериальные удобрения. В практике сельского хозяйства нашли применение такие бактериальные удобрения, как нитрагин, азотобактерин и фосфоробактерин.

Технология получения азотных биоудобрений

Наиболее простой способ инокуляции основан на использовании почвы после выращивания на ней бобовых растений. Этот метод разработан в конце XIX века и применяется до настоящего времени. Недостаток метода — необходимость перемещения достаточно больших объемов почвы (100–1 000 кг/га), а также возможность распространения болезней. Более эффективным оказалось применение для инокуляции семян специальных препаратов азотфиксирующих бактерий.

Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium*, развиваясь в корневой системе бобовых растений, в симбиозе с ними фиксируют атмосферный азот, обеспечивая этим азотное питание растений. Согласно современным представлениям, азотфиксация является восстановительным процессом превращения газообразного азота в аммиак, который в дальнейшем ассимилируется растениями с образованием аминокислот.

Клубеньковые бактерии обладают избирательной способностью по отношению к растению-хозяину. Процесс азотфиксации протекает только в клубеньках на корнях бобовых растений, которые образуются в результате проникновения бактерий через корневые волоски в корень. Взаимоотношения бактерий с растениями зависят от комплекса условий, включая физиологическое состояние и условий роста растений, а также физиологическую активность и вирулентность бактерий. Под вирулентностью понимают способность бактерий проникать внутрь корня растений и вызывать образование клубенька. Существенное

влияние на процесс образования клубеньков, а следовательно, на эффективность последующего процесса азотфиксации, оказывают температура и влажность почвы, наличие в ней необходимых для развития бактерий и растений биогенных элементов.

Первая коммерческая разновидность культуры для инокуляции семян (товарное название «**Nitragin**») была запатентована в Великобритании Ноббе и Хилтнером в 1896 г.

Технология получения сухого нитрагина

Нитрагин — бактериальное удобрение, приготовленное на основе жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium* и предназначенное для повышения урожая бобовых растений: гороха, фасоли, сои, люцерны, люпина и др. Бактерии способны фиксировать свободный азот атмосферы, превращая его в легкоусвояемые растениями соединения, поскольку в их организмах есть фермент — нитрогеназа. Нитрогеназа восстанавливает молекулярный азот до аммиака, который вовлекается затем в ряд превращений с образованием глутамина и глутаминовой кислоты. Эти кислоты в дальнейшем идут на синтез растительного белка. Этот процесс возможен только в симбиозе с бобовыми растениями: растение обеспечивает бактерии необходимыми питательными веществами и создает для них оптимальные условия существования, а бактерии, находясь в клубеньках, проросших в корни растения, снабжают его азотистым питанием. Ни растения, ни бактерии сами посебе не могут фиксировать азот.

В почве всегда есть некоторое количество клубеньковых растений, которые располагаются на дикорастущих бобовых растениях. Однако при засевании полей бобовыми монокультурами клубеньковых бактерий оказывается недостаточно, вследствие чего растения снижают урожайность. При этом минеральные азотистые удобрения оказываются в данном случае бесполезными, поскольку азот усваивается только через клубеньки. Поэтому производство бактериальных удобрений чрезвычайно актуально.

Задачей конкретного производства бактериальных удобрений является максимально возможное накопление жизнеспособных клеток, сохранение их жизнеспособности на всех стадиях технологического процесса и приготовление на их основе готовых форм препаратов с сохранением их активности в течение гарантийного срока.

Сухой нитрагин — порошок светло-серого или коричневого цвета, который содержит в 1 г препарата не менее 9 млрд жизнеспособных клеток в смеси с наполнителем (бентонитом, каолином, мелом и пр.).

Промышленное производство нитрагина построено по типичной схеме асептического микробиологического процесса. «Узким» местом является стадия высушивания, поскольку именно на этой стадии бактерии могут потерять жизнеспособность из-за температурных воздействий. Поэтому сушку осуществляют под вакуумом при 30–35°C.

Для производства посевного материала исходную культуру клубеньковых бактерий выращивают сначала на агаризованной среде, содержащей, например, отвар семян бобовых растений, 2 % агара и 1 % сахарозы. На всех этапах промышленного культивирования применяют питательную среду одного и того же состава, включающую такие компоненты, как мелассу, кукурузный экстракт, минеральные соли в виде сульфатов аммония и магния, мел, хлорид натрия и двухзамещенный фосфат калия. Основную ферментацию проводят в течение двух–трех суток при температуре 28–30 °C и pH 6,5–7,5. Готовую культуральную жидкость направляют на сепарацию, в результате которой отделяется биомасса в виде пасты влажностью 70–80 %. Пасту смешивают с защитной средой, имеющей различный состав, но всегда содержащей мелассу и тиомочевину в соотношении 20:1, и направляют на высушивание. Процесс сушки осуществляют в вакуум-сушильных шкафах при 30–35°C и остаточном давлении 10–13 кПа. Высушенную биомассу размалывают.

Нитрагин способствует увеличению урожайности бобовых на 15–25 %, а в районах, где бобовые засеваются впервые, — на 100 %. Вносят препараты путем опудривания семян непосредственно перед посевом.

Технология получения сухого азотобактерина

Азотобактерин — бактериальное удобрение, приготовленное на основе культуры свободноживущего почвенного микроорганизма *Azotobacter chroococcum*, способного фиксировать до 20 мг атмосферного азота на 1 г использованного сахара. Кроме того, эти бактерии выделяют в почву биологически активные вещества: никотиновую кислоту (витамин PP), пантотеновую кислоту, пиридоксин, биотин

(витамин Н) и некоторые фунгицидные вещества, угнетающие развитие нежелательных микроскопических грибов.

Все виды азотобактера — строгие аэробы. Бактерии этого вида очень чувствительны к наличию фосфора и развиваются при высоком содержании его в питательной среде. Технология получения азотобактерина имеет много общего с технологией производства нитрагина, поэтому будут рассмотрены наиболее существенные отличия в его технологии.

Культуру микроорганизмов выращивают методом глубинного культивирования на среде, содержащей те же компоненты, что и при культивировании *Rhizobium*. Дополнительно вводят сульфаты железа и марганца, а также сложную соль молибденовой кислоты. РН среды культивирования 5,7–6,5, аэрация — 1 объем воздуха на 1 объем среды в 1 мин. Процесс ферментации проводят до начала стационарной фазы роста культуры, так как в этой стационарной фазе биологически активные вещества выделяются из клетки и остаются в культуральной жидкости.

При этом существует опасность, что с их выходом клетки могут утратить способность фиксировать атмосферный азот после внесения в почву.

Биологически активные вещества полностью или частично могут теряться и в процессе высушивания клеток, однако оставшиеся жизнеспособными клетки после выведения азотобактера из анабиоза восстанавливают способность продуцировать биологически активные вещества.

Использовать препараты азотобактерина рекомендуется лишь в плодородных почвах, содержащих фосфор и микроэлементы. Отсутствие последних отрицательно сказывается на жизнедеятельности вносимых бактерий. Применяют азотобактерин для бактеризации семян, рассады, компостов. При этом улучшается корневое питание растений и на 10–15 % повышается урожайность зерновых, технических и овощных культур.

Технология получения фосфобактерина

Фосфобактерин — бактериальное удобрение, содержащее споры микроорганизма *Bacillus phosphaticum*. Бактерии обладают способностью превращать сложные фосфорорганические соединения (нуклеиновые кислоты, нуклеопротеины и др.) и трудноусвояемые минеральные фосфаты (пирофосфаты, полифосфаты) в доступную для растений форму. Кроме того, они также выраба-

тывают различные биологически активные вещества, в том числе витамины, стимулирующие рост растений, особенно на ранних стадиях их развития.

По морфологическим признакам *Bac. phosphaticum* представляет собой мелкие, грамположительные, аэробные спорообразующие палочки.

Технология его получения мало отличается от таковой для нитрагина и азотобактерина.

Культуру *Bacillus phosphaticum* выращивают глубинным способом.

Состав питательной среды следующий (в %): кукурузный экстракт — 1,8; меласса — 1,5; сульфат аммония — 0,1; мел — 1; вода — остальное. Культивирование проводят в строго асептических условиях при постоянном перемешивании и принудительной аэрации до стадии образования спор.

Основные параметры проведения процесса: температура — 28–30 °С, рН среды — 6,5–7,5; длительность культивирования — 1,5–2 суток. Полученную в ходе культивирования биомассу клеток отделяют центрифугированием и высушивают в распылительной сушилке при 65–75 °С до остаточной влажности 2–3 %. Высушенные споры смешивают с наполнителем (каолином).

В отличие от нитрагина и азотобактерина фосфобактерин обладает большей устойчивостью при хранении. Потеря жизнеспособности клеток после 1 года хранения не превышает 20 %.

Следует отметить, что фосфобактерин не заменяет фосфорные удобрения, а резко увеличивает их эффективность, поэтому его вносят вместе с фосфорными удобрениями. Фосфобактерин рекомендуют применять на черноземных почвах. Он необходим для повышения урожайности зерновых, картофеля, сахарной свеклы и других сельскохозяйственных растений.

БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЗАЩИТЕ ЛЕСНЫХ РАСТЕНИЙ.

Практически одновременно с развитием животноводства и растениеводства возникла проблема защиты культурных растений и домашних животных от вредителей и болезней. Сначала человек использовал примитивные средства истребления и отлова вредных животных, затем для их уничтожения стал применять хищных животных (собак, кошек, птиц). Постепенно, с развитием сельскохозяйственных технологий, способы борьбы совершенствовались; появились первые примитивные химические средства уничтожения насекомых и грызунов с использованием отваров, настоев, древесной золы и пр.

Бурное развитие химии и переход сельского хозяйства на интенсивные технологии привели к появлению и применению огромного разнообразия химических веществ для борьбы с вредителями и болезнями культивируемых видов. Первое место заняли пестициды — ядовитые химические вещества, используемые для борьбы с вредителями, болезнями и сорняками. Однако только небольшая часть (около 10%) применяемых пестицидов достигает цели; основная же масса этих веществ вызывает гибель полезных организмов, аккумулируется в биологических объектах, нарушает равновесие в природных экосистемах и биоценозах, загрязняет почвы, водоёмы, воздух. Химические пестициды не обеспечили при этом полную защиту сельскохозяйственных культур; большое число насекомых и сорняков остались неконтролируемыми и продолжают наносить огромный вред сельскому хозяйству. Более того, вредители начинают приобретать резистентность к пестицидам. Появились данные о том, что для уничтожения некоторых вредителей приходится применять сверхвысокие дозы пестицидов, в тысячи раз превосходящие дозы токсикантов, использовавшиеся в первые годы их применения.

Это вызывает необходимость поиска других, более эффективных средств и методов защиты, не оказывающих отрицательного воздействия на человека и окружающую среду в целом. Большие перспективы при этом имеют биологические методы.

История. Биологические агенты применялись для уничтожения вредителей с древнейших времён. Например, китайцы использовали фараоновых муравьёв для уничтожения вредителей в зернохранилищах. Во времена Аристотеля при интенсивном

одомашнивании пчёл и тутового шелкопряда человек сталкивался с массовыми заболеваниями этих насекомых. Этот период можно считать началом зарождения микробиологических методов борьбы с вредителями. Но только в конце XIX века работами Л. Пастера и И. И. Мечникова была заложена научная основа этого направления. Мечникову удалось выделить возбудителя болезни хлебного жука — мускаринный гриб (*Metarrhizium anisopliae*), и он рекомендовал использовать данную культуру для борьбы с жуком — вредителем злаковых. Пастер предложил применять бактерию — возбудителя куриной холеры для борьбы с дикими кроликами; Мечников этого же возбудителя — для уничтожения сусликов. С тех пор направление, основанное на использовании микроорганизмов — природных патогенов для борьбы с возбудителями болезней и вредителями культурных биологических видов в природных условиях, непрерывно совершенствуется. Выделено и описано множество микроорганизмов, патогенных для грызунов и насекомых, и на их основе созданы и продолжают разрабатываться эффективные препараты.

Современные биопестициды

Имеется ряд универсальных требований, предъявляемых к биопестицидам, основными среди них являются: селективность и высокая эффективность действия, безопасность для человека и полезных представителей флоры и фауны, длительная сохранность и удобство применения, хорошая смачиваемость и прилипаемость. В настоящее время для защиты растений и животных от насекомых и грызунов применяются, помимо антибиотиков, около 50 микробных препаратов, относящихся к трём группам: это бактериальные, грибные и вирусные препараты.

Бактериальные препараты

К настоящему времени описано свыше 90 видов бактерий, инфицирующих насекомых. Большая их часть принадлежит к семействам *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Bacillaceae*.

1. Большинство промышленных штаммов принадлежит к роду *Bacillus*, и основная масса препаратов (свыше 90%) изготовлена на основе *Bacillus thuringiensis* (Bt), имеющих свыше 22 серотипов. Штаммы Bt используют для борьбы с различными вредителями — гусеницами, комарами, мошкой.

