

**Т.М. Царенко**

# **МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ**



**Т.М. Царенко**

# **МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ**

**Теоретические основы, лабораторный  
практикум, контрольные вопросы**

Учебно-методический комплекс для студентов ОЗО  
биологического факультета

УДК 579 (075.8)  
ББК 28.4я73  
Ц18

*Автор:* старший преподаватель кафедры ботаники УО «ВГУ им. П.М. Машерова»  
**Т.М. Царенко**

*Рецензент:* заведующий кафедрой химии УО «ВГУ им. П.М. Машерова», доктор биологических наук, профессор **А.А. Чиркин**

Данный учебно-методический комплекс «Микробиология с основами вирусологии» предназначен для студентов ОЗО биологического факультета. Учебное издание позволит получить необходимые знания основ современной, передовой и определяющей многие приоритетные достижения промышленной технологии, устранил недостаточность современной литературы по данному предмету, позволит сформировать основы здорового образа жизни и разумного отношения к окружающему миру.

**УДК 579 (075.8)**  
**ББК 28.4я73**

© Царенко Т.М., 2004  
© УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2004

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                                                                    |          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>Предисловие.....</b>                                                                                            | <b>4</b> |
| Введение.....                                                                                                      | 6        |
| Цель и задачи изучения курса «Микробиология с основами вирусологии» .....                                          | 7        |
| Программа курса «Микробиология с основами вирусологии» .....                                                       | 8        |
| Литература .....                                                                                                   | 13       |
| Рабочий план .....                                                                                                 | 14       |
| Тематический план лекций .....                                                                                     | 14       |
| Тематический план лабораторных работ .....                                                                         | 15       |
| Теоретические основы курса .....                                                                                   | 17       |
| Введение в микробиологию. История науки. Прокариоты. Отличие прокариот от эукариот .....                           | 17       |
| Структурно-функциональная организация клеток прокариот. Оболочки и надоболочечные структуры клеток прокариот ..... | 27       |
| Структурно-функциональная организация клеток прокариот. Внутреннее строение клеток прокариот. Эндоспоры .....      | 37       |
| Генетика прокариот .....                                                                                           | 48       |
| Рост и размножение прокариот .....                                                                                 | 59       |
| Питание прокариот .....                                                                                            | 63       |
| Классификация прокариот .....                                                                                      | 69       |
| Трансформация основных биогенных элементов микроорганизмами .....                                                  | 97       |
| Метаболизм прокариот .....                                                                                         | 109      |
| Прокариоты и окружающая среда .....                                                                                | 126      |
| Микрофлора воздуха, воды и почвы .....                                                                             | 139      |
| Основы вирусологии .....                                                                                           | 149      |
| Лабораторный практикум .....                                                                                       | 164      |
| Вопросы для зачета по микробиологии с основами вирусологии ....                                                    | 171      |

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Вы изучаете микробиологию – науку о микромире живых существ, значение которых велико и многозначно. Узнавая все о микроорганизмах, вы погружаетесь в историю планеты. Именно эти малые существа создали наш мир таким, каков он есть: цветущие сады и оазисы, буйство тропических лесов и белые рощи берез, луга, полные благоухающих цветов, и, наконец, всех живых существ планеты Земля. Воистину наша планета названа именем главного богатства – земля или почва, плодородие которой питает нас, живущих на этой благословенной Земле, а создатели плодородия – невидимые глазу микробы. Карл Линней не мог определить их положение в системе органического мира и назвал их «хаос», но сейчас значение их в эволюции планеты приобретает все большую определенность.

Впервые увидел мир микроорганизмов в 1676 году Антоний ван Левенгук – голландский купец, естествоиспытатель по совместительству. Левенгук назвал микробы «живыми зверюшками» – анималькулями, а затем вот уже 300 лет мир ученых исследует этот невидимый глазу мир, все с большим вниманием относясь к микроорганизмам.

Благодаря изучению микроорганизмов мы узнаем много нового о мире и, как не покажется странным, о себе. Микроорганизмы стали объектами молекулярной биологии, молекулярной генетики, раскрыли человеку новые горизонты в познании живого. Оказывается, история нашей планеты могла быть иной, если бы не эволюция организмов микромира. Они не только «великие могильщики», но и создатели первого глотка воздуха с кислородом, они могут быть основой биосистем, то есть продуцентами органического вещества. Для человека разумного микроорганизмы дают пищу и веселье, неудачники же рода человеческого несут на себе печать их страшного величия вершителей судеб, принесших в мир людей чуму, проказу, СПИД, вирус Эбола ...

Философию мира этих малых созданий очень точно определил поэт Николай Заболоцкий:

Сквозь волшебный прибор Левенгука

На поверхности капли воды

Обнаружила наша наука

Удивительной жизни следы,

Государство смертей и рождений,

Нескончаемой цепи звено,

В этом мире чудесных творений

Сколь ничтожно и мелко оно!

Но для бездн, где летят метеоры,  
Ни большого, ни малого нет,  
И равно беспредельны просторы  
Для микробов, людей и планет.

В результате их общих усилий  
Зажигается племя Плеяд,  
И кометы летят легкокрылей,  
И быстрее созвездья летят.

И в углу невысоком Вселенной,  
Под стеклом кабинетной трубы,  
Тот же самый поток неизменный  
Движет тайная воля судьбы.

Там я звездное чую дыханье,  
Слышу речь органических масс  
И стремительный шум созиданья,  
Столь знакомый любому из нас.

Итак, в добрый путь в царство микромира, успехов желает вам

Т.М. Царенко

## ВВЕДЕНИЕ

Учебно-методический комплекс «Микробиология с основами вирусологии» предназначен для студентов ОЗО биологического факультета учреждения образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова» специальность – 1-02 04 04-03.

Рабочая программа составлена старшим преподавателем Царенко Т.М. на основе программы «Микробиология», регистрационный №ТД-138/тип. Сборник учебных программ для высших учебных заведений по специальности 1-02 04 04-03 Биология с дополнительными специальностями (Минск, 2003), утвержденной учебно-методическим объединением вузов Республики Беларусь по педагогическому образованию, а также на основе новых сведений по данной дисциплине в разделе «Классификация прокариот».

Учебно-методический комплекс «Микробиология с основами вирусологии» для студентов биологического факультета отделения заочного обучения» рассмотрен и рекомендован к утверждению на заседании кафедры ботаники 17 мая 2004 года, протокол № 17.

Программа по курсу «Микробиология с основами вирусологии» составлена с учетом специфики специальности «Биология и охрана природы». В соответствии с природоохранным направлением в программе уделяется внимание вопросам взаимного влияния организмов микромира и факторов и объектов окружающей природы, акцентируется роль микроорганизмов в природе и жизни человека, подчеркивается важность понимания характера взаимодействия организмов, сложность и специфика химического и структурно-функционального строения микроорганизмов, значимость понимания сложной эволюции объектов микромира и их вклад в эволюционный процесс органического мира планеты Земля.

Программа основана на учебно-исследовательском принципе изучения предмета. Учебно-методический комплекс позволит получить необходимые знания основ современной, передовой и определяющей многие приоритетные достижения промышленной технологии. Данное пособие устранит недостаточность современной литературы по данному предмету, позволит сформировать основы здорового образа жизни и разумного отношения к окружающему миру.

## **ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИЗУЧЕНИЯ КУРСА «МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ»**

Цель: формирование целостной системы знаний о микроорганизмах: особенности структурно-функциональной организации клеток, их метаболизма и роли в органическом мире планеты и жизнедеятельности людей; принципы современной классификации микроорганизмов и степень их влияния на ход эволюции.