Впервые Bt была выделена в 1915 г. Берлинером из больных гусениц мельничной огневки. Штаммы *Bacillusthuringiensis*, помимо образования спор, которые при попадании внутрь насекомого вызывают септицемию, синтезируют также ряд экзо- и эндотоксинов.

Препараты на основе Bt относятся к токсинам кишечного действия. Типичными последствиями их воздействия являются паралич кишечника, прекращение питания, развитие общего паралича и гибель насекомого. Кристаллы варьируют между различными серотипами и изолятами Bt и обладают широким спектром активности против различных насекомых.

Бактерии группы *Bacillus thuringiensis* эффективны в отношении 400 видов насекомых, включая вредителей полей, лесов, садов и виноградников; наибольший эффект от применения данных препаратов получают при борьбе с листогрызущими вредителями. Известно более 100 штаммов Bt, объединённых в 30 групп по серологическим и биохимическим признакам. Микробиологическая промышленность многих стран выпускает различные препараты на основе Bt, способных образовывать споры, кристаллы и токсические вещества в процессе роста.

Технология получения биопестицидов на основе энтомопатогенных бактерий представляет собой типичный пример периодической гомогенной аэробной глубинной культуры, реализующейся в строго стерильных и контролируемых условиях. Цель процесса — получение максимального урожая бактерий и накопления токсина. Основу питательной среды составляет дрожжеполисахаридная смесь и пеногаситель (кашалотовый жир). Длительность ферментации, реализуемой при 28-30°C в режиме перемешивания и аэрации (0.2 л Ог/л среды-мин.), составляет 35-40 ч до накопления в культуральной жидкости 5-10% свободных спор и кристаллов от общего их количества (при титре культуры не менее 1 млрд. спор в 1 мл).

Далее споры и кристаллы отделяются в процессе сепарирования и обезвоживаются. Товарная форма препарата — сухой порошок, а также стабилизированная паста.

1. Первый отечественный препарат получен на основе *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* — *энтобактерин*. Препарат выпускается в виде сухого порошка с содержанием спор и кристаллов эндотоксина по 30 млрд/г, пасты с наполнителем, а

также жидкости в смеси с прилипателем. Эффективен против чешуекрылых насекомых (капустной белянки, капустной моли, лугового мотылька, пяденицы, шелкопряда, боярышницы и др.). Применяют препарат путем опрыскивания растений суспензией из расчета 1-3 кг/га для овощных и 3-5 кг — для садовых культур с использованием наземных и авиационных опрыскивателей.

Оптимальные условия внешней среды для применения энтобактерина — отсутствие осадков и Диапазон температур 18-32°C. Это препарат кишечного действия, при поедании гусеницами вместе с листовой зеленью после попадания в желудочно-кишечный тракт насекомого вызывает общую интоксикацию и затем полный паралич. Основная масса насекомых гибнет в течение 2-10 дней; при необходимости проводят повторную обработку при сокращении дозы в 2 раза. Применение энтобактерина повышает урожайность овощных культур и садовых культур на 50 и 5 ц/га соответственно.

2. *Дендробациллин* является препаратом для защиты леса от сибирского шелкопряда на основе *Bac. thuringiensis* var. *dendrolitum*. Бактерия была выделена из гусениц сибирского шелкопряда — вредителя хвойных лесов. Этот препарат также эффективен для защиты овощных, плодовых и технических культур от разных насекомых (совок, белянок, молей, пядениц и др.). Препарат не токсичен для полезной энтомофауны, исключение составляют тутовый и дубовый шелкопряд, применяется и действует аналогично энтобактерину.

3. *Инсектин* — по действию аналогичен дендробациллину, предназначен главным образом для борьбы с сибирским шелкопрядом. Получен на основе *Bac. thuringiensis* var. *insectus*. В Узбекистане не зарегистрирован.

4. *БИН* — биологический инсектицидный препарат, изготавливается в виде сухого порошка и пасты на основе *Bac. thuringiensis* var. *darmstadiensis*; эффективен против вредителей плодовых (яблочной и плодовой молей, пядениц, листоверток, шелкопрядов) и овощных культур (белянок, молей). В Узбекистане не зарегистрирован.

5. *Бактулоцид*. Бактулоцид выпускается в виде сухого порошка с титром спор около 90 млрд/г и содержит такое же количество кристаллов. Применяется в жидком виде разбрызгиванием по поверхности водоёма. Кристаллический эндотоксин бакту-

лоцида высоко токсичен для личинок комаров и мошек, но совершенно безопасен для других насекомых и гидробионтов, обитающих в одном водоёме с комарами. Продуцент данного эндотоксина привлек внимание ученых многих стран. В Узбекистане не зарегистрирован.

Методы геной и клеточной инженерии в настоящее время позволяют проводить работы, направленные на улучшение существующих продуцентов и продуктов Bt. Сегодня известно, что гены, контролирующие синтез кристаллов, локализованы на небольшом числе плазмид значительной молекулярной массы. Токсический белок, синтезируемый Bt, клонирован в *E. coli* и *B. subtilis*, его экспрессия получена даже в течение вегетативной фазы роста. Есть сведения о клонировании белка, токсичного для бабочек, в клетках табака. В выросшем целом растении табака каждая клетка вырабатывала токсин. Таким образом, растение, приобретшее токсин, само становится устойчивым к насекомым: поедая листья, гусеница погибает, не причинив существенного вреда растению. Резистентность к гусеницам передаётся через семена последующим поколениям растений. Начато получение рассады трансгенного картофеля и томатов с внедрённым геном Bt, токсичной для чешуекрылых. Создан трансгенный инсектоустойчивый тополь с внедрённым в клетки тканей геном антитрипсиназы. Фермент снижает усвоение белка насекомыми, что приводит к сокращению популяции.

Грибные препараты

Многочисленные виды энтомопатогенных грибов поражают широкий круг насекомых, обладая для этого различными механизмами, включая контактный, что облегчает их применение. Грибы хорошо сохраняются в виде спор и продуцируют разнообразные биологически активные вещества, усиливающие их патогенность. Однако грибные препараты достаточно широко пока не применяются. Это связано, во-первых, с определёнными технологическими трудностями, возникающими при их культивировании и, во-вторых, обусловлено жесткими требованиями к факторам окружающей среды (высокая активность грибных препаратов проявляется только в условиях высокой и стабильной влажности).

Известны сотни видов энтомопатогенных грибов, но наиболее перспективными считаются две группы — мускаринные грибы из *Euascomycetes* и энтомтрофные из семейства *Entomophthoraceae*

Основное внимание привлекают следующие грибные патогены: возбудитель белой мускардины (род *Beauveria*), возбудитель зелёной мускардины (род *Mefarrhizium*) и *Entomophthora* (поражающий сосущих насекомых). Грибы, в отличие от бактерий и вирусов, проникают в тело насекомого не через пищеварительный тракт, а непосредственно через кутикулу. При прорастании конидий на кутикуле насекомого ростовые трубки могут развиваться на поверхности или сразу начинают прорастать в тело; часто этот процесс сопровождается образованием токсина. Если штамм слабо продуцирует токсин, мицелий достаточно быстро заполняет всё тело насекомого. Заражение насекомых грибными патогенами, в отличие от других микроорганизмов, может происходить на различных стадиях развития (в фазе куколки или имаго). Грибы быстро растут и обладают большой репродуктивной способностью.

1. *Metarrhizium anisopliae* — наиболее известный энтомопатогенный гриб, описанный более 100 лет назад как зелёный мускаринный гриб. На его основе были получены первые препараты биопестицидов в промышленных масштабах. Этот гриб поражает многие группы насекомых, включая слюнного пастбищного клопа и вредителя сахарного тростника

2. *Verticillium lecanii* Этот организм способен контролировать в оранжереях численность тлей и алейроцид в течение нескольких месяцев.

3. *Hirsutiella thompsonii* использовали некоторое время в США для производства препарата «Микор» с целью контроля численности Цитрусовых клещей.

4. Для инфицирования саранчи в США используют австралийский микроскопический гриб *Entomophthora praxibuli*. Саранча погибает в течение 7-10 дней после применения препарата. Споры гриба после зимовки в почве способны поражать следующие поколения насекомых.

5. В Японии выпущен в продажу инсектицид на основе гриба *Aspergillus* для защиты лесов от вредителей; препарат вносят в почву, он поглощается корнями деревьев и, распространяясь по сосудистой системе дерева, защищает его от насекомых.

6. *Боверин* является отечественным грибным препаратом, который изготавливают на основе конидиоспор *Beauveria bassiana*. Боверин почти так же эффективен, как лучшие из доступных химических пестицидов. После заражения насекомого *B. bassiana* выделяет боверин, циклодепептидотоксин - Боверин безопасен для человека и теплокровных, не вызывает ожогов у растений.

Получение боверина

Получение боверина возможно как экстенсивным поверхностным, так и более экономичным глубинным способом ферментации.

Конидиоспоры удаётся получать в глубинной культуре на основе оптимизированной питательной среды. При этом до 90% выращенных клеток переходит в конидиоспоры достаточно высокой вирулентности. Культивирование гриба реализуется в строго стерильных условиях в глубинной культуре при 25-28°C в течение 3-4 суток. Питательная среда содержит (в %): кормовые нелизированные дрожжи — 2, крахмал — 1, хлорид натрия — 0.2, хлорид марганца — 0.01, хлорид кальция — 0.05. Существенное значение имеет концентрация азота, так как его дефицит снижает скорость роста, а избыток — стимулирует образование конидий.

Поверхностное культивирование гриба требует больших производственных площадей и более трудоёмко, поэтому имеет меньшие масштабы. Готовая форма препарата представляет собой сухой мелкодисперсный порошок конидиоспор, смешанный с каолином; титр — 1.5 млрд. конидий/г. Препарат эффективен против листо-грызуших садовых вредителей, яблоневой плодовой жоржки, вредителей леса, а также вредителя картофеля — личинок колорадского жука. Используют боверин путём опрыскивания растений, норма расхода — 1-2 кг/га. В сочетании с небольшими добавками химических пестицидов препарат вызывает 100%-ю гибель личинок всех возрастов

Вирусные препараты

Весьма перспективны для защиты растений энтомопатогенные вирусы. Вирусы чрезвычайно контагиозны и вирулентны, узко специфичны по действию, хорошо сохраняются в природе вне организма-хозяина. Эти препараты вследствие высочайшей специфичности. Практически полностью безопасны для человека и всей биоты. Заражаются насекомые вирусами при питании. Попавшие в кишечник тельца-включения разрушаются в щелочной среде. Освободившиеся

вирионы проникают через стенку кишечника в клетки и реплицируются в ядрах. Вирусы способны размножаться только в живой ткани организма-хозяина. Это обстоятельство делает очень трудоёмкой процедуру получения вирусного материала в значительных количествах. Получают вирусный материал при размножении вирусов в насекомых. После гибели насекомых их массу измельчают, затем выделяют вирусный материал и подвергают очистке. В соответствии с рекомендациями Всемирной Организации Здравоохранения 1973 г. особое внимание при изучении вирусов было обращено на одну группу — бакуловирусы. В этой группе отсутствуют вирусы, патогенные для позвоночных.

Препараты

Бакуловирусы — это двуцепочечные ДНК-вирусы, в трёх их группах имеются биопестициды: вирусы ядерного полиэдроза (ВЯП), вирусы гранулеза (ВГ), фильтрующиеся вирусы.

Производство вирусных препаратов основано на массовом размножении насекомого-хозяина на искусственных средах. На определённой стадии развития насекомое заражают, добавляя суспензию вирусов в корм. Спустя 7-9 сут- собирают погибших гусениц, высушивают и измельчают. В измельченную массу добавляют физиологический раствор (1 мл на 1 гусеницу), взвесь фильтруют. Осадок суспензируют в небольшом количестве физиологического раствора и заливают глицерином. Стандартизируют препарат (титр 1 млрд полиэдров/мл) и разливают во флаконы. Одна зрелая гусеница способна дать до 36 млрд. телец-включений, что составляет до 30% её массы. Препараты готовят в виде дустов, суспензий и масляных форм.

Существуют два метода применения вирусных препаратов:

1. интродукция вирусов в плотные популяции насекомых на сравнительно небольших площадях .

2. обработка зараженных участков путём опрыскивания или опыления на ранних стадиях развития личинок.

Однако вследствие достаточной трудоемкости производства эти препараты пока не нашли массового применения. Специалисты считают, что потребуются годы, чтобы вирусные препараты смогли занять значительное место на рынке биопестицидов.

Биогербициды

Для борьбы с отдельными видами сорняков, устойчивых к химическим препаратам, применяют специфические токсичные для

них микроорганизмы. Наиболее часто применяют грибные фитопатогены и грибные фитотоксины. Для расширения сферы их применения необходимо получение более устойчивых по отношению к изменяющимся условиям внешней среды грибных форм. Бактериальные фитопатогены, менее чувствительные к факторам внешней среды, в меньшей степени поражают растения.

В США на рынок поступил препарат на основе штамма *Phytophthora palmivora* для борьбы с повиликой. Японии начала производство биогербицида на основе билафоса, продуцируемого штаммом *Streptomyces hydroscopicus*. Препарат обладает широким спектром действия, нарушает азотный обмен в листьях и стеблях сорняков.

Наряду с биогербицидами для защиты растений всё шире применяют биологические препараты для борьбы с возбудителями заболеваний. На основе бактерий *Pseudomonas fluorescens* получен препарат «Р-2-79», подавляющий развитие свыше 40 видов микроорганизмов, поражающих пшеницу, ячмень, рожь. На основе *Pseudomonas* проводят защиту семян сорго и кукурузы от антрактоза и ризоктониоза; хлопчатника и сои — от вилта и ряда других заболеваний.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Артамонова Г.М., Герасимова С.И. и др. Лабораторно-практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии (Методические указания). Издательство МСХА, Москва. 1991.-134 с
2. Асташкина А.П.. Приготовление питательных сред и культивирование микроорганизмов : методические указания к выполнению лабораторной работы— Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 19 с.
3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. – М., Мир, 2002 – 589 с.
4. Гусев, М. В. Микробиология : учебник для вузов – М. : Академия [Academia], 2003. – 462 с.
5. Еремина И.А., Кригер О.В. Лабораторный практикум по микробиологии: Учебное пособие. - Кемерово, 2005. - 112 с.
6. Зупаров М.А., Хакимов А.А., Рахмонов У.Н., А.Н.Аллаяров, Саттарова Р.К., Хакимова Н.Т. Микробиологиядан лаборатория машгулотлари (услубий кўлланма) – Тошкент, 2014 – 120 с. (узб.).
7. Калганова, Т. Н. Практикум по микробиологии и биотехнологии: лабораторные работы / Т. Н. Калганова. – Южно-Сахалинск: СахГУ, 2011. – 56 с
8. Лысак, В.В. Микробиология : учеб. пособие / В. В. Лысак. – Минск : БГУ, 2007. – 426 с.
9. Методы общей бактериологии: пер.с англ./ Под ред. Ф.Герхарда и др.. В 3 т. – М., Мир, 1983
10. Прудникова С. В., Сорокин Н. Д., Сарматова Н. И., Реммель, Н. Н. Выдрякова Г. А. Микробиология с основами вирусологии: методы микрoэкологического исследования наземных, водных и воздушных экосистем. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : лаб. практикум. - Красноярск : ИПК СФУ, 2008. -151 с
11. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии 2-е изд., перераб. И доп.: Учебник для ВУЗов СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2002. -522 с.
12. Тимошенко Л.В., Чубик М. В. Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. – 194 с.

13. Шевелуха В.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник/ Под ред. В.С. Шевелухи. - 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 2008. – 710 с.
14. Сиротин А.А.. Практикум по микробиологии. - Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. - 80 с.

ГЛОССАРИЙ

АВТОКЛАВ – аппарат для проведения различных процессов при нагревании и под давлением выше атмосферного. В микробиол. практике применяют А. различной конструкции для **стерилизации** объектов высокотемпературным насыщенным водяным паром. См. также **стерилизация**.

АВТОТРОФЫ – организмы, способные использовать углекислоту в качестве единственного или главного источника углерода и обладающие системой ферментов для ее **ассимиляции**, а также способные синтезировать все компоненты клетки. Некоторые А. могут нуждаться в экзогенных (поступающих извне) **витаминах** и факторах роста (**ауксотрофы**). В зависимости от источника энергии, используемого А. для восстановления CO₂, различают **фотоавтотрофы** (наземные зеленые растения; водоросли; **цианобактерии**, способные к оксигенному фотосинтезу; **фототрофные бактерии**, осуществляющие **аноксигенный фотосинтез**) и **хемоавтотрофы**, получающие энергию за счет окисления неорганических соединений и осуществляющие **хемосинтез**. Большинство А. ассимилируют углекислоту через восстановительный пентозофосфатный путь (**цикл Кальвина**). А. – продуценты органического вещества в биосфере, образующие первый трофический уровень в сообществах.

АГАР, **АГАР–АГАР** – смесь полисахаридов сложного состава (**агароза**, **агаропектин**), добываемая из некоторых морских водорослей, напр. **анфельции**. При растворении в горячей воде образует **гель**. Используется как отвердитель микробиол. **сред.** Среды, содержащие 1,5–2,0 % А., плавятся при 100 °С и затвердевают при 45 °С. А. не расщепляется большинством микроорганизмов и не изменяет питательную ценность сред. Последние нередко называют соответствующим агаром–молочный А., картофельный А., яичный А. и др. В микробиол. целях впервые применен *Ф. – А. Хессе* – сотрудником *Р. Коха* – в 1883 г. См. также **среда твердая**.

АГАРОЗА – полисахарид, получаемый из морских водорослей, используется для электрофореза и хроматографии

АДВЕНТИВНЫЕ ПОЧКИ – почки, возникшие у растений из клеток и тканей, обычно их не образующих

АЗОТОБАКТЕР (*Azotobacter*) – род аэробных свободноживущих азотфиксирующих бактерий. Форма клеток овальная или кокковидная, подвижные и неподвижные, грамтрицательные, спор не образуют. Обычны на хороших почвах, продуценты ряда **витаминов**, **ауксинов**, **антибиотиков**, что объясняет их положительное влияние на рост растений. В активном состоянии связывают до 20 мг азота на 1 г использованного углевода. Некоторые виды применяются в производстве

АЗОТОБАКТЕРИН – бактериальное удобрение, содержащее свободноживущий почвенный микроорганизм *Azotobacter chroococcum*

АЗОТФИКСАЦИЯ, **ДИАЗОТРОФИЯ** – усвоение молекулярного азота воздуха азотфиксирующими прокариотными организмами с образованием соединений азота, доступных для использования др. организмами. Осуществляется как свободноживущими азотфиксирующими бактериями (**клубеньковыми бактериями**, **азоспириллы** и др.), так и симбиотическими, напр. **клубеньковыми бактериями**. А. происходит с участием полиферментной системы **нитрогеназы**, которая катализирует восстановление молекулярного азота до аммиака в присутствии АТФ и восстановителя. Симбиотические азотфиксирующие организмы могут связывать в год до 200 кг азота на 1 га, свободноживущие – 15–30 кг.

АММОНИФИКАТОРЫ – физиол. группа бактерий, использующих белки и аминокислоты в качестве энергетических субстратов, что сопровождается выделением в среду аммиака. Среди А. встречаются как спорообразующие формы (*Bacillus*), так и микроорганизмы, не образующие спор (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Proteus*).

АММОНИФИКАЦИЯ – разложение микроорганизмами азотсодержащих органических соединений (белков, мочевины, нуклеиновых кислот и др.) с образованием свободного аммиака. Белки сначала вне клетки расщепляются протеолитическими ферментами до пептидов, которые затем поглощаются клеткой и внутри нее пептидазами разлагаются до отдельных аминокислот. Аминокислоты далее могут использоваться в конструктивном метаболизме клетки микроорганизма или служить субстратом в энергетическом процессе. В последнем случае аминокислоты

подвергаются **дезаминированию**, в результате чего освобождается аммиак. При **декарбоксилировании** некоторых аминокислот возможно образование **биогенных аминов**, токсичных для человека и животных. Процесс А. в обыденной жизни называют **гниением**, поскольку при этом наряду с аммиаком выделяется сероводород, метилмеркаптан и др. вещества с характерным неприятным запахом.

АМПЛИФИКАЦИЯ – процесс образования дополнительных копий участков хромосомной ДНК

АМФИТРИХИ – бактерии с двумя полярно расположенными **жгутиками** или имеющие по пучку жгутиков на обоих концах клетки.

АНАЭРОБЫ – организмы (в основном **прокариоты**), способные жить при отсутствии в среде свободного кислорода. **Облигатные** А. получают энергию в результате **брожения** (**маслянокислые бактерии** и др.), **анаэробного дыхания** (**метаногены**, **сульфатвосстанавливающие бактерии** и др.) и **аноксигенного фотосинтеза** (**фототрофные бактерии**). Они не выносят присутствия молекулярного кислорода в среде. **Факультативные** А. способны переключаться с одного способа получения энергии на другой (дыхание – брожение) в зависимости от наличия O₂ в среде (**энтеробактерии**).

АНТАГОНИЗМ – взаимоотношения микроорганизмов в природных или лабораторных условиях, при которых один вид задерживает или подавляет полностью рост другого. Антагонистами могут быть представители всех групп микроорганизмов. При пассивном А. угнетение конкурента достигается неспецифическими продуктами жизнедеятельности (кислотами, спиртами и т. д.), при активном А. конкуренты выделяют в среду **антибиотики** или другие специфические соединения (см. **бактериоцины**). Деятельность микробов–антагонистов – один из факторов очищения почвы, воды от **патогенных** микроорганизмов.

АНТИБИОТИКИ – специфические хим. вещества, образуемые микроорганизмами, способные в малых количествах оказывать избирательное токсическое действие на другие микроорганизмы и на клетки злокачественных опухолей. К А. в широком смысле относят также антимикробные вещества тканей высших растений (**фитонциды**) и животных. Синтез А. является выражением активного **антагонизма** микробов–антагонистов.

Первый **А. (пенициллин)** был открыт *А. Флемингом* в 1929 г., термин предложил в 1942 г. *З. Бакман*. В наст. время описано более 4 тыс. А., но в качестве лекарственных средств применяется не более 100.

АНТИГЕНЫ - вещества, чужеродные для данного организма, вызывающие образование антител

АНТИТЕЛА - белковые соединения плазмы крови, образующиеся в ответ на введение в организм человека или теплокровных животных бактерий, вирусов, белковых токсинов и других антигенов

АПИКАЛЬНОЕ ДОМИНИРОВАНИЕ - преимущественное развитие верхушечной почки, которая растёт быстрее и замедляет рост боковых почек. Развивающийся из верхушечной почки побег имеет преимущественное развитие.

АУКСОТРОФЫ - микроорганизмы, в противоположность **протографам** утратившие способность к самостоятельному синтезу какого-либо метаболита (аминокислоты, **витамины** и т. д.) в результате **мутации** и потери способности к образованию соответствующих ферментов. А. могут расти только на **средах**, в которые добавлен данный метаболит.

АЭРОБЫ, **АЭРОБНЫЕ ОРГАНИЗМЫ** - организмы, нуждающиеся в молекулярном кислороде. **Облигатные** А. получают энергию только за счет **аэробного дыхания**, при котором кислород играет роль терминального окислителя. Облигатные А., нуждающиеся в пониженной концентрации кислорода в среде (порядка 2 %), получили название **микроаэрофилы**. **Факультативные** А. способны существовать как в кислородных, так и в бескислородных условиях, переключаясь с **аэробного дыхания** на **брожение** или **анаэробное дыхание** (дрожжи, энтеробактерии).

БАКТЕРИИ КИШЕЧНОЙ ГРУППЫ - бактерии сем. *Enterobacteriaceae*, включающего ряд родов (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella* и др.) - типичных обитателей кишечника животных и человека. При значительном разнообразии они обладают некоторыми общими свойствами - грамотрицательные палочки, активно подвижные, **спор** не образуют. **Факультативные анаэробы**, способны получать энергию как в процессе **дыхания**, так и в результате **смешанного** (муравьинокислого) **брожения**. В отношении питания нетребовательны - растут на простых

синтетических средах, содержащих **глюкозу**, аммоний и минеральные соли. Имеют большое значение для эпидемиологии как возбудители ряда болезней (**дизентерия**, **холера**, **чума** и др.), а также для разного рода экспериментальных исследований. Типичным и наиболее хорошо изученным представителем Б. к. г. является **кишечная палочка** (*Escherichia coli*), поэтому в санитарной микробиол. всю группу называют бактериями группы кишечной палочки (БГКП).

БАКТЕРИИ КЛУБЕНЬКОВЫЕ - бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, азотфиксирующие симбиотические бактерии, образующие **клубеньки** на корнях бобовых растений - симбионтов. Внутри клубеньков Б. к. фиксируют азот, переводя его в соединения, усваиваемые растениями, которые, в свою очередь, обеспечивают бактерии питательными веществами. В чистой культуре Б. к. палочковидной формы, подвижны, **аэробы** и **факультативные анаэробы**. В клубеньках меняют свою форму, образуя **бактероиды**, интенсивно связывающие Клубеньки с активными Б. к. содержат **леггемоглобин**, обеспечивающий анаэробные условия процесса **азотфиксации** и окрашивающий их в розовый цвет. Вне бобовых растений Б. к. могут жить как **сапротрофы**. В наст. время все представители рода *Rhizobium* отнесены к двум видам - *Rh. meliloti* и *Rh. leguminosarum*. Чистые культуры Б. к. используют для производства **бактериальных удобрений** (напр., **нитрагина**). См. также **азотфиксация**

БАКТЕРИИ МЕЗОФИЛЬНЫЕ - бактерии, для которых температурный оптимум для роста лежит в пределах 2° - 42 °С; большинство - почвенные и водные организмы.