### **Задачи дисциплины:**

В результате усвоения курса по дисциплине «Микробиология с основами вирусологии» студент должен знать:

- Место микроорганизмов в органическом мире и отличия прокариот от эукариот;
- Структурно-функциональные особенности организации прокариотических клеток;
- Особенности строения и функционирования генетического аппарата;
- Основные механизмы процессов роста и размножения в различных условиях;
- Специфику питания прокариот и характеристики различных типов питания;
- Особенности и проблемы современной классификации микроорганизмов;
- Вклад микроорганизмов в круговорот веществ планеты, химизм процессов трансформации биогенных элементов;
- Химические основы метаболических процессов прокариот, основные науки катоболизма и анаболизма различных групп прокариот;
- Основные направления биотехнологических процессов;
- Основные микробиологические термины и понятия;
- Знать основы культивирования и стерилизации объектов.

### **Студент должен уметь:**

- С соблюдением техники безопасности проводить работу с культурами микроорганизмов;
- Выполнять приготовление фиксированных и прижизненных препаратов;
- Осуществлять анализ санитарно-гигиенических характеристик воды, воздуха, почвы с помощью исследования проб;
- Обрабатывать данные лабораторных работ и интерпретировать их результаты.



## **ПРОГРАММА КУРСА «МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ»**

### **Тема 1. Введение в микробиологию**

Предмет и задачи микробиологии: ее место и роль в современной биологии. Краткая сравнительная характеристика структурной организации прокариотного и эукариотного типа клеток. Выделения бактерий и цианобактерий в самостоятельное царство прокариот. Специфические черты прокариотных организмов.

Значение микробиологии для народного хозяйства и охраны здоровья. Роль микроорганизмов в процессах круговорота биогенных элементов в природе. Значение микроорганизмов в жизни и хозяйственной деятельности человека. Патогенные микроорганизмы и борьба с инфекционными заболеваниями. Использование микроорганизмов в промышленности. Разделы микробиологии: общая микробиология, медицинская, ветеринарная, сельскохозяйственная, техническая, космическая, вирусология, генетика микроорганизмов. Задачи различных направлений микробиологической науки.

Промышленная микробиология и микробиологическая технология, перспективы развития этих отраслей. Научные основы микробиологической промышленности, современная биотехнология, и ее возможности в решении проблем, стоящих перед человечеством: производство пищевого белка, пополнение дефицита природных ресурсов, очистка окружающей среды от загрязнения. Разработки, направленные на запросы различных отраслей промышленности.

Методы микробиологических исследований: микроскопия, выделение чистых культур микроорганизмов и культивирование их, идентификация и др. Правила работы в микробиологических лабораториях.

### **Тема 2. Возникновение и развитие микробиологии**

Открытие микромира А. ван Левенгуком (1695 г.). Морфологический период в микробиологии.

Работы Л. Пастера (1822–1895), заложившие основы физиологического направления в микробиологической науке. Исследования Р. Коха (1843–1910), И.И. Мечникова (1845–1916), Д.К. Заболотного (1866–1929), П. Эрлиха (1854–1915) и др.

Работы основоположников почвенной микробиологии С.Н. Виноградского (1856–1953) и М. Бейеринка (1851–1931).

Открытие вирусов Д.И. Ивановским (1864–1920). Первые успехи в вирусологии.

Развитие биохимического направления в микробиологии. Работы А. Клейвера (1888–1956) и К. ван Нилля, доказавшие биохимическое единство живых организмов.

Основные направления развития современной микробиологии. Концепция биохимического единства живых организмов.

### **Тема 3. Морфология и структурно-функциональная организация прокариот**

Особенности морфотипов прокариот. Уровни клеточной организации прокариот, их отличие от эукариот. Морфологическая дифференциация. Морфогенез. Особенности морфологической структуры цианобактерий, актиномицет, археобактерий.

Постоянные и временные структуры бактериальной клетки. Клеточная стенка. Окраска по Граму. Отличие клеточной стенки грамположительных прокариот от грамотрицательных. Структура, химический состав и функции клеточной стенки. Бактериальные протопласты и сферопласты, Л-формы бактерий.

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ), строение и функции. Транспорт веществ через ЦПМ. Производные ЦПМ и их функции. Органоиды цитоплазмы и их функции. Мезосомы, хроматофоры, тилакоиды, везикулы. Цитозоль. Ядерный аппарат (нуклеоид): химическая и структурная организация, функции.

Модель структуры ДНК Уотсона-Крика. Различные формы организации двуцепочечной ДНК. Репликация бактериальной хромосомы. Механизм репликации и сегрегации бактериальной хромосомы. Рибосомы, их строение и отличие от рибосом эукариот.

Структура РНК. Поверхности структуры бактериальной клетки. Капсула, слизистые чехлы, ворсинки. Жгутики, их строение, размещение на клетке, механизм функционирования. Скользящий тип движения миксобактерий, микоплазм, нитчатых серобактерий и цианобактерий. Пили, ворсинки (фимбрии) общего типа, половые пили, шипы. Внутриплазматические включения. Аэросомы, карбоксисомы, магнитосомы, фикобилисомы.

Морфологическая дифференцировка клеток прокариот (эндоспоры, экзоспоры, цисты, гетероцисты, акинеты, гормогонии). Эндоспоры бактерий. Химический состав, строение, особенности спор. Запасные питательные вещества.

### **Тема 4. Физиология прокариот**

Химический состав прокариотной клетки. Ферменты. Коферменты. Конституционные и индуцибельные ферменты. Классификация ферментов. Роль ферментов в жизни микроорганизмов. Регуляция активности синтеза ферментов. Факторы роста бактериальной клетки. Питание прокариот. Ассимиляция углекислоты автотрофами и гетеротрофами. Органотрофы, литотрофы. Ассимиляция азота.

Физиологические группы прокариот. Фототрофы, хемотрофы. Ауксотрофы, прототрофы. Миксотрофы. Сапрофиты и паразиты.

Поступление питательных веществ в клетку прокариот (пассивная диффузия, облегченная диффузия, пассивный перенос). Метаболизм. Энергетический и конструктивный метаболизм.

Источники и способы получения энергии. Брожение. Типы брожения: спиртовое, маслянокислое, молочнокислое (гомоферментативное и гетероферментативное), пропионовокислое, уксуснокислое и т.д. Фотосинтез. Хемосинтез. Анаэробное, аэробное дыхание. Неполное окисление. Нитратное, карбонатное, сульфатное дыхание. Роль в природе метанообразующих, нитрифицирующих и других прокариот. Регуляция клеточного метаболизма. Регуляция синтеза и активности ферментов. Пути метаболизма. Путь Эмбдена–Мейергофа–Парнаса. Гликолиз. Путь Варбурга–Дикенса–Корекера (пентозофосфатный). Путь Энтнера–Дудорова. Регуляция различных метаболических путей. Основные механизмы, регулирующие катаболические пути. Формы запасаания энергии в клетках прокариот. Субстратное фосфорилирование. Окислительное и фотосинтетическое фосфорилирование. Синтез молекул АТФ. Электронно-транспортные цепи. Доноры и акцепторы электронов. Трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода. Образование протонного потенциала на ЦПМ как источника энергии для регенерации АТФ. Ионный обмен.

Разнообразные типы жизни прокариот. Классификация прокариот по типу жизни. Типы жизни, основанные на фотосинтетическом фосфорилировании. Бактериальный фотосинтез и его отличие от фотосинтеза растений. Фотопигменты. Фотосистемы. Группы фотосинтезирующих прокариот. Группы хемосинтезирующих прокариот. Галобактерии, биологические особенности. Биолюминисценция. Биосинтез углеводов, нуклеотидов, белков, жирных кислот и фосфолипидов. Механизмы влияния физических, химических и биологических факторов на жизнедеятельность.

### **Тема 5. Рост, размножение, культивирование прокариот**

Чистые культуры прокариот. Популяция прокариот. Микробные популяции: колонии, биопленки, зооглеи – своеобразные организмы. Методы их получения.

Понятие роста, размножения. Основные параметры роста культур: время генерации прокариот, скорость роста и выход биомассы. Закономерность роста бактерий в периодической чистой культуре. Кривая роста, фазы роста бактериальной популяции. Непрерывные и синхронные культуры.

Культивирование иммобилизационных клеток микроорганизмов. Особенности культивирования анаэробных и аэробных бактерий. Влияние на рост микроорганизмов кислотности среды (рН) и молекулярного кислорода ( $O_2$ ).

### **Тема 6. Генетика прокариот**

Фенотипическая и генотипическая изменчивость прокариот. Генотип, фенотип. Геном прокариот. Структура генома прокариот. ДНК–носитель

генетической информации. Опероны. Принцип организации бактериальной хромосомы. Механизм функционирования оперонов. Особенности репликации ДНК у прокариот. Генетический код. Трансляция генетического кода.

Молекулярные основы генетического механизма синтеза белка. Экспрессия (проявление) гена. Регуляция синтеза белка.

Мутации. Спонтанные, индуцированные мутации. Классификация мутаций: генные, хромосомные, внутрихромосомные (делеции, дупликации, инверсии). Молекулярные основы мутационного процесса. Мутагенные факторы. Плазмиды: F-плазмиды, R-плазмиды, плазмиды патогенности и др. Транспазоны. Взаимодействие плазмид с бактериальной хромосомой. Роль плазмид (азотфиксация, образование клубеньков и др.). Рекомбинация генетического материала прокариот. Трансформация, трансдукция, конъюгация. Умеренные фаги. Фаговая конверсия некоторых признаков бактерий.

### **Тема 7. Участие микроорганизмов в процессах трансформации основных биогенных элементов**

Участие микроорганизмов в биологическом круговороте веществ в природе. Процессы трансформации углеродосодержащих веществ. Разложение целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина и пектина. Трансформация углеводов.

Процессы трансформации азотсодержащих веществ. Аммонификация белков, нуклеиновых кислот и мочевины. Нитрификация. Денитрификация. Биологическая фиксация молекулярного азота. Свободноживущие и симбиотические азотфиксирующие бактерии. Гипотеза химизма азотфиксации. Значение биологической азотфиксации в азотном балансе экосистемы.

Процессы трансформации соединений фосфора. Минерализация фосфорорганических соединений растительного и животного происхождения. Трансформация неорганических соединений фосфора.

Процессы трансформации соединений серы. Минерализация серосодержащих органических веществ. Сульфификация и десульфификация.

Процессы трансформации соединений железа.

### **Тема 8. Систематика и классификация прокариот**

История развития систематики и классификации прокариот. Международный кодекс номенклатуры прокариот. Международная классификация прокариот. Таксономические категории. Группы прокариот по определителю бактерий Берги. Отделы царства: Procaryotae: 1) Gracillicutes; 2) Firmicutes; 3) Tenericutes; 4) Mendosicutes.

Характеристика основных групп бактерий.

Фототрофные бактерии.

Хемотрофные бактерии.

Миксобактерии.

Риккетсии.  
Спирохеты.  
Псевдомонады.  
Свободноживущие и симбиотические азотфиксирующие микроорганизмы.

Группа молочнокислых бактерий.  
Бактерии группы кишечной палочки.  
Пропионовокислые бактерии.  
Споросоздающие бактерии.  
Актиномицеты.  
Архебактерии.  
Микобактерии.

### **Тема 9. Экология прокариот**

История учения. Основоположники экологического направления в микробиологии (С.Н. Виноградский, В. Л.Омелянский).

Распространение микроорганизмов в природе.

Влияние физических и химических факторов среды на бактерии: влажность, солнечная энергия, ультразвук, реакция среды, кислород, анти-септики.

Взаимоотношения микроорганизмов. Ассоциативные взаимоотношения: метабиоз, симбиоз, комменсализм, сателлизм. Конкурентные взаимоотношения: антагонизм, паразитизм.

Антибиотики. Продуценты антибиотических веществ. Механизм действия антибиотиков. Спектр действия. Антибиотикорезистентность бактерий.

Взаимоотношения микроорганизмов с растениями. Микрофлора ризосферы. Эпифитная микрофлора растений. Фитопатогенные микроорганизмы.

Взаимоотношения микроорганизмов с человеком и животными. Нормальная микрофлора человека и животных. Патогенные микроорганизмы. Инфекции. Иммуитет. Факторы и механизмы естественной устойчивости. Иммунная система и ее функции. Центральные и периферические органы иммунной системы. Химия антигенов, их особенности. Химия антител. Моноклональные антитела. Молекулярная структура антител. Взаимоотношение антител с антигенами. Виды иммунитета. Механизм иммунного ответа. Клеточный и гуморальный иммунитет. Иммуногенетика. Генетика патогенности микроорганизмов. Гены и генные продукты, участвующие в формировании патогенного генотипа (а также вирулентного фенотипа) микроба. Механизм взаимоотношения партнеров в системе паразит-хозяин.

Понятие о стерилизации (асептики, антисептики) и дезинфекции. Пастеризация.

## Тема 10. Основы вирусологии

Происхождение вирусов. РНК-, ДНК-геномные вирусы. Структурная организация вириона. Капсиды.

Взаимоотношение вирусов с клеткой хозяина. Цикл репродукции вирусов. Хемосорбция вируса на поверхности клетки хозяина. Проникновение вируса в клетку. Реакция организма в ответ на вирусную инфекцию. Депротенинизация вируса. Синтез компонентов вируса. Морфогенез вируса. Выход вируса из клетки. Формы вирусной инфекции. Культивирование вирусов. Вирусный канцерогенез.

Понятие о вириодах, прионах и др. Прионы – «инфекционные белки», вызывающие медленно протекающие инфекции у животных и человека.

Бактериофаги. Морфотопы бактериофагов. Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой. Лизогения. Фаговая конверсия. Резистентность фагов к физическим и химическим факторам. Практическое использование бактериофагов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. – М., 1992.
2. Генкель П. А. Микробиология с основами вирусологии. – М., 1980.
3. Грин Н., Стаут У., Тейлор Д. Биология. – М., 1990.
4. Жизнь растений: В 6 т. / Под ред. А.А. Федорова. – М., 1974–1982.
5. Колешко О. Микробиология. – Мн., 1977.
6. Лукомская К.А. Микробиология с основами вирусологии. – М., 1987.
7. Рейвн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. – М., 1990. Т. 1–2.
8. Стейнер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. – М., 1979. Т. 3.
9. Стрельская О.Я. Низшие растения. Систематика / Под ред. Н.А. Дорожкина. – Мн., 1985.
10. Чурикова В.В., Викторов Д.П. Основы микробиологии и вирусологии. – Воронеж, 1989.
11. Шлегель Г. Общая микробиология. – М., 1972.