БАКТЕРИИ МОЛОЧНОКИСЛЫЕ - бактерии родов *Lactobacillus*, *Streptococcus* и др., при сбраживании углеводов образуют **молочную кислоту**. **Факультативные анаэробы**, образуют **палочки** и **кокки**, **спор** не образуют. Растут только на сложных питательных **средах**. **Ауксотрофы** по большинству аминокислот и **витаминов**. **Ацидофилы**. Встречаются в молоке и молочных продуктах, на растениях и разлагающихся растительных остатках, в кишечнике человека и животных. Могут осуществлять **гомоферментативное** и **гетероферментативное** молочнокислое брожение (см. **брожение молочнокислое**). Участвуют в процессах силосования кормов,

квашения капусты, используются в производстве молочнокислых продуктов, молочной кислоты, декстранов.

БАКТЕРИИ САПРОТРОФНЫЕ (уст. сапрофитные) – бактерии, превращающие органические вещества отмерших организмов в неорганические, обеспечивая круговорот веществ в природе. Термин используется для противопоставления понятию «паразитическое существование бактерий» (см. **паразитизм**). Для обозначения типа питания бактерий чаще используют термин «гетеротрофные бактерии».

БАКТЕРИИ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ – бактерии, обладающие способностью образовывать термоустойчивые споры при наступлении неблагоприятных для роста условий. Аэробные и факультативно аэробные Б. с. относят к родам *Bacillus*, *Sporosarcina*, *Sporolactobacillus*; анаэробные – к родам *Clostridium*, *Desulfotomaculum*. См. также **эндоспоры**.

БАКТЕРИИ ТЕРМОФИЛЬНЫЕ – бактерии, хорошо растущие при температурах выше 40 °С; для большинства из них верхний предел температуры – 70 °С. В отличие от Б.т. термотолерантные бактерии растут до 50 °С, экстремально термофильные – при температурах выше 70 °С.

БАКТЕРИИ УКСУСНОКИСЛЫЕ – группа бактерий, способных образовывать органические кислоты путем **неполного окисления** сахаров или спиртов. В качестве конечного продукта образуют уксусную, гликолевую, глюконовую и др. кислоты. Подразделяются на две группы – «*peroxy-dans*» – накапливающие уксусную кислоту в качестве промежуточного продукта, но по мере исчерпания исходного субстрата окисляющие ее далее до углекислоты и воды (*Glucanobacter oxydans*), и «*suboxydans*», у которых далее уксусная кислота не окисляется (*Acetobacter aceti*, *A. pasteurianum*). Б. у. – грамотрицательные палочки, подвижны, живут обычно на растениях. **Ацидофилы**. Используются для получения пищевого уксуса на основе спиртосодержащих жидкостей, а также в процессе полусинтетического производства аскорбиновой кислоты из глюкозы.

БАКТЕРИИ ФОТОТРОФНЫЕ – бактерии, способные использовать свет как источник энергии для роста. К Б. ф. относят – **пурпурные, зеленые** бактерии, **гелиобактерии**, осуществляющие фотосинтез без выделения кислорода (**аноксигенный фотосинтез**),

и **цианобактерии**, выделяющие на свету кислород (оксигенный фотосинтез).

БАКТЕРИИ ХЕМОТРОФНЫЕ – бактерии, получающие энергию для роста (в отличие от **фототрофных бактерий**) за счет окисления хим. соединений. В зависимости от природы используемого субстрата различают **хемоорганотрофные** бактерии, окисляющие органические соединения, и **хемолитотрофные** бактерии, окисляющие неорганические соединения, напр. восстановленные соединения серы, ионы аммония, водород и др.

БАЦИЛЛЫ – 1) тривиальное название любых бактерий палочковидной формы; 2) представители рода *Bacillus*, включающего аэробные и факультативно анаэробные грамположительные палочковидные спорообразующие бактерии; 3) в *ненаучном словоупотреблении* различные безвредные бактерии.

БИОРЕАКТОР – емкость для проведения биол. процессов. Термин применим как к аппаратам для лаб. или пром. выращивания микроорганизмов в жидкой **среде** (см. **ферментер**), так и к колонкам для проведения **биотрансформаций веществ** с помощью **иммобилизованных ферментов** и клеток.

БИОСИНТЕЗ – промышленное получение чего-либо (антибиотиков, гормонов, витаминов, аминокислот и других необходимых людям веществ) с помощью микроорганизмов

БИОТА – совокупность **видов** растений, животных и микроорганизмов, объединенных общей областью распространения. В отличие от **биоценоза** может характеризоваться отсутствием экологических связей между видами.

БИОТЕХНОЛОГИЯ – совокупность пром. методов, использующих живые организмы (преимущественно одноклеточные) и биол. процессы для производства пищи, лекарственных средств и других полезных продуктов, а также для решения проблем охраны природы, связанных с очисткой сточных вод, воздуха, почвы и др.; в *узком значении* те же технологии, но только с использованием продуцентов, полученных методами **генетической инженерии**.

БРОЖЕНИЕ – анаэробный метаболический процесс превращения органических веществ, при котором АТФ образуется за счет субстратного фосфорилирования, а продукты расщепления

субстрата могут одновременно служить как донорами, так и **акцепторами водорода**. К Б. способны животные, растения и многие микроорганизмы, для некоторых из них это единственный способ существования. Б. могут подвергаться спирты, органические кислоты, аминокислоты, но чаще всего — углеводы. В зависимости от сбраживаемого субстрата и путей его метаболизма (у разных организмов) продуктами Б. могут быть спирты, органические кислоты, ацетон, некоторые другие соединения, а также CO_2 и H_2 . В соответствии с конечными продуктами Б. различают Б. **спиртовое, молочнокислое, маслянокислое, муравьинокислое**, или смешанное, **пропионовокислое** и др. Б. — эволюционно более ранний энергетический процесс, нежели **дыхание**, играет большую роль в круговороте веществ в природе. Ряд Б. (спиртовое, молочнокислое и др.) имеют огромное практическое значение.

БРОЖЕНИЕ МАСЛЯНОКИСЛОЕ — тип брожения, осуществляемый сахаролитическими анаэробными **клубридиями**, расщепляющими **крахмал, декстрин, инулин, маннитол, пектин** и др. Расщепление гексоз идет по **гликолитическому пути**. **Акцепторами водорода** служат органические кислоты или кетоны, образующиеся из **пирувата** или ацетил-КоА. В результате доминирующими продуктами брожения являются **бутират, ацетат, CO_2 , иногда H_2** . При этом ацетон и бутанол не образуются, что отличает этот тип брожения от **брожения ацетон-бутилового**.

БРОЖЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛОЕ — тип брожения, осуществляемый **молочнокислыми бактериями**. В зависимости от того, какие продукты образуются при сбраживании глюкозы — только **молочная кислота** или вместе с ней также этанол, ацетат и углекислота, — принято различать **гомоферментативное** и **гетероферментативное** Б. м. При гомоферментативном Б. м. не менее 90% всех продуктов брожения составляет молочная кислота. Катаболизм глюкозы идет по **гликолитическому пути**, образующийся восстановитель расходуется на восстановление **пирувата** до **лактата**. Небольшая часть **пирувата** может **декарбоксилироваться**, превращаясь в уксусную кислоту, этанол и CO_2 . **Бактерии**, осуществляющие гетероферментативное Б.м., не имеют главных ферментов гликолитического пути — **альдозазы** и **триозофосфатизомеразы**. Начальное превращение глюкозы идет у них по **пентозофосфатному пути** с образованием **акцепторов водорода** — ацетилфосфата и глицеральдегидфосфата. В результате

их восстановления образуются **ацетат, этанол, молочная кислота**. **Гомоферментативное** Б. м. осуществляют **мезофилы** — *Streptococcus lactis*, *S. faecalis*, *S. cremoris*, и др., **термофилы** — *Lactobacillus lactis*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii* и др.; **гетероферментативное** — *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Bifidobacterium bifidum* и др. Б. м. широко используется в пищевой пром-ти, в производстве кормов, молочной кислоты.

БРОЖЕНИЕ ПРОПИОНОВОКИСЛОЕ — тип брожения, осуществляемый **пропионовокислыми бактериями**, использующими в анаэробных условиях широкий круг соединений — **глюкозу, сахарозу, лактозу**, а также **лактат, малат, глицерол** и др. с образованием **пропионовой кислоты**. Расщепление гексоз происходит по **гликолитическому пути**. Восстановление **пирувата** идет по **метилмалонил-КоА-пути**, названному так по характерному промежуточному продукту (**метилмалонил-КоА**). При этом **пируват** сначала **карбоксилируется** до **оксалацетата**, который последовательно восстанавливается до **сукцината** через **малат** и **фумарат**. На уровне **метилмалонил-КоА**, образующегося из активизированного **сукцината** (**сукцинил-КоА**), происходит **декарбоксилирование** и образование **пропионил-КоА**, а затем — **пропионата** как продукта брожения.

БРОЖЕНИЕ СПИРТОВОЕ — тип брожения, осуществляемый **дрожжами** и некоторыми **бактериями**, в результате которого образуется **этанол**. Расщепление сахаров дрожжами осуществляется по **гликолитическому пути**. Образующийся **пируват** сначала **декарбоксилируется** до **ацетальдегида**, последний при участии **НАДН** восстанавливается до **этанола**. Если искусственно связать **ацет-альдегид** **бисульфитом**, то **акцептором водорода** будет выступать **дигидроксиацетонфосфат** и в качестве конечного продукта образуется **глицерин**. Этот прием используется в пром-ти для получения **глицерина**. Образование **этанола** бактериями (*Zytoponas mobilis*) связано с разложением **глюкозы** по **пути Энтнера-Дудорова**; превращение образующегося **пирувата** идет тем же путем, что и у дрожжей. **Этанол** также является побочным продуктом др. типов брожения. Б. с. широко используется в виноделии, пивоварении, пром. производстве **этанола, глицерина**.

ГРИБЫ (*Fungi, Mycota*) – большая группа эукариот, включающая, по данным разных авторов, от 100000 до 250000 видов. Традиционно Г. относили к низшим растениям. Г. отличаются от растений гетеротрофным способом питания. Хитиновые оболочки клеток большинства Г., характер углеводного

и азотного обмена, синтез специфических метаболитов — гликогена, серотонина, мочевины, характерных для животной клетки, особый путь синтеза лизина, состав стеролов отличают Г. от растений. Основные отличия клеток Г. от животной клетки (**простейших**) — абсорбционный способ питания (всей поверхностью тела), а не голозойный (путем заглатывания пищи); размножение спорами и в основном постоянная неподвижность тела. Характер признаков, сближающих Г. с растениями, и признаков, сближающих их с животными, различен. Общие признаки для Г. и растений — в основном морфологические, а для Г. и животных — физиолого-биохимические. В наст. время считается, что Г. по строению, характеру обмена и способу питания занимают промежуточное положение между животными и растениями и несут отдельные черты как тех, так и других. Предполагается, что Г. выделились в отдельный ствол живого мира еще до разделения живых организмов на животные и растения и представляют самостоятельную эволюционную (филогенетическую) линию **эукариот**. На этом основании Г. рассматривают как отдельное царство живого мира (*Fungi, Mycota*), занимающее промежуточное положение между царствами животных и растений. Наибольшее значение в **систематике** Г. придается наличию или отсутствию у них подвижности, строению подвижных стадий (зооспор, гамет) и составу клеточной стенки. Анализ этих признаков показывает, что среди Г. встречаются как постоянно неподвижные организмы, так и подвижные в вегетативном состоянии или только на определенных стадиях развития (бесполое или половое размножение). **грибы анаморфные**, грибы несовершенные — группа **грибов** с клеточным мицелием, утративших половую стадию (сумчатую или реже базидиальную) и размножающихся только бесполым путем — конидиями или вегетативно — почкованием. Около 3000 **видов**. Выявление принадлежности видов этой группы к отделам **сумчатых** или базидиальных грибов возможно только по молекулярно-генетическим и микроморфологическим (строение септы, наличие пряжек и т. д.) признакам. У некоторых, но далеко не у всех, видов этой группы установлена связь между бесполым спороношением (анаморфой) и половой стадией (телеоморфой). Поэтому прагматический подход привел к созданию формальной, пригодной для идентификации, системы. Группа включает 3 класса — Гифомицеты (*Hyphomycetes*), Целомицеты (*Coelomycetes*),

Агономицеты (*Agono-mycetes*). А. г. широко распространены в природе. Они входят в состав многочисленных экологических групп грибов-почвенных, ксилофильных (обитающих на древесине), паразитов растений, хищных (улавливающих микроскопических животных и питающихся ими), водных, микофильных (обитающих как паразиты на других грибах), энтомофильных (паразитирующих на насекомых) и др. К этой группе грибов относится большое число видов — возбудителей болезней сельскохозяйственных культур (*Botrytis*, *Verticillium*, *Cladosporium* и др.). Многие виды вызывают порчу кормов и продуктов питания (*Fusarium*, *Trichothecium* и др.). Среди А. г. есть виды — продуценты **антибиотиков** и ферментов (*Aspergillus*, *Penicillium*). Их широко используют в микробиол. пром-ти. В природе А. г. участвуют в разложении растительных остатков и в почвообразовательном процессе (роды *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* и др.). Среди А. г. встречаются виды, патогенные для человека и животных, а также виды, которые, поселяясь на фураже и продуктах питания, выделяют **токсины**, способные вызвать тяжелые отравления животных и человека (*Aspergillus*, *Fusarium*).

ДЕДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ — упрощение структуры клеток, связанное с временной потерей признаков их специализации, когда дифференцированная клетка вновь становится эмбриональной. Возникает под действием механических, термических, химических и лучевых агентов, при культивировании тканей

ДЕНИТРИФИКАЦИЯ — микробиол. процесс восстановления окисленных соединений азота (нитратов, нитритов) до газообразных продуктов (обычно до N_2 , иногда до N_2O , редко до NO). Происходит в результате жизнедеятельности **бактерий** родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus* и др. — факультативных анаэробов, использующих в отсутствие кислорода нитраты и нитриты в качестве конечных **акцепторов электронов (анаэробное дыхание, нитратное дыхание)**. При этом бактерии окисляют органические и неорганические вещества. В ходе Д. связанный азот удаляется из почвы и воды с освобождением N_2 в атмосферу. Процесс активно протекает в затопляемых почвах и может служить причиной потерь азота в земледелии. Д. замыкает цикл азота в **биосфере** и препятствует накоплению оксидов азота, которые в высоких концентрациях токсичны. Важный процесс в очистке

сточных вод от нитратов, обеспечивает также постоянное содержание NO в атмосфере Земли.

ДИПЛОКОККИ — морфотип **бактерий** кокковидной формы, клетки которых располагаются в культуре парами. См. также **кокки**.

ДРОЖЖИ — сборная группа микроскопических **грибов** (размеры 1,5–2,0 до 10–12 мкм), не имеющих типичного **мицелия**. Размножаются делением или почкованием. Известно около 500 **видов**. Д. — **гетеротрофы** с окислительным или бродильным типом **метаболизма**. Обычны на плодах, ягодах растений, в почве. Широко используются в науке как модели эукариотических клеток, а также в пищевой (пивоварение, хлебопечение, виноделие и др.) и в микробиол. пром-ти (производство **БВК**, **этанол**, **г**

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота — макромолекула (одна из трёх основных, две другие — РНК и белки), обеспечивающая хранение, передачу из поколения в поколение и реализацию генетической программы развития и функционирования живых организмов. ДНК содержит информацию о структуре различных видов РНК и белков **лицирина** и др.).

ДНК ЛИГАЗЫ — ферменты, катализирующие соединение двух молекул с образованием новой химической связи

ДНК РЕПЛИКАЦИЯ — процесс синтеза дочерней молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты на матрице родительской молекулы ДНК

ДРОЖЖИ ПИВНЫЕ — специальные **штаммы дрожжей** *Saccharomyces cerevisiae*, используемых в производстве пива. В ряде стран в качестве Д. п. применяются *Saccharomyces carlsbergensis*. В зависимости от свойств различают также **верховые** и **низовые** Д. п.

ЖГУТИК — органелла движения у **прокариот** и ряда **водорослей, простейших**. Основание Ж. (блефаропласт — у прокариот, **кинетосомы** — у простейших) располагается на внешней стороне плазматической мембраны. Ж. простейших состоит из 9 пар периферийных белковых микротрубочек (**аксонем**) и пары микротрубочек в центре (структура 9 + 2). Снаружи аксонема одета плазматической мембраной. Диаметр Ж. простейших — 0,2 мкм, длина — до 150 мкм; число Ж. на клетку — от 1 до 4. Ж. прокариот (диаметр 12–18 нм, длина до 20 мкм) состоят из пучка белковых (белок **флагеллин**) нитей, закрученных вокруг

внутреннего пространства, образующих таким образом микрогубочку. Внешняя оболочка отсутствует. Число белковых нитей (3—11) различно у разных видов. Ж. обладают антигенными свойствами (Н-антигены). Количество Ж. на клетку может колебаться от 1 (монотрихи) до сотен (перитрихи). Движение клетки обеспечивается вращением Ж. в ту или иную сторону. В зависимости от числа и расположения Ж. на поверхности микробной клетки различают **монотрихи**, **перитрихи**, **лофотрихи**, **амфитрихи**.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ — определение таксономического положения организма (микроорганизма) на основании его морфологических, культуральных, биохим. и др. свойств.

ИММЕРСИОННОЕ МАСЛО — кедровое масло с показателем преломления, близким к стеклу ($n = 1,5$). Используется в микрокопии с целью увеличения числовой апертуры объектива за счет уменьшения потерь света при преломлении и отражении.

ИМОБИЛИЗАЦИЯ — физический и химический процесс, используемый для мобилизации в мембранах клеточных ферментов

ИНДИКАТОРЫ — вещества, изменяющие или приобретающие окраску при изменении параметров среды (чаще всего pH), в том числе в результате развития **микробной культуры**. В последнем случае введенные в **питательную среду** И. позволяют визуально оценивать рост культуры по синтезу каких-либо специфичных соединений. Напр., фенолфталеин при переходе от нейтральной среды к щелочной из бесцветного становится красным, что указывает на синтез организмом щелочных продуктов. В микробиол. практике И. часто используются для контроля pH среды непосредственно перед посевом культуры.

ИНКУБАЦИЯ — выдерживание **микробной культуры** при определенных параметрах (температурных, кислородных и т. д.) в течение фиксированного времени. Используется, напр., в исследовательской работе для адаптации культур к условиям эксперимента, которые могут отличаться от условий их выращивания.

ИНОКУЛЯТ, ПОСЕВНОЙ МАТЕРИАЛ — суспензия живых **клеток**, вводимая в **питательную среду** с целью получения новой культуры микроорганизма. Для получения жидких культур объем И. составляет обычно 4—10 % от объема питательной среды.

ИНОКУЛЯЦИЯ — введение живых организмов в **среды**, организмы растений и животных; в *микробиол. практике* чаще употребляют термин посев, в *мед.* — заражение.

КЛАСС — один из высших систематических **таксонов**, объединяющий родственные отряды или порядки.

КЛАССИФИКАЦИЯ — разбивка множества организмов на основе их характеристик по определенной системе иерархически соподчиненных групп — **таксонов** (**классы**, **семейства**, роды, **виды** и др.). Различают естественную и искусственную классификации. **Естественная**, или филогенетическая, К. учитывает всю совокупность признаков, присущих классифицируемым живым объектам, что позволяет их сближать и противопоставлять друг другу; она отражает исторически сложившиеся закономерные (эволюционные) связи между ними. В силу сложности определения у **прокариот** необходимых признаков для построения естественной классификации в настоящее время для их **систематики** используется **искусственная** К. В 9-м издании Определителя бактерий Берджи все прокариоты разбиты на 35 групп, не имеющие таксономического статуса. Распределение **бактерий** по группам основывается на немногих легко определяемых признаках—напр., в группу 1 входят **спирохеты**, в группу 4 — грамотрицательные аэробные палочки и **кокки**, группу 10 составляют **фототрофные бактерии**, осуществляющие бескислородный **фотосинтез**, и т. д. Однако в этом же руководстве на основе различий в строении **клеточной стенки** предложена схема деления царства *Prokaryotae* на высшие **таксоны**—отделы, классы (Murray, 1984). Первый отдел включает грамотрицательные бактерии с клеточной стенкой (*Gracilicutes*); второй — грамположительные бактерии с клеточной стенкой (*Firmicutes*); третий — бактерии, у которых клеточная стенка отсутствует (*Tenericutes* с одним **классом** *Mollicutes*); в четвертый отдел включены **архебактерии**, которые в настоящее время выделяют в отдельное царство (домен) **архей**, как представляющих самостоятельную эволюционную ветвь.

Начиная с 60-х гг. XX в. в связи с успехами мол. биол. возникли серьезные предпосылки для создания естественной К. прокариот. Появилась возможность установления степени родства между отдельными организмами на основании—определения процентного содержания гуанина и цитозина (ГЦ) от общего количества оснований ДНК у разных объектов; определения

генетического сходства с помощью ДНК—ДНК-гибридизации; сравнения продуктов отдельных генов, ответственных в клетке за образование важных функциональных белков (ферредоксинов, цитохромов и др.). Наконец, было установлено, что важную информацию для решения проблем эволюционной систематики несут рибосомальные РНК (рРНК). Данные молекулы обнаружены у всех клеточных форм жизни, они эволюционируют в результате спонтанных мутаций, происходящих с постоянной скоростью, их накопление зависит только от времени. На этом основании мерой эволюционной близости или отдаленности анализируемых организмов является количество нуклеотидных замен в молекулах сравниваемых рРНК.

КЛЕТКА — основная структурная и функциональная единица всех живых организмов. У одноклеточных, т. е. у большинства микроорганизмов, существует как отдельный организм.

КЛОН — культура микроорганизма (популяция клеток), полученная из одной (родительской) клетки путем бесполого размножения.

КЛОНИРОВАНИЕ — появление естественным путем или получение нескольких генетически идентичных организмов путем бесполого размножения

КЛОСТРИДИИ (*Clostridium*) — род спорообразующих палочковидных бактерий; обычно подвижны; грамположительные; при спорообразовании клетка раздувается в месте залегания споры. Анаэробы. Сбраживают углеводы (сахаролитические К. — возбудители маслянокислого и ацетобутилового брожения), азотистые вещества (пептоллитические К.). Мезофилы и термофилы. Обитатели воды, почвы, илов, пищевых продуктов. Ряд видов патогенны — *C. botulinum* — возбудитель ботулизма; *C. perfringens* и *C. histolyticum* — возбудители газовой гангрены; *C. tetani* — возбудитель столбняка. Некоторые К. фиксируют молекулярный азот. Сахаролитические К. применяются в пром-ти для получения ацетона и бутанола.

КОККИ — бактерии, клетки которых имеют шаровидную форму. В большинстве не обладают подвижностью. Спор, как правило, не образуют (за исключением рода *Sporosarcina*). Могут формировать достаточно устойчивые скопления клеток, что является диагностическим признаком — диплококки, стрептококки,

сарцины, стафилококки. Обычные обитатели почвы, воды, воздуха. Сапротрофы, имеются патогенные виды. Термин таксономического значения не имеет.

КОЛИ-ИНДЕКС — количество клеток *Escherichia coli* в литре воды или килограмме твердого субстрата (напр., почвы). Показатель загрязнения водоемов, почв хозяйственно-бытовыми сточными водами. Обратная величина К. — и. — коли-титр. По действующему в нашей стране стандарту на питьевую воду ее К. — и. должен составлять не более 3, а коли-титр соответственно — не менее 300.

КОЛИ-ТИТР — см. коли-индекс.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГЛУБИННОЕ — выращивание микроорганизмов в жидкой или агаризованной среде ниже ее поверхности.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ НЕПРЕРЫВНОЕ — выращивание микроорганизмов с постоянным обновлением среды (турбидостат, хемостат).

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ПЕРИОДИЧЕСКОЕ — выращивание микроорганизмов на несменяемой среде от инокуляции до окончания роста клеток вследствие истощения питательных субстратов или накопления вредных веществ.

КУЛЬТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ, культура микробная — клетки определенного вида (видов) микроорганизма, выращенные in vitro на питательной среде.

КУЛЬТУРА ЧИСТАЯ — культура, состоящая из микробных клеток одного вида. По способу получения представляет собой потомство (клон) одной клетки. То же, что и культура аксеничная.

ЛАМИНАРНЫЙ БОКС, **ЛАМИНАР** — устройство для обеспечения асептических условий, необходимых для микробиол. работ. Представляет собой, по существу, вытяжной шкаф, но работающий «наоборот», т. е. создающий в камере большего или меньшего объема поток стерильного воздуха, выдуваемого наружу со всей площади стенки, противоположной экспериментатору. **Стерилизация** воздуха в Л. б. осуществляется путем механического фильтрования, а также применением электрофильтров.