**РАБОЧИЙ ПЛАН**  
**Для специальности 1-02 04 04-03 – Биология и охрана природы**

| Дисциплина                           | Курс | Семестр | Лекции, часов | Лабораторные занятия, часов | Зачет (семестр) |
|--------------------------------------|------|---------|---------------|-----------------------------|-----------------|
| Микробиология с основами вирусологии | 2    | 3       | 10            | 8                           | Да, 3           |

**ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ЛЕКЦИЙ**

| № п/п | Содержание                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Часы |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1     | Предмет и методы микробиологии. Положение микроорганизмов в общей системе живого мира. Роль микроорганизмов в природе и жизни человека. Биотехнология. История микробиологии. Основные этапы развития науки, вклад ученых в микробиологическую науку (краткий экскурс). Форма и размеры прокариот. Отличия прокариот от эукариот. Структуры прокариотной клетки. Основные вещества клеточной стенки прокариот. Строение клеточной стенки грациликутных (Г-) и фирмакутных (Г+) бактерий. Отличительные черты строения оболочек микобактерий. Протопласты, сферопласты, L-формы. Надоболочечные структуры клеток: жгутики, пили. Движения бактерий. Цитоплазматическая мембрана и ее производные. Цитоплазма и внутрицитоплазматические включения. Запасные вещества прокариот. Эндоспоры и другие покоящиеся стадии бактерии | 2    |
| 2     | Нуклеоид прокариот. Внехромосомные носители наследственности. Изменчивость прокариот. Генетическая рекомбинация прокариот: трансформация, трансдукция, трансфекция, конъюгация. Генная инженерия, перспективы и достижения. Рост бактерий. Антигенез прокариот, циклы жизни прокариот. Размножения бактерий. Скорость размножения. Рост бактериальной популяции в статической культуре. Фазы роста. Непрерывные культуры микроорганизмов. Промышленное получение микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 2    |

|   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |   |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 3 | Химический состав прокариотной клетки. Пищевые потребности прокариот. Факторы роста. Ауксотрофы, прототрофы. Типы питания и группы микроорганизмов по типу питания. Бактериальный фотосинтез и его типы. Отличие бактериального фотосинтеза от фотосинтеза растений. Систематика прокариот. Группы прокариотных организмов. Проблемы систематики прокариот. Перспективы и успехи геносистематики прокариот. Пути клеточной эволюции и теория симбиогенеза. Классификация прокариот по определителю Берги (Берджи). Современные новейшие классификации микро- и макромира | 2 |
| 4 | Метаболизм прокариот. Процессы катаболизма и анаболизма. Ферменты прокариотной клетки. Катаболизм прокариот. Анаболизм прокариот. Участие микроорганизмов в процессах трансформации основных биогенных элементов. Роль микроорганизмов в круговороте веществ. Процессы трансформации углеродсодержащих веществ. Процессы трансформации азотсодержащих веществ                                                                                                                                                                                                            | 2 |
| 5 | Основы вирусологии. Заболевания вирусной природы. Специфичность и происхождение вирусов. Структурная организация вирусов. Цикл репродукции вирусов. Культивирование вирусов. Вирусный канцерогенез. Профилактика ВИЧ-инфекции. Классификация вирусов и их роль в эволюции жизни на планете.                                                                                                                                                                                                                                                                              | 2 |

### ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

| №  | Наименование раздела, темы элемента                                                                                                                                                                                           | Содержание                                                                                                                                                                                                                                                  | К-во часов |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 1. | Правила работы в микробиологической лаборатории. Основы техники микроскопии с микробиологическими объектами;<br>Иммерсионные объективы и правила работы с ними. Приготовление препаратов фиксированных клеток микроорганизмов | 1. Инструкция по ТБ и ОТ.<br>2. Правила работы с культурами микроорганизмов.<br>3. Типы микроскопии и правила работы с иммерсионной системой.<br>4. Методика приготовления фиксированных клеток микроорганизмов.<br>5. Морфологические типы микроорганизмов | 2          |



|   |                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                      |   |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|
| 2 | Техника микроскопирования микробиологических объектов: приготовление препаратов живых клеток микроорганизмов. Движение микроорганизмов                         | 1. Методика приготовления препаратов живых клеток микроорганизмов.<br>2. Способы и типы движения микроорганизмов.<br>3. Строение органов движения разных групп микроорганизмов, особенности строения жгутиков и аксиальных фибрилл   | 2 |
| 3 | Цитохимические методы изучения клеток микроорганизмов. Дифференциальные способы окраски клеток прокариот. Методы выявления эндоспор и капсул. Окраска по Граму | 1. Методика окраски по Граму.<br>2. Отличия оболочек разных групп микроорганизмов.<br>3. Значение эндоспор, строение, типы, этапы формирования.<br>4. Роль и строение капсул.<br>5. Методики выявления спор и капсул микроорганизмов | 2 |
| 4 | Метаболизм прокариот. Молочно-кислое брожение. Типы брожения, микроорганизмы брожения                                                                          | 1. Метаболизм прокариот.<br>2. Типы брожения, особенности процесса.<br>3. Характеристики групп микроорганизмов в разных типах брожения.<br>4. Методики выделения и микроскопирования микроорганизмов брожения.                       | 2 |

## ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КУРСА

**Введение в микробиологию. История науки. Прокариоты.  
Отличия прокариот от эукариот.**

- 1. Предмет и методы микробиологии.**
- 2. Положение микроорганизмов в общей системе живого мира.**
- 3. Роль микроорганизмов в природе и жизни человека.  
Биотехнология.**
- 4. История микробиологии. Основные этапы развития науки,  
вклад ученых в микробиологическую науку.**
- 5. Форма и размеры прокариот.**
- 6. Отличия прокариот от эукариот.**

**Предмет и методы микробиологии.** *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).

В таксономическом отношении микроорганизмы **весьма** разнообразны. Они представлены бактериями, грибами, водорослями, простейшими и вирусами. Предметом изучения микробиологии являются в основном бактерии.

Малые размеры микроорганизмов определяют оригинальные методы исследования, применяемые в микробиологии. Начальный этап микробиологических исследований обязательно включает две операции: выделение микроорганизма в чистую культуру (изоляция его из смешанной природной популяции микробов) и последующее культивирование – выращивание микроорганизма на искусственной среде в лаборатории. Выделение и культивирование микроорганизмов требует соблюдения правил стерильности и тщательного подбора состава культуральных сред.

Для изучения морфологии микроорганизмов используется световая и электронная микроскопия, различные методы приготовления прижизненных и фиксированных препаратов, простые и дифференцированные окраски структур бактериальной клетки. Физиологические, биохимические, генетические и другие особенности микроорганизмов изучаются разнообразными методами, применяемыми в физиологии, биохимии, генетике и молекулярной биологии.

Сложность и специфика изучения микроорганизмов определили более позднее формирование микробиологической науки по сравнению с ботаникой и зоологией. Развитие микробиологии шло в тесной связи с общим научным прогрессом и запросами практики. К настоящему времени

по уровню теоретических и прикладных исследований микробиология заняла ведущее место среди других биологических наук.

### **Положение микроорганизмов в общей системе живого мира**

До середины XIX в. все организмы, населяющие нашу планету, по структурным и функциональным признакам единодушно подразделялись на два царства: растения (Plantae) и животные (Animalia).

С изобретением светового микроскопа постепенно накапливалась информация о существовании простейших одноклеточных организмов, невидимых человеческим глазом, признаки которых явно не укладывались в критерии двух вышеназванных царств.