ЛАМПА БАКТЕРИЦИДНАЯ — газоразрядный источник УФ-излучения, используемый для стерилизации воздуха и некоторых

жидкостей. Наполнена инертным газом (напр., ксеноном) с небольшим количеством паров ртути или кадмия. Мощность — до 90 Вт.

ЛИГИРОВАНИЕ - формирование фосфодиэфирных связей между близлежащими (соседними) нуклеотидами в одной и той же или двух различных молекулах ДНК через 5'-фосфатные и 3'-гидроксильные группы. Впервые этим способом гибридная ДНК была получена С. Козном с сотр. в 1973 г

ЛИОФИЛИЗАЦИЯ — способ сушки влагосодержащих материалов, продуктов, культур микроорганизмов при низкой температуре (из замороженного состояния) в вакууме. Используется при хранении и консервации продуктов, пром. штаммов микроорганизмов (культура лиофилизированная), для получения сухой плазмы крови, сывороток, вакцин. Лيوфилизированные материалы, культуры восстанавливают свои исходные свойства при добавлении к ним воды. (Происхождение термина связано со свойством **лиофильности** высушенных таким способом материалов и культур.)

ЛОФОТРИХИ — бактерии с монополярным расположением пучка жгутиков (*Pseudomonas, Chromatium* и др.).

ЛУЧИСТЫЕ ГРИБКИ (уст.) — см. актиномицеты.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МИКРОСКОП — см. микроскоп.

МАРКЕР (ДНК) - полиморфный признак, выявляемый методами молекулярной биологии на уровне нуклеотидной последовательности ДНК, для определенного гена или для любого другого участка хромосомы при сравнении различных генотипов, особей, пород, сортов, линий

МАТРИЦА - нуклеотидная последовательность РНК или одноцепочечной ДНК, являющаяся основой («шаблоном») для ферментативного синтеза комплементарной ей полинуклеотидной последовательности

МЕЗОФИЛЫ — микроорганизмы, температурный оптимум которых лежит в пределах от 20 до 42 °С. К М. относится большинство почвенных и водных микроорганизмов. Свободноживущие М. в холодные сезоны года неактивны.

МЕРИСТЕМЫ - обобщающее название для тканей растений, состоящих из интенсивно делящихся и сохраняющих физиологическую активность на протяжении всей жизни клеток, обеспечивающих непрерывное нарастание массы

растения и предоставляющих материал для образования различных специализированных тканей

МЕТАБОЛИЗМ - набор химических реакций, которые возникают в живом организме для поддержания жизни. Эти процессы позволяют организмам расти и размножаться, сохранять свои структуры и отвечать на воздействия окружающей среды

МИКРОБИОЛОГИЯ — наука о микроорганизмах. Впервые микроорганизмы описаны А. Левенгуком в 1683 г., но как наука М. сформировалась во второй половине XIX в. под влиянием работ Л. Пастера. Он впервые установил биол. природу ряда хим. процессов (**брожения**), отстаивал теорию микробного происхождения инфекционных болезней, открыл возможность жизни без воздуха (**анаэробизм**), опроверг гипотезу самозарождения. Работы Р. Коха и его сотрудников по созданию приемов **культивирования** микроорганизмов, получению **чистых культур** позволили в течение короткого времени открыть возбудителей многих болезней (см. **Коха постулаты**) и послужили началом мед. М. С именами С. Н. Биноградского, М. Бейеринка связаны классические исследования различных физиологических групп микроорганизмов, что окончательно выдвинуло М. в начале XX в. в ряд экспериментальных наук. Кроме **бактерий**, объектами М. являются и др. живые существа малых размеров — **грибы**, микроводоросли, **простейшие**. Методы М. применяются также для культивирования клеток высших организмов. Общая М. изучает морфологию, биохимию, физиологию, генетику, систематику микроорганизмов, их роль в природе. В соответствии со средами обитания микроорганизмов общая М. разделяется на почвенную, водную, геологическую, которые составляют часть экологии микроорганизмов. Кроме этого, существует целый ряд разделов М., отличающихся объектами исследований и методологией. Медицинская и ветеринарная М. уделяют преимущественное внимание микроорганизмам, значимым для здоровья человека и животных. Микробиол. объекты и процессы широко применяются в **биотехнологии**. Современная М. использует достижения и методы физ. — хим. биологии, цитологии, генетики, мол. биологии и представляет собой вполне сложившуюся науку с выработанной методологией и развитыми техническими приемами.

МИКРОБИОТА (МИКРОФЛОРА) — совокупность различных видов микроорганизмов, населяющих определенную среду

обитания (М. почвы, воды, воздуха, горных пород и др.). По происхождению различают **автохтонную** М. и **аллохтонную** М., по типу питания – **эвтрофную**, представляющую комплекс микроорганизмов, разлагающих органические вещества; **олиготрофную** М., или М. **рассеяния**, завершающую минерализацию органического вещества; **литотрофную** М., трансформирующую минеральные соединения горных пород, газы. Микроорганизмы, развивающиеся на поверхности растений (**эпифитная** М.), метаболизируют выделения из тканей. Кожа, слизистые оболочки, кишечник и др. органы человека и животных имеют постоянную, так называемую **нормальную** М. В значении М. использовался и используется термин «микрофлора», что не совсем корректно, поскольку **бактерии**, микроскопические **грибы** не относят в наст. время к царству растений.

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ – один из способов вегетативного размножения в условиях «in vitro»

МИКРОКОККИ – морфотип грамположительных **бактерий**, имеющих шаровидную форму. После деления материнской клетки дочерние расходятся, не образуя групп сцепления, как это наблюдается у **диплококков**, **стрептококков**, **сарцин** или **стафилококков**.

МИКРООРГАНИЗМЫ, **МИКРОБЫ** – обобщенное название организмов, размеры которых не превышают 1 мм. Обычно видны только с помощью **микроскопа**. К М. относят как **прокариот** – **бактерии**, **археи**, – так и **эукариот** – дрожжевые и **плесневые грибы**, микроводоросли, **простейшие**. М. – объекты **микробиологии**.

МИКРОСКОП – оптический прибор для получения увеличенного изображения объектов, не различимых невооруженным глазом. В микробиол. используется световой и электронный М. Один из основных показателей М. – разрешение – возможность различать два соседних объекта или точки. Теоретический предел разрешения М. – половина длины волны излучения; чем короче волна излучения, тем выше разрешение М. Лучшие световые М. дают увеличение в 1500 раз при разрешении 200 нм, электронные М. благодаря более короткой длине волны электронов – в 250 000 при разрешении 0,5 нм. Существует множество приемов, позволяющих улучшить качество изображения как светового, так и электронного М. См. также **микроскопия**.

МОНОТРИХИ – палочковидные **бактерии**, имеющие единственный **жгутик**, расположенный терминально или латерально. Типичными М. являются **вибрионы**.

МОРФОГЕНЕЗ – возникновение и развитие органов, систем и частей тела организмов как в индивидуальном (онтогенез), так и в историческом или эволюционном, развитии (филогенез).

МЯСОПЕПТОННЫЙ БУЛЬОН (МПБ) – среда для культивирования **гетеротрофных** микроорганизмов. Помимо экстрактивных веществ из говяжьего мяса, содержит 0,5 % поваренной соли и 1 % **пептона**. Должен иметь слабощелочную реакцию.

НАНОМЕТР (нм) – единица длины, равная 10^{-9} м, 10^{-3} мкм, или 10 ангстремам (А).

НИТРИФИКАЦИЯ – процесс биол. окисления аммиака, образующегося при деградации органических веществ до нитрата. Происходит в аэробных условиях в воде и почве. Автотрофная Н. осуществляется последовательно двумя группами нитрифицирующих бактерий–нитрификаторы 1-й фазы (роды *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Mitrosococcus*, *Nitroso-lobus*) окисляют аммиак до **нитрита**– $\text{NH}_4 + 2\text{O}_2 = \text{NO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$; затем нитрификаторы 2-й фазы (роды *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*) нитрит–ион окисляют в нитрат–ион– $2\text{NO}_2 + \text{O}_2 = 2\text{NO}_3$.. **Нитрифицирующие бактерии** (выделены и описаны в 1890 г. С. Н. Биноградским) – облигатные автотрофы, органические вещества не поддерживают их рост. Гетеротрофная Н. осуществляется различными организмами, включая **грибы**, связана с окислением не только аммиака, но и органических соединений азота. Н. – основной путь образования нитрата в природе, играет важную роль в круговороте азота в **биосфере**.

ОКРАСКА БАКТЕРИЙ ПО ГРАМУ – метод дифференциальной окраски **клеток прокариот**, разработанный датским микробиол. Х. Громом в 1884 г. Заключается в последовательной обработке мазка клеток основными **красителями** (напр., кристаллическим фиолетовым) и иодом и последующем отмывании его в **этанол**е или ацетоне. В зависимости от свойств **клеточной стенки бактерий** красители могут удерживаться ими в разной степени. Бактерии, сохраняющие окраску после обработки растворителями, получили название грамположительных (Гр+), а обесцвечивающиеся – грамотрицательных (Гр–). О. б. Г. –

систематический признак. Разделение бактерий по этому признаку, как стало известно позднее, указывает на филогенетические взаимоотношения между разными группами прокариот, поскольку отражает различия не только в строении клеточной стенки бактерий, но и в структуре мембранного аппарата, составе рибосомальных белков, чувствительности к **антибиотикам**, а также частично согласуется с дифференцировкой по функциям (**фототрофия**, **хемоавтотрофия** и др.). Встречаются организмы с вариабельной реакцией на О. б. Г.

ОЛИГОТРОФЫ — микроорганизмы, развивающиеся на **средах** с низкой концентрацией питательных веществ. О. чаще всего обитают в водоемах с невысоким уровнем первичной продуктивности. Это обычно озера и горные реки с холодной и насыщенной кислородом водой, бедной биогенными элементами (олиготрофные водоемы). Максимальная **первичная продуктивность** их не превышает 0,1–0,3 г/м² в сутки. В почве О. занимают место в конце пищевых цепей, представляя **микрофлору рассеяния** (диссипотрофы). Ср. **копиотрофы**.

ОРГАНОГЕНЕЗ — формирование органов в процессе эмбрионального развития организма

ПАССАЖ — 1) прививка **бактерий** от одного животного другому; 2) перенос (пересев) культуры **микроорганизма** на новую по составу **среду**. Обычно термин употребляется с числовым значением (1-й П., 2-й П. и т. д.), что указывает на способность организма адаптироваться к данной среде. При полной адаптации число пересевов (П.) не ограничено. При отсутствии адаптации рост возможен при первом П., напр. за счет компонентов среды **инокулята**, но при новых П. рост культуры будет сильно замедляться или совсем прекратится.

ПАСТЕРИЗАЦИЯ — способ уничтожения вегетативных форм **микроорганизмов** в жидких **средах**, пищевых продуктах путем однократного и непродолжительного их нагрева до температур ниже 100 °С. Обычный режим пастеризации—60—70 °С в течение 15–30 мин. Применяется для обработки молока, вин, пива и др. При П. погибает большинство **бактерий**, **грибов**, разрушаются ферменты, но сохраняются **витамины** и вкусовые качества продуктов. Предложена Л. Пастером.

ПАТОГЕННОСТЬ — свойство паразитического **микроорганизма** образовывать **токсины** (**экзотоксины** и

эндотоксины), обладающие высокой активностью по отношению к отдельным тканям организма хозяина (нервная, мышечная) или широкого спектра действия, что приводит к возникновению клинической картины болезни различной тяжести, вплоть до смертельного исхода. П. вместе с **инфекционностью** и **инвазивностью** определяют болезнетворность микроорганизма. См. также **вирулентность**.

ПЕНИЦИЛЛИН — **антибиотик** грибного происхождения. Открыт А. Флемингом в 1929 г. Исходная молекула — 6-аминопенициллановая кислота. Продуценты П. — **плесневые грибы пенициллы** и **аспергиллы**. В СССР был впервые получен в пром. масштабах в 1942 г. Известно более 40 аналогов П., в том числе созданных с помощью хим. модификации исходной молекулы. П. оказывает действие на растущие **клетки бактерий**, вызывая нарушения в синтезе **клеточной стенки**. Обладает мощным антимикробным действием в отношении грамположительных бактерий (**кокков** и некоторых анаэробных **палочек**). Как один из наименее токсичных антибиотиков до сих пор применяется в мед. практике при лечении гнойных инфекций, вызываемых **стафилококками**, **стрептококками**.

ПЕПТОН — продукт неполного гидролиза белков, состоящий из аминокислот, дипептидов, трипептидов, а также водорастворимых полипептидов. В микробиол. практике применяется для приготовления некоторых **питательных сред**. См. также **мясопептонный бульон**.

ПЕРИТРИХИ — **бактерии**, имеющие многочисленные **жгутики**, прикрепляющиеся по всей поверхности **клетки** или вдоль боковых ее поверхностей.