Э. Геккель в 1866 г. впервые высказал мысль о выделении третьего царства – протист. К этому царству он отнес все организмы, имеющие малые размеры и относительно простую биологическую организацию: грибы, водоросли, простейшие и бактерии. Идея Э. Геккеля о выделении царства протист получила экспериментальное подтверждение и уточнение лишь к 50-м годам нашего столетия.

Современные исследования позволили выделить два существенно различающихся типа клеток: прокариотную и эукариотную. Опираясь на экспериментальный материал, Р. Стейниер и К. ван Ниль (1962) сделали весьма важное заключение, что прокариотная клетка является структурной единицей, присущей исключительно двум группам организмов – бактериям и сине-зеленым водорослям. Для всех остальных организмов – растений, животных, грибов, водорослей и простейших характерна более сложная эукариотная клетка.

1. В отличие от эукариот ядерный материал прокариотной клетки не отграничен мембраной от цитоплазмы.

2. В прокариотной клетке отсутствуют органеллы (митохондрии, хлоропласты, аппарат Гольджи и др.).

3. В цитоплазме прокариотной клетки рибосомы 70 S-типа.

Различия в организации прокариотной и эукариотной клеток легли в основу вывода, сделанного Р. Мюрреем (1968), о подразделении всех клеточных организмов на два царства: Прокариоты (Procaryotae) и Эукариоты (Eucaryotae).

К царству Procaryotae Мюррей отнес бактерии и цианобактерии (сине-зеленые водоросли), к царству Eucaryotae – все остальные организмы – растения, животные и высшие протисты (грибы, водоросли, простейшие). За пределами двух вышеназванных царств клеточных организмов остались неклеточные формы жизни – вирусы, составляющие самостоятельное царство Viri.

Царство Procaryotae представлено весьма многочисленным и разнообразным миром бактерий. Возраст наиболее древних бактерий насчитывает по меньшей мере 3–3,5 млрд. лет. Многие бактерии, по мнению ученых, появились сравнительно недавно. В настоящее время различные

представители мира бактерий занимают практически беспредельные экологические ниши на нашей планете. Они выделяются из льдов Арктики и Антарктиды, проникают в нефтяные скважины, живут в воде горячих источников, температура которых достигает 92° С, обильно населяют все типы почв и водоемы, поднимаются с токами воздуха на высоту 85 км. Многие прокариоты в процессе эволюции приспособились к жизни в организмах эукариот.

Слабая морфологическая дифференциация прокариот сочетается с поразительным разнообразием и пластичностью их метаболизма. Достаточно сказать, что среди них по источнику используемой энергии выделяются *фототрофы* и *хемотрофы*; по отношению к кислороду – облигатные *аэробы* и *анаэробы*; по источнику углерода – *автотрофы* и *гетеротрофы*.

Разнообразие и пластичность метаболизма прокариот обуславливают возможность использования ими не только любого естественного субстрата, но и веществ химического синтеза. Они способны трансформировать любые пластмассы, натуральный и синтетический каучук, солянку, парафин, фенольные соединения, пестициды и т.д.

Активность ферментных систем, а также огромная поверхность соприкосновения мелких прокариотных клеток с субстратом обеспечивает им несоизмеримо более высокий уровень метаболизма по сравнению с эукариотами. Высокий уровень метаболизма, уникальная скорость размножения при относительно простой структурной организации сделали прокариот излюбленной моделью в экспериментах по биохимии, генетике и молекулярной биологии.

Р. Виттекер в 1969 году предложил схему деления всего органического живого мира на 5 (пять) царств:

- 1) Monera – включает все прокариотные, с примитивным клеточным строением, одноклеточные организмы.
- 2) Protista – микроскопические одноклеточные, но эукариотические организмы.
- 3) Plantae – растения.
- 4) Animalia – животные.
- 5) Fungi – грибы.

Эти царства отличаются: типом питания; автотрофного – у растений, гетеротрофные – у животных и грибов, особенностями клеточного строения и обмена веществ.

### **Размеры микроорганизмов**

Высшие протисты имеют размеры около 100 мкм (предел видимости глаза – 70–80 мкм). Дрожжи – имеют размеры в пределах 10 мкм, а большинство бактерий имеет размеры 0,5–3 мкм. Некоторые бактерии имеют отличия поперечных величин и длины. Так длина клетки спирохет может достигать 500 мкм, при поперечном сечении 5 мкм. Самые мелкие прока-

риоты группы микоплазм имеют диаметр 0,1–0,15 мкм, что сопоставимо с вирусами.

Отличительные свойства микроорганизмов.

Очень велико отношение поверхности тела к объему тела (по сравнению с макроорганизмами).

По правилу Рубнера (1893) интенсивность обмена веществ у организмов пропорциональна поверхности тела. Для микроорганизмов характерна высокая интенсивность обмена веществ.

Микроорганизмам свойственна высокая метаболическая активность и изменчивость ферментативного аппарата. Осуществляется принцип: нужный фермент – в нужное время.

Ферменты образуют мультиферментные комплексы.

Присуща экологическая вездесущность, т.е. распространение в разных средах. Характерна слабая морфологическая дифференциация (в основном, один организм равен одной клетке).

Высокая скорость размножения обеспечивает распространение и выживаемость.

**Роль микроорганизмов в природе и народном хозяйстве.** В эпоху протерозоя микроорганизмы были единственными обитателями Земли. Именно микроорганизмам принадлежит ведущая роль в процессах круговорота биогенных элементов (углерода, азота, фосфора, серы и др.) в природе, определяющих возможность жизни на Земле. Осуществляя процессы минерализации веществ органического происхождения, они возвращают в атмосферу углекислый газ, столь необходимый для процесса фотосинтеза, а также переводят в минеральную форму, доступную для усвоения растениями, такие жизненно важные элементы, как азот, фосфор, сера и др.

Микроорганизмы выполняют благородную роль санитаров планеты, освобождая окружающую среду от токсичных соединений, таких, как аммиак, сероводород, метан, угарный газ и др., бактерии играют важную роль в поддержании озонового экрана, защищающего все живые организмы планеты от интенсивного воздействия солнечной радиации.

Микроорганизмы участвуют в геохимических процессах, в формировании месторождений нефти, меди, марганца, железа, серы и фосфоритов.

Активная жизнедеятельность микробного населения определяет плодородие почв и, следовательно, служит основой нашего земледелия. Основная масса запасов азота (не менее 65–70%) в почве пополняется биологическим путем за счет фиксации молекулярного азота атмосферы свободноживущими и симбиотическими формами микроорганизмов.

В жизни и хозяйственной деятельности человека исторически микроорганизмы играли двоякую роль. С одной стороны, человек, еще не зная о существовании микромира, уже пользовался услугами микробов в домашнем хозяйстве. Известно, что еще в VI тысячелетии до нашей эры в Вавилоне готовили пиво. С давних времен люди занимались виноделием,

хлебопечением, производством кисломолочных продуктов, уксуса, росяной мочкой прядильных растений. С другой стороны, многие виды микроорганизмов наносили вред хозяйству человека, разрушая промышленные и сельскохозяйственные продукты. Патогенные микробы с незапамятных времен вызывали тяжелые инфекционные заболевания человека и животных. Однако по мере расширения знаний о мире микробов возрастала их полезная роль для человека. Весь ход развития микробиологической науки служит неопровержимым доказательством этого положения.

Существование современного общества трудно представить без использования им продуктов, получаемых с помощью микробов.

В 50–70-е годы нашего столетия были разработаны новые отрасли микробиологической промышленности – производства кормового белка, аминокислот, ферментных препаратов, витаминов, биологических средств защиты растений, органических кислот и растворителей, полисахаридов, стимуляторов роста растений, микроорганизмов – фиксаторов атмосферного азота. В микробиологических производствах стали использоваться микроорганизмы различных таксономических групп.

**Основные направления биотехнологии.** Со второй половины 70-х годов перед человечеством встали глобальные проблемы: недостаток пищевого белка, вызванный ростом народонаселения; нарастающий дефицит природных ресурсов; антропогенное загрязнение окружающей среды. Существенный вклад в решение перечисленных проблем должна внести современная биотехнология.

Биотехнология – «это интегрированное использование биохимии, микробиологии и инженерных наук с целью достижения технологического (промышленного) применения способностей микроорганизмов, культуры клеток ткани и их частей». Существенный вклад в биотехнологию вносят достижения генетической и клеточной инженерии.

На сегодняшний день возможности биотехнологии особенно впечатляющи в трех направлениях.

**Первое направление** осуществляется в интересах сельского хозяйства. Создано крупнотоннажное производство микробного белка, вначале на основе гидролизатов древесины, а затем на основе углеводов нефти. Производство кормовых дрожжей, содержащих до 60% протеина, позволяет повысить питательную ценность комбикормов, микробиологический синтез незаменимых аминокислот, в первую очередь лизина и витаминов улучшает корма. В последние годы быстро растет массовое производство и применение бактериальных и вирусных препаратов, применяемых для профилактики заболеваний птиц и сельскохозяйственных животных, для борьбы с вредителями культурных растений. С каждым годом растет выпуск бактериальных удобрений, способных фиксировать молекулярный азот и переводить его в состояние, доступное растениям (ризоторфин, азотобактерин, др.).

**Второе направление** биотехнологии включает разработки, предусматривающие интересы биологической науки и народного здравоохранения. Достижения генной инженерии и молекулярной биологии, внедряемые в биотехнологию, позволяют обеспечить здравоохранение высокоэффективными вакцинами, антибиотиками, интерфероном, витаминами, аминокислотами, ферментами и другими биопрепаратами для научно-исследовательских и лечебных целей.

**Третье направление** представляют разработки, ведущиеся для решения запросов промышленности. Уже сегодня продукция биотехнологии применяется в пищевой промышленности (в производстве аминокислот, ферментов, витаминов), в металлургии (в процессах флотации и точного литья), в нефтегазовой промышленности (при бурении скважин и селективной очистке масел), в резиновой и лакокрасочной промышленности (для улучшения качества синтетического каучука), а также в ряде других производств.

Качественно новым направлением в биотехнологии являются разработки по генной инженерии, позволившие впервые осуществить микробиологический синтез инсулина, интерферона, ростовых гормонов и ряда других дорогостоящих препаратов.

Истощение месторождений нефти и природного газа ставит вопрос об использовании микроорганизмов для получения дополнительных видов топлива, таких, как метан, этанол и водород. В настоящее время в ряде стран действуют установки для получения метана, работающие на бытовых и сельскохозяйственных отходах.

Весьма перспективно использование микроорганизмов в гидрометаллургии для выщелачивания металлов из бедных руд. Именно такую технологию применяют при добыче меди и урана.

На способности микроорганизмов разрушать многие токсичные соединения химического синтеза основана принципиально новая современная система очистки окружающей среды с помощью биофильтров, включающих микробы. Экспериментально показана принципиальная возможность использования микроорганизмов для разложения в почве пестицидов. Отдельные виды микроорганизмов применяются в качестве индикаторов на присутствие небольших количеств витаминов, аминокислот и ряда веществ, ядовитых для человека и животных.

**Краткий исторический очерк развития микробиологии.** Честь открытия микромира принадлежит голландскому ученому Антони ван Левенгуку (1632–1723). Сконструировав микроскоп, дающий увеличение в 160–300 раз, он описал «живых зверьков», населяющих зубной налет, испражнения, воду, различные настои. В 1695 г. вышла в свет книга А. Левенгука «Тайны природы», в которой были впервые приведены описания микробов. Впервые микроорганизмы были рассмотрены в 1676 г.

Открытие микромира и послужило началом описательного – морфологического – периода в области микробиологии. Данный период длился не менее 150 лет.

Гениальные открытия Луи Пастера (1822–1895) определили начало качественно нового – физиологического – периода в микробиологической науке. Л. Пастер впервые доказал, что причиной процессов брожения и гниения, протекающих в природе, является ферментативная активность микроорганизмов. Изучая суть процесса брожения, он открыл возможность «жизни без кислорода», т.е. новый тип анаэробного дыхания, свойственный некоторым микробам. Работы Л. Пастера по изучению инфекционных заболеваний животных и человека (болезнь шелковичных червей, куриная холера, сибирская язва, бешенство) заложили основы медицинской микробиологии.

Ценный вклад в развитие медицинской микробиологии внес Р. Кох (1843–1910). Он разработал методы посева и выделения микроорганизмов в чистую культуру, ввел в практику окраску микробов анилиновыми красителями, иммерсионную систему микроскопирования и микрофотографию. Р. Кох изучил возбудителя сибирской язвы (1876), открыл возбудителей туберкулеза (1882) и холеры (1883).

Развитие микробиологии неразрывно связано с именами русских ученых. Одним из основоположников микробиологии в России был Л.С. Ценковский (1822–1887). В его докторской диссертации «О низших водорослях и инфузориях» впервые научно обоснованно дана классификация микробов, установлена близость бактерий к сине-зеленым водорослям, бактерии отнесены к растительным организмам.

С именем И.И. Мечникова (1845–1916) связано развитие нового направления в микробиологии – иммунологии (невосприимчивость организма к инфекциям). Классические работы И.И. Мечникова по внутриклеточному пищеварению позволили ему создать фагоцитарную теорию иммунитета.

Ближайшим соратником И.И. Мечникова был Н. Ф. Гамалея (1859–1949). Ему принадлежат оригинальные теории инфекции и иммунитета, крупные исследования по изучению туберкулеза, холеры и бешенства. В 1898 г. Н.Ф. Гамалея впервые описал явление бактериофагии – растворение бактерий под влиянием особого агента. Трудami отечественных ученых заложен прочный фундамент эколого-физиологического направления в микробиологии. Развитие экологии почвенных микроорганизмов неразрывно связано с именами С.Н. Виноградского (1856–1953) и В.Л. Омелянского (1867–1928). Применив оригинальный метод элективных питательных сред, С.Н. Виноградский открыл новый хемолитоавтотрофный тип питания микробов.

В.Л. Омелянский был не только выдающимся ученым, но и прекрасным педагогом. Его исследования связаны с изучением роли микроорганизмов в круговороте веществ в природе.



Экологическое направление в области водной микробиологии успешно развивал Б.Л. Исаченко (1871–1948). Он впервые указал на роль микроорганизмов в круговороте веществ в водоемах.

Отцом вирусологии считается Д.И. Ивановский (1864–1920), впервые в 1892 г. методом фильтрации выделивший вирус табачной мозаики. Спустя 6 лет, в 1898 г., независимо от работ Д.И. Ивановского, вирус табачной мозаики вторично открыл М. Бейеринк (1851–1931).

XX век характеризуется крупнейшими открытиями в области биохимии и генетики микроорганизмов. Сравнительное биохимическое изучение разных физиологических групп микроорганизмов позволило А. Клейверу и К. ван Нилю сформулировать основы теории биохимического единства жизни, которая базируется на единых закономерностях процессов энергетического и конструктивного обмена для всех организмов обширного царства прокариот.