ПЕТРИ ЧАШКА — плоский круглый контейнер диаметром 8—10 см из стекла или прозрачной пластмассы, используемый для культивирования **микроорганизмов** на **агаризованной среде**. Предложена учеником Р. Коха нем. бактериологом Ю. Р. Петри в 1887 г.

ПЛАЗМИДА — небольшие молекулы ДНК, физически отдельные от геномных хромосом и способные реплицироваться автономно

ПОПУЛЯЦИЯ — совокупность особей одного **вида**, длительно занимающая определенное пространство и воспроизводящая себя в течение большого числа поколений.

Термин применим, по существу, к любой культуре **микроорганизмов**.

ПРОКАРИОТЫ – одно из надцарств мира живых существ. В противоположность **эукариотам** имеют целый ряд отличительных признаков–генетический аппарат их клеток представлен двойной замкнутой нитью ДНК (**бактериальной хромосомой**), не отделенной мембраной от цитоплазмы; гистоны и митотический аппарат отсутствуют, нет интронов; отсутствуют **органеллы**, свойственные эукариотам (хлоропласты, митохондрии), их функции выполняют инвагинации цитоплазматической мембраны внутрь клетки; клеточная мембрана за небольшим исключением не содержит стеринов; **жгутики** имеют простое строение; в состав **клеточной стенки** входит пептидогликан **мурейн**, нет целлюлозы, **хитина**. В физиол. отношении чрезвычайно разнообразные организмы; в отличие от эукариот ряд П. способны к **азотфиксации**. Названные признаки в значительной степени характеризуют представителей одного из царств П. – **бактерий (эубактерий)**. Другое царство П. включает **архей** (архебактерии), имеющие сходный общий план строения клетки, но существенно различающиеся организацией ряда ее структур, биохим. составом последних, а также физиол. признаками. Согласно современным взглядам, П. являются наиболее древними организмами. См. также **архей, бактерии**.

ПРОМОТОР - участок гена, ответственный за начало его транскрипции

ПСИХРОФИЛЫ – микроорганизмы, хорошо растущие при пониженных температурах. облигатные П. не могут расти при температурах выше 20 °С, но растут при 0 °С и даже при отрицательных температурах, напр. на нижней стороне плавучих льдов. В основном водные организмы.

РАСТИТЕЛЬНЫЙ ГОРМОН - природное или синтетическое органическое вещество, отличающееся от питательного вещества тем, что изменяет или контролирует один или несколько специфических физиологических процессов у растений

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ГЕН - ген, состоящий из компонентов различных генов

РЕКОМБИНАНТНАЯ ДНК - результат объединения фрагментов ДНК из различных источников

РЕСТРИКТАЗЫ - ферменты, разрезающие ДНК по определенным нуклеотидным последовательностям (сайтам рестрикции). Открыты в конце 60-х гг XX в. как агенты, элиминирующие чужеродные нуклеиновые кислоты (вирусов) в клетках бактерий. В дальнейшем было показано, что Р. кодируются не только геномом бактерий, но также бактериофагами, плазмидами. Главные инструменты генетической инженерии

РИЗОСФЕРА – слой почвы (2–3 мм), непосредственно прилегающий к корню растения и характеризующийся повышенным содержанием **микроорганизмов**. Состав **микробиоты** Р. зависит от типа почвы, вида и возраста растений. Действие микроорганизмов Р. многообразно–они переводят труднодоступные для растений соединения в легкоусвояемые, синтезируют биол. активные вещества, вступают в **симбиоз** с растениями (**клубеньковые бактерии, микориза**), выделяют **токсины**, участвуют в **денитрификации** и т. д.

САПРОТРОФЫ – *общебиол.* термин, характеризующий гетеротрофные организмы, использующие для питания органические соединения мертвых тел или выделения животных. Участвуя в **минерализации** органических соединений, С. составляют важное звено в биол. круговороте веществ и энергии. К С. относятся **бактерии, грибы**, а также немногие высшие растения и некоторые **водоросли**. Ср. **сапрофиты**.

САПРОФИТЫ (*уст.*) – организмы, питающиеся остатками растений и животных и превращающие органические вещества в неорганические. В *общебиол. литературе* в настоящее время термин употребляется редко; в *микробиол.* используется как антоним **паразитов**, т. е. организмов, питающихся также готовыми органическими веществами, но живых организмов–хозяев. Напр., говорят о патогенных микроорганизмах – сапрофитах (возбудитель **ботулизма**) и паразитах (развивающихся в организме больного). Ср. **сапротрофы**.

СЕМЕЙСТВО – таксономическая категория в биол. **систематике**. С. объединяет близкие роды, имеющие общее происхождение. Латинское название С. образуют путем прибавления к основе названия типового рода окончания *-idae* (в *зоологии* и *вирусологии*) и *-aceae* (в *ботанике, микологии* и *бактериологии*).

СИМБИОЗ – различные формы совместного существования разноименных организмов, составляющих симбионтную систему. Термин впервые предложил *А. Де Бари* в 1879 г. По характеру отношений между партнерами выделяют несколько типов С. – **комменсализм, паразитизм, мутуализм**. В свою очередь, эти типы имеют много градаций и переходных состояний. Позднее понятие С. было сужено до обозначения взаимовыгодных для обоих партнеров отношений (мутуализм). В современной биол. термин чаще используется в первоначальном значении.

СИСТЕМАТИКА – раздел биол., задачей которого является описание и обозначение всех существующих и вымерших организмов, а также их **классификация** по **таксонам** (группировкам) различного ранга. Особое значение С. заключается в создании возможности ориентирования во множестве существующих **видов** организмов. С. часто разделяют на **таксономию**, понимая под ней теорию **классификации** организмов и собственно С. в широком смысле. Иногда термин «таксономия» употребляют как синоним С. С. использует для классификации всю совокупность частных признаков, характеризующих организмы (морфологические, физиол., биохим. и др.). Главное направление С. – наиболее полное отражение генеалогических связей различных **таксонов** с учетом эволюции организмов. Для прокариотных **микроорганизмов** до сих пор существуют серьезные затруднения в сборе всего комплекса признаков, необходимого для создания естественной С. В связи с этим микробиологи широко пользуются искусственной С., при которой в таксоны объединяются организмы по сходным (ограниченным по числу) признакам без учета родственных связей. См. также **нумерическая таксономия**.

СПИРИЛЛЫ – граммотрицательные **бактерии**, имеющие вид спирально извитых **палочек**. Благодаря полярным **жгутикам** совершают винтообразные движения в воде, где обычно обитают. Большинство – хемоорганотрофы, многие растут при низкой концентрации кислорода (**микроаэрофилы**) и окисляемого субстрата в **среде**. Типичный род – *Spirillum*.

СОМАТИЧЕСКИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ – процесс образования зародыше-подобных структур (эмбриоидов) в культуре ткани и клеток

СПОРЫ БАКТЕРИЙ – см. эндоспоры, актиномицеты.

СРЕДА ЭЛЕКТИВНАЯ, СРЕДА СЕЛЕКТИВНАЯ – среда, обеспечивающая преимущественный рост одних организмов по сравнению с др. С. э. используют обычно для получения **накопительных культур микроорганизмов**.

СТАФИЛОКОККИ (*Staphylococcus*) – род шаровидных **бактерий**. Клетки при делении в различных плоскостях не расходятся и образуют скопления, напоминающие гроздья винограда, хотя могут находиться в **среде** и одиночно. Неподвижные, грамположительные, **факультативные анаэробы**, **хемоорганогетеротрофы**, некоторые образуют пигменты. Широко распространены в почве, воздухе, представители нормальной кожной **микрофлоры** человека и животных. **Патогенные** и условно патогенные **виды**. Возбудители гнойно-воспалительных заболеваний. Патогенные С. образуют **эндо- и экзотоксины**.

СТИМУЛЯТОРЫ – факторы, усиливающие рост растений – биологически активные вещества, регуляторы роста растений, вещества ускоряющие деление клеток. Они могут быть синтетического и природного происхождения. К природным стимуляторам относятся – ауксины, гиббереллины и цитокинины

СТРЕПТОКОККИ (*Streptococcus*) – род шаровидных **бактерий**. Клетки С. расположены цепочками или парами, неподвижные, грамположительные. С. – **факультативные анаэробы**, большинство – хемоорганогетеротрофы, требовательные к составу **среды**.

СУБЪЕДИНИЦА – белковая субъединица в структурной биологии – полипептид, который вместе с другими компонентами собирается в мультимерный или олигомерный белковый комплекс

СУБСТРАТ – источник питания для растущих клеток и микроорганизмов

ТАКСОН – единица **классификации** или единица таксономическая. См. также **таксономия**.

ТАКСОНОМИЯ – теория **классификации** и **систематизации** организмов. См. также **классификация, систематика**.

ТЕРМОСТАТ – прибор для поддержания постоянной температуры в ограниченном объеме (холодильники, тепловые камеры). В микробиол. практике Т. используются чаще всего для создания **оптимальной температуры** при выращивании **культур**

микроорганизмов, для хранения культур при пониженных температурах и др.

ТЕРМОФИЛЫ – микроорганизмы, приспособленные к жизни в условиях постоянно высоких температур. Средой обитания таких организмов являются природные горячие источники, саморазогревающиеся субстраты (влажные сено, зерно, навоз и др.), верхние слои почвы, сильно нагреваемые солнцем. Группу Т. делят на 4 подгруппы – термотолерантные **виды** растут в пределах от 10 до 55–60 °С, при оптимуме в 35–40 °С; факультативные Т. имеют максимальную температуру для роста в диапазоне 50–65 °С, но способны расти при комнатной температуре (20 °С); облигатные Т. обнаруживают способность расти при температурах около 70 °С и не растут ниже 40 °С; к четвертой группе Т. относятся экстремальные Т. и гипертермофилы, для которых оптимум лежит в пределах 80–105 °С при минимальной границе роста в 60 °С и максимальной – до 110 °С. Многие из них относятся к **археям** и представлены **метаногенами** и видами, метаболизирующими молекулярную серу. В целом термофилия свойственна преимущественно прокариотным организмам, для многих одноклеточных **эукариот** предельной является температура 60 °С, а многоклеточные способны расти при температурах до 50 °С.

ТЕСТ – пробные воздействия на организм с целью изучения его физиол. и биохим. свойств. Напр., вновь выделенные **чистые культуры бактерий** тестируются на возможность их роста на **средах**, содержащих различные сахара, аминокислоты, **витамины** и т. д. Полученные данные, с одной стороны, являются признаками, используемыми для **идентификации** организма, а с другой – позволяют сделать вывод о характере его **метаболизма** и спланировать дальнейшие исследования.

ТИНДАЛИЗАЦИЯ, ДРОБНАЯ СТЕРИЛИЗАЦИЯ – многократная (3–4-кратная) обработка стерилизуемого материала текущим паром (100 °С, несколько минут) с интервалами в 24 ч, в течение которых поддерживается температура, благоприятная для прорастания **спор**. Эти интервалы позволяют спорам прорасти и превратиться в вегетативные клетки, быстро погибающие при следующем нагревании материала до 100 °С. Недостаток метода заключается в большой затрате времени, а преимущество – в том, что он не требует специального оборудования. Применяется для **стерилизации** пищевых продуктов, др. материалов, портящихся

при температуре выше 100 °С. Метод разработан англ. физиком Дж. Тиндалем.

ТИТР – 1) в хим. анализе концентрация раствора, выражаемая числом граммов вещества в 1 мл раствора; 2) в микробиол. количество **клеток микроорганизма** в единице объема материала (см. **коли-титр**); 3) в вирусологии концентрация инфекционных единиц **вируса** в единице объема материала.

ТОТИПОТЕНТНОСТЬ – свойство соматических клеток растений полностью реализовывать свой потенциал развития при определенных условиях выращивания

ТРАНСДУКЦИЯ – перенос генетического материала (части молекулы ДНК с содержащимися в ней генами) из одной клетки в др. с помощью вируса, что приводит к изменению наследственных свойств клеток-реципиентов

ТРАНСКРИПЦИЯ – образование РНК копии ДНК с помощью фермента РНК-полимеразы

ТРАНСЛЯЦИЯ – синтез белка на рибосомах при участии информационной, транспортной РНК и других факторов

ТРАНСПЛАНТ (ИНОКУЛУМ) – часть каллусной (суспензионной) культуры, используемой для пересадки в свежую среду

ФЕРМЕНТЕР – резервуар для проведения биологических реакции с помощью живых клеток, клеточных экстрактов или ферментов. Часто применяется к ферментационной ёмкости для культивирования клеток или микроорганизмов

ФЕРМЕНТЫ – биологические ускорители (энзимы) – обычно белковые молекулы или молекулы РНК или их комплексы, ускоряющие химические реакции в живых системах. Реагенты в реакции, катализируемой ферментами, называются субстратами, а получающиеся вещества – продуктами. Ферменты специфичны к субстратам

ФИЛЬТР БАКТЕРИАЛЬНЫЙ – аппарат для освобождения жидкостей (**питательных сред**), газов от **бактерий** методом пропускания их через пористый материал, размер пор которого меньше размеров **клеток** бактерий и их **спор** (т. е. размер пор составляет доли микрона). В качестве фильтрующего элемента используют керамику, асбестовые пластинки или специальные мембраны. Применяется в микробиол. и мед. для «холодной» **стерилизации питательных сред** и лекарственных препаратов, в

микроорганизмов, для хранения культур при пониженных температурах и др.