В 40–50-е годы XX столетия сделаны выдающиеся открытия в области генетики микроорганизмов. В 1944 г. О. Эйвери, К. Мак Леод, М. Мак-Картти доказали, что веществом, ответственным за передачу наследственных свойств у бактерий, является ДНК. В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик расшифровали строение молекулы ДНК, раскрыли генетический код и механизмы репликации ДНК и регуляции синтеза белка, единые для всех живых организмов. Исследования Э. Чаргаффа (1950, 1951, 1952, 1957), А.Н. Белозерского и А.С. Спирина (1956, 1962), И. Ли, К. Валя и Е. Барбю (1956) по нуклеотидному составу ДНК разных групп микроорганизмов показали видоспецифичность отношения сумм азотистых оснований в молекуле ДНК и раскрыли возможности использования этого признака в таксономии бактерий. Работы Дж. Ледерберга и Э. Тейтума (1946), Н. Циндера и Дж. Ледерберга (1952) позволили выяснить половую дифференцировку бактерий и закономерности рекомбинаций генетического материала прокариот. Дальнейшие исследования Ф. Жакоба и Э. Вольмана (1958) привели к открытию плазмид – внехромосомных факторов наследственности, контролирующих весьма существенные свойства бактерий, в том числе устойчивость их к лекарственным препаратам. Свойства плазмид определили использование их в экспериментах в качестве переносчиков генов (векторов) от одних бактерий к другим, а также для переноса генов из клеток млекопитающих в бактериальные клетки. Успехи исследований в области генетики обусловили развитие ее нового раздела – молекулярной генетики, составляющей основу современной генной инженерии. Свой вклад в микробиологию внесли многие выдающиеся советские ученые. Г.А. Надсон (1867–1940) впервые в 1925 г. получил мутанты микроорганизмов под влиянием лучистой энергии. Его исследования открыли новую область в естествознании – радиационную биологию. Большую роль в развитии технической микробиологии в СССР сыграли работы С.П. Костычева, А.Н. Лебедева, В.С. Буткевича, В.Н. Шапошникова,

А.Я. Мантейфель. Коллектив ученых под руководством В.Н. Шапошникова разработал и ввел в заводскую практику микробиологический синтез ацетона и бутилового спирта. Исследования С.П. Костычева, А.Н. Лебедева и Л.А. Иванова позволили создать гидролизно-спиртовое производство.

Достижения медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии неразрывно связаны с именами Л.А. Зильбера, З.В. Ермольевой, А.А. Смородинцева, М.П. Чумакова, П.Ф. Здродовского, В.Д. Тимакова, В.М. Жданова.

Современный период развития микробиологии тесно связан с общим научно-техническим прогрессом и насущными запросами общества.

Многоплановость исследований, проводимых на сегодняшний день в области микробиологии, обуславливает подразделение ее на ряд самостоятельных научных дисциплин: общую, медицинскую, ветеринарную, сельскохозяйственную, техническую, космическую микробиологию, вирусологию, генетику микроорганизмов.

### **Форма и размеры прокариот**

Основная масса прокариот представлена одноклеточными организмами, имеющими очень малые размеры. Для измерения бактерий и их структур применяют такие единицы, как микрометр (мкм) и нанометр (нм).

Бактерии невидимы для невооруженного глаза человека (предел разрешения человеческого глаза лежит в области 70–80 мкм). Для изучения прокариотной клетки и ее структур используют световые и электронные микроскопы. Предел разрешения светового микроскопа равняется 0,2 мкм, предел разрешения лучших электронных микроскопов составляет 0,15–0,3 нм. Таким образом, современные оптические приборы повышают разрешающую способность человеческого глаза в 250–500 тыс. раз.

Средние размеры прокариот лежат в пределах 0,5–3 мкм. Диапазон размеров бактерий весьма широк. Среди них есть свои гиганты и свои пигмеи. Например, клетки *Achromatium oxaliferum* достигают длины 125 мкм, длина нитчатой серобактерии *Beggiatoa gigantea* составляет несколько миллиметров при диаметре клетки до 55 мкм. Однако бактерии-гиганты в природе встречаются весьма редко. У большинства палочковидных бактерий длина клетки обычно не превышает 5 мкм при диаметре 1 мкм. Шаровидные бактерии имеют диаметр клетки от 0,5 до 1–2 мкм. Самые мелкие прокариотные организмы представлены группой микоплазм, размер их клеток составляет 0,12–0,15 мкм. Подсчитано, что в клетке микоплазм содержится 1200 молекул белка и осуществляется около 100 ферментативных реакций. Очевидно, это и есть тот минимум, который способен обеспечить наиболее примитивный клеточный уровень жизни.

Размеры клеток микроорганизмов взаимосвязаны с их структурной организацией и могут изменяться в зависимости от возраста культуры, состава питательной среды и действия других факторов. Малые размеры прокариот имеют экологическое значение. Благодаря минимальным массе

и размерам микробы распространяются токами воздуха на огромные расстояния и оказываются вездесущими.

По форме клеток основную массу прокариот можно подразделить на три группы: шаровидные, или кокки, палочковидные и извитые. 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 деления 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).

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. Палочковидные бактерии с грамположительной оболочкой, способные формировать эндоспоры, называют бациллами.

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

Помимо основных вышеописанных форм бактерий, в природе встречаются другие весьма разнообразные формы микроорганизмов. Например, микобактерии имеют палочковидную форму клетки с различной степенью ветвления. Тело актиномицета представлено одной сильно ветвящейся клеткой, похожей на мицелий гриба. Существуют звездчатые формы. Некоторые бактерии имеют форму кольца, полукольца (тороиды).

Своеобразную форму клетки имеют стебельковые и почкующиеся бактерии, несущие выросты, получившие название простек. Простеки – это выросты клеток, содержащие цитоплазму и окруженные элементами клеточной оболочки.

Одна клетка может иметь от 1 до 8 простек разной длины. Функции простек различны. Например, у бактерий рода *Nurhomicrobium* простеки, на концах которых образуются почки, выполняют репродуктивную функцию. У стебельковых бактерий рода *Caulobacter* простеки-стебельки служат для прикрепления клетки к субстрату. Очевидно, простеки, увеличивая поверхность соприкосновения клетки с субстратом, способствуют проникновению питательных веществ. Мелкие бактерии – микоплазмы, лишённые клеточной стенки, характеризуются выраженным плеоморфизмом и имеют кокковидную, палочковидную или нитевидную форму клеток.

### **Отличия прокариот от эукариот**

1. Наличие единственной цитоплазматической мембраны, ограничивающей содержимое клетки.
2. Отсутствие органоидов, ограниченных мембраной.
3. Отсутствие ядерной оболочки. Ядерный материал в виде кольцевидной хромосомы или нуклеоида.
4. ДНК хромосомы стабилизирована не гистонами, а полиаминами.
5. Характерно наличие автономных внехромосомных единиц наследственности – плазмид.
6. Клеточная стенка содержит пептидогликан – муреин и другие специфические вещества.
7. В цитоплазме присутствуют рибосомы 70-S типа.
8. В основе размножения лежит простое деление, митоз не характерен.
9. Отсутствуют фагоцитоз и пиноцитоз.
10. Не происходит движение цитоплазмы.
11. Возможно формирование эндоспор как типа покоящихся клеток для перенесения неблагоприятных условий.
12. Наличие особых запасных веществ: волютина, гранулезы, других органических и неорганических веществ (серы, углекислого кальция).
13. Наличие надоболочечных структур клетки: капсул, фимбрий, жгутиков.
14. Возможность формирования простек.