ТЕРМОФИЛЫ – микроорганизмы, приспособленные к жизни в условиях постоянно высоких температур. Средой обитания таких организмов являются природные горячие источники, саморазогревающиеся субстраты (влажные сено, зерно, навоз и др.), верхние слои почвы, сильно нагреваемые солнцем. Группу Т. делят на 4 подгруппы–термотолерантные **виды** растут в пределах от 10 до 55–60 °С, при оптимуме в 35–40 °С; факультативные Т. имеют максимальную температуру для роста в диапазоне 50–65 °С, но способны расти при комнатной температуре (20 °С); облигатные Т. обнаруживают способность расти при температурах около 70 °С и не растут ниже 40 °С; к четвертой группе Т. относятся экстремальные Т. и гипертермофилы, для которых оптимум лежит в пределах 80–105 °С при минимальной границе роста в 60 °С и максимальной – до 110 °С. Многие из них относятся к **архейам** и представлены **метаногенами** и видами, метаболизирующими молекулярную серу. В целом термофилия свойственна преимущественно прокариотным организмам, для многих одноклеточных **эукариот** предельной является температура 60 °С, а многоклеточные способны расти при температурах до 50 °С.

ТЕСТ – пробные воздействия на организм с целью изучения его физиол. и биохим. свойств. Напр., вновь выделенные **чистые культуры бактерий** тестируются на возможность их роста на **средах**, содержащих различные сахара, аминокислоты, **витамины** и т. д. Полученные данные, с одной стороны, являются признаками, используемыми для **идентификации** организма, а с другой – позволяют сделать вывод о характере его **метаболизма** и спланировать дальнейшие исследования.

ТИНДАЛИЗАЦИЯ, **ДРОБНАЯ СТЕРИЛИЗАЦИЯ** – многократная (3–4-кратная) обработка стерилизуемого материала текучим паром (100 °С, несколько минут) с интервалами в 24 ч, в течение которых поддерживается температура, благоприятная для прорастания **спор**. Эти интервалы позволяют спорам прорасти и превратиться в вегетативные клетки, быстро погибающие при следующем нагревании материала до 100 °С. Недостаток метода заключается в большой затрате времени, а преимущество – в том, что он не требует специального оборудования. Применяется для **стерилизации** пищевых продуктов, др. материалов, портящихся

при температуре выше 100 °С. Метод разработан англ. физиком Дж. Тиндалем.

ТИТР – 1) в хим. анализе концентрация раствора, выражаемая числом граммов вещества в 1 мл раствора; 2) в микробиол. количество **клеток микроорганизма** в единице объема материала (см. **коли-титр**); 3) в вирусологии концентрация инфекционных единиц **вируса** в единице объема материала.

ТОТИПОТЕНТНОСТЬ – свойство соматических клеток растений полностью реализовывать свой потенциал развития при определенных условиях выращивания

ТРАНСДУКЦИЯ – перенос генетического материала (часть молекулы ДНК с содержащимися в ней генами) из одной клетки в др. с помощью вируса, что приводит к изменению наследственных свойств клеток–реципиентов

ТРАНСКРИПЦИЯ – образование РНК копии ДНК с помощью фермента РНК-полимеразы

ТРАНСЛЯЦИЯ – синтез белка на рибосомах при участии информационной, транспортной РНК и других факторов

ТРАНСПЛАНТ (ИНОКУЛУМ) – часть каллусной (суспензионной) культуры, используемой для пересадки в свежую среду

ФЕРМЕНТЕР – резервуар для проведения биологических реакции с помощью живых клеток, клеточных экстрактов или ферментов. Часто применяется к ферментационной ёмкости для культивирования клеток или микроорганизмов

ФЕРМЕНТЫ – биологические ускорители (энзимы) – обычно белковые молекулы или молекулы РНК или их комплексы, ускоряющие химические реакции в живых системах. Реагенты в реакции, катализируемой ферментами, называются субстратами, а получающиеся вещества – продуктами. Ферменты специфичны к субстратам

ФИЛЬТР БАКТЕРИАЛЬНЫЙ – аппарат для освобождения жидкостей (**питательных сред**), газов от **бактерий** методом пропускания их через пористый материал, размер пор которого меньше размеров **клеток** бактерий и их **спор** (т. е. размер пор составляет доли микрона). В качестве фильтрующего элемента используют керамику, асбестовые пластинки или специальные мембраны. Применяется в микробиол. и мед. для «холодной» **стерилизации питательных сред** и лекарственных препаратов, в

технике — для очистки технологических жидкостей и газов в высокоточных технологиях (напр., в микроэлектронике).

ФИТОРЕГУЛЯТОРЫ — природные и синтетические препараты, вызывающие ростовые или формативные эффекты и не обладающие действием удобрений и гербицидов.

ФОРМАЛИН — водный раствор формальдегида (обычно 37–40 %), содержащий 6–15 % метанола. **Биоцид.** Дезинфицирующее и дезодорирующее средство, жидкость для сохранения анатомических препаратов, дубления кожи и др.

ФОТОТРОФНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ — фотосинтезирующие микроорганизмы, использующие энергию света для биосинтеза компонентов клеток и др. энергозависимых процессов, обеспечивающих их рост. К Ф. м. относятся **пурпурные и зеленые бактерии, цианобактерии, гелиобактерии, водоросли** (зеленые, красные, диатомовые и др.). **Фотосинтез** у всех Ф. м. (за исключением **галобактерий**) осуществляется при участии **хлорофиллов** и **каротиноидов**. У галобактерий основным пигментом фотосинтеза является **бактериородопсин**. У цианобактерий и водорослей фотосинтез идет с выделением кислорода. У др. Ф. м. при фотосинтезе кислород не выделяется, так как вместо воды в качестве донора электронов они используют молекулярный водород, восстановленные соединения серы, органические соединения. Источником углерода у большинства Ф. м. является **CO₂ (фотоавтотрофы)**, но некоторые активно ассимилируют органические вещества (**фотогетеротрофы**). Многие фототрофные бактерии обладают способностью фиксировать молекулярный азот. Ф. м. обитают в воде, почве, обеспечивают накопление первичной биомассы, участвуют в круговороте серы, азота и др. **биогенных элементов**.

ХЕМОСИНТЕЗ — тип метаболизма бактерий, основанный на усвоении организмами CO₂ за счет энергии, получаемой при окислении неорганических соединений (в отличие от **фотосинтеза**). Открыл **С. Н. Биноградский** в 1887 г. **Водородные, нитрифицирующие, тионовые и др. бактерии** осуществляют Х. в аэробных условиях, восстанавливают углекислоту в **цикле Кальвина**. Ряд **прокариот**, осуществляющих Х., могут использовать в качестве терминального акцептора электронов не кислород, а соединения серы, CO₂. Путь усвоения углекислоты у них не связан с **циклом Кальвина (метаногены, ацетогены)**.

Хемосинтезирующие бактерии играют исключительную роль в биогеохим. циклах хим. элементов в **биосфере**.

ХРОМОСОМЫ — структуры, несущие генетическую информацию об организме, содержащие ДНК и белки. Являются главными материальными носителями наследственной информации организмов

ЦЕНТРИФУГА — аппарат для механического разделения смеси на составные части под действием центробежной силы. См. также **ультрацентрифуга**.

shermanii) или смешанной культуры **метаногенов**.

ШТАММ — чистая культура микроорганизма, выделенная из определенного источника или полученная в результате **мутаций**. Разные Ш. одного и того же микроорганизма могут отличаться рядом свойств, напр. **вирулентностью**, чувствительностью к **антибиотикам**. Ш. микроорганизмов, используемых в пром-ти в качестве продуцентов антибиотиков, аминокислот и др. биол. активных веществ, как правило, значительно продуктивнее природных Ш.

ЭКСПЛАНТ — фрагмент ткани или органа, инкубируемый на питательной среде самостоятельно или используемый для получения первичного каллуса

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ — процесс, в ходе которого наследственная информация от гена (последовательности нуклеотидов ДНК) преобразуется в функциональный продукт — РНК или белок

ЭКСТРАКТ — препарат, приготовленный из биол. материала, в котором клетки были разрушены и клеточные фрагменты удалены центрифугированием, осаждением или фильтрованием. Э. используются как компоненты **питательных сред (дрожжевой экстракт)** или для изучения активности клеточных ферментов.

ЭКСТРАКТ ДРОЖЖЕВОЙ — продукт, получаемый из **дрожжевого автолизата** разведением его в 4 раза водой и последующим фильтрованием или центрифугированием с целью удаления нерастворимых (твердых) компонентов. После мягкого высушивания может длительное время храниться в порошке. Используется для приготовления **сред**, как и дрожжевой автолизат.

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ — перемещение заряженных коллоидных частиц, вызываемое действием внешнего электрического поля. В

белковой химии метод электрофореза широко используется для разделения белков с использованием полиакриламида в качестве носителя

ЭНДОНУКЛЕАЗА - фермент, расщепляющий внутренние фосфодиэфирные связи в молекуле ДНК, что приводит к образованию двух более коротких нитей ДНК

ЭНДОСПОРЫ - споры, образующиеся в вегетативных клетках **бактерий: бацилл, клостридий** и др. Обладают высокой устойчивостью к неблагоприятным факторам среды (обезвреживание, повышенные температуры, неоптимальные значения pH и др.). Образование Э. - важнейший фактор выживания в природе **спорообразующих бактерий.**

ЭТАНОЛ, ЭТИЛОВЫЙ СПИРТ - C_2H_5OH - конечный продукт **спиртового брожения**, осуществляемого **дрожжами, бактериями.** В концентрации свыше 70 % обладает бактерицидным действием, вызывая в клетках коагуляцию белков.

ЭУКАРИОТЫ - организмы, **клетки** которых содержат оформленное ядро. К Э. относят все высшие животные и растения, а также одноклеточные и многоклеточные **водоросли, грибы,** простейшие. Ядерная ДНК у Э. заключена в хромосомы, обычно не кольцевидные, с гистонами. Э. обладают ограниченными мембраной клеточными **органеллами** - митохондриями, хлоропластами и др. В **систематике** Э. выделяют в надцарство *Eukaryota* и противопоставляют **прокариотам.**

IN VITRO - выращивание живого материала «в стекле» (пробирке, чашке), на искусственных питательных средах, в стерильных условиях

IN VIVO - выращивание живого материала в естественных условиях

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
История, цель и задачи предмета микробиология и сельскохозяйственная биотехнология.....	7
Морфология, строение и размножения вирусов и микоплазм.....	16
Морфология, и структурная организация бактериальной клетки..	26
Морфология, строение и размножение грибов	42
Морфология, строение и размножение актиномицетов.....	50
Воздействие окружающей внешней среды на микроорганизмы...	59
Питание микроорганизмов	68
Генетика микроорганизмов	76
Роль микроорганизмов в круговороте углерода в природе.....	88
Брожение.....	91
Роль микроорганизмов в круговороте азота в природе.....	101
Роль микроорганизмов в круговороте серы, фосфора и железа в природе.....	106
Роль и значение микроорганизмов в почвообразовании.....	113
Взаимоотношения растений и микроорганизмов	123
Микробиология воды, воздуха и сырья	129
Значение микроорганизмов в сельском хозяйстве.....	134
Применение микробиологических препаратов в сельском хозяйстве.....	138
Основы генной инженерии.....	145
Клеточная инженерия в практике лесного растениеводства.....	155
Микроклональное размножение растений	164
Оздоровление посадочного материала от вирусов.....	169
Биотехнология повышения плодородия почвы	171
Биотехнология в защите лесных растений.....	175
Список использованной литературы.....	185
Глоссарий.....	187

Камилов Ш.Г., Зупаров М.А.,
Мамиев М.С., Халмуминова Г.К.

ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор — И.Т. Нишанбаева

Технический редактор — М.Х. Мустафаева

Компьютерная
верстка — У.Ф.Вахидов

**Издательская лицензия
№ 3991**

Подписано в печать 08.11.2021 года. Формат 60x84¹/₁₆.

Бумага офсетная. Гарнитура «Times New Roman».

Печать офсетная. Условно-печатных листов 13,75.

Учетно-издательских листов 12,0.

Тираж 30. Заказ № 37.

Издательство «Shafoat Nur Fayz»
г. Ташкент, ул. Махорат, 71

Отпечатано в типографии «Shafoat Nur Fayz»
г. Ташкент, Нодира, 19