### **Структурно-функциональная организация клеток прокариот.**

#### **Оболочка и надоболочечные структуры клеток прокариот**

1. Структуры прокариотной клетки.
2. Основные вещества клеточной стенки прокариот.
3. Строение клеточной стенки грациликутных (Г--) и фирмакутных (Г+) бактериях.
4. Отличительные черты строения оболочек микобактерий.
5. Протопласты, сферопласты, L – формы.
6. Надоболочечные структуры клеток: жгутики, пили. Движение бактерий.

#### **Структуры прокариотной клетки**

Клетка прокариот 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 – капсулу, жгутики, фимбриии, у некоторых представителей бактерий – эндоспоры.

**Клеточная стенка.** Клеточная стенка является обязательным структурным элементом бактериальной клетки, исключение составляют микоплазмы и L-формы бактерий. Обладая высокой степенью эластичности и упругости, она выдерживает внутриклеточное давление. Клеточная стенка служит механическим барьером между протоплазмой и внешней средой, придает клеткам определенную форму, определяет способность удерживания или вымывания красителей, дает возможность клетке существовать в гипотонических растворах.

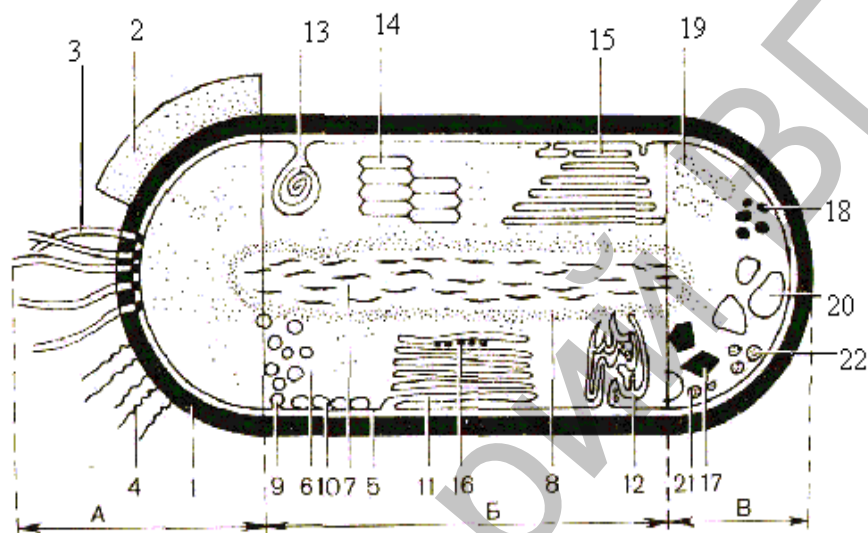


Рис. 1. Схематическое строение прокариотной клетки. А – поверхностные структуры: 1 – клеточная стенка; 2 – капсула, или слизистый слой; 3 – жгутики; 4 – фимбрии; Б – цитоплазматические структуры: 5 – цитоплазматическая мембрана; 6 – цитоплазма; 7 – нуклеоид; 8 – рибосомы; 9 – хромофоры; 10 – везикулы; 11 – пластинчатые тилакоиды; 12 – трубчатые тилакоиды; 13 – мезосома; 14 – аэросомы; 15 – ламеллярные структуры; 16 – карбоксисомы; В – запасные вещества: 17 – полифосфаты; 18 – полисахариды; 19 – поли-β-оксимасляная кислота; 20 – включения серы; 21, 22 – жировые капли (Г. Шлегель, 1972)

Поверхностные макромолекулы внешней стороны клеточной стенки выполняют разнообразные функции, такие, как:

- специфическая рецепторная для фагов и колицинов;
- антигенная роль;
- функция межклеточного взаимодействия при конъюгации и при взаимодействии с клетками тканей высших организмов.

Клеточная стенка грамотрицательных (грациликутных) значительно расширяет круг функций, так как осуществляет роль дополнительного клеточного барьера, имеет дополнительные специфические и неспецифические каналы (диффузные поры), препятствует проникновению в клетку токсических веществ.

Без специальных методов окраски рассмотреть клеточную стенку бактерий под световым микроскопом не удастся. На долю клеточной стенки приходится от 5 до 50% сухой массы клетки. Толщина данной структуры составляет 10–80 нм. Клеточной стенкой или клеточной оболочкой называют структуры, расположенные над цитоплазматической мембраной. Различают также поверхностные дополнительные структуры (капсулы, жгутики, фимбрии и т.п.).

По химическому составу клеточная стенка прокариот коренным образом отличается от оболочки клеток эукариот. Основным компонентом клеточной стенки бактерий является муреин, относящийся к классу пептидогликанов. Муреин – гетерополимер, образованный чередующимися остатками N-ацетил-N-глюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенными  $\beta$ -1,4-гликозидными связями. N-ацетилмурамовая кислота соединена с пептидом, в состав которого входят 4–6 различных аминокислот. Основу пептидного компонента муреина составляют тетрапептиды, образованные обычно L-аланином, D-глутаминовой кислотой, специфической для прокариот мезодиаминопимелиновой кислотой (мезо- ДАП) и D-аланином. У некоторых бактерий мезодиаминопимелиновая кислота замещена на L-лизин, либо L- или D-орнитин, либо на 2,4-диаминомасляную кислоту.

По содержанию муреина и специфике дополнительных компонентов, включенных в муреиновую сеть, все бактерии подразделяются на две группы: *грамположительные (фирмакутные)* и *грамотрицательные (грациликутные)*.

В 1884 г. Х. Грам предложил метод окраски бактерий, вошедший в практику микробиологии как один из диагностических признаков. Метод основан на различной способности микробов удерживать красители трифенилметанового ряда – кристаллвиолет и генцианвиолет в клетке. При окрашивании фиксированных мазков раствором фиолетового красителя и закреплении его раствором йода в калий-йод, грамположительные бактерии образуют стойкое соединение красителя с йодом и при последующей обработке мазков спиртом или ацетоном не раскрашиваются, сохраняя фиолетовую окраску. Грамотрицательные бактерии не образуют стойкого соединения красителя с йодом, полностью обесцвечиваются спиртом или ацетоном, и мазки их подлежат дополнительной окраске, обычно водным раствором фуксина. Способность микроорганизмов окрашиваться по методу Грама или утрачивать окраску объясняется спецификой химического состава и ультраструктуры их клеточной стенки.

Клеточная стенка грамположительных бактерий достаточно массивна, толщина ее достигает 20–80 нм. Она имеет гомогенную губчатую структуру, пронизанную порами, и плотно прилегает к цитоплазматической мембране. Муреин в клеточной стенке грамположительных бактерий составляет от 50 до 90% ее сухой массы. С муреином связаны теихоевые кислоты. Они представляют собой полимеры трехатомного спирта глицерина или пятиатомного

спирта рибита, остатки которых соединены фосфодиэфирными связями. Одна молекула тейхоевой кислоты обычно включает от 7 до 15 спиртовых остатков. Свободные гидроксильные группы в молекулах спиртов могут быть замещены остатками D-аланина, глюкозы, N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина. Глицеринтейхоевые кислоты нередко связаны с липидом, находящимся в цитоплазматической мембране. Тейхоевые кислоты оказывают влияние на катионный обмен клетки. У некоторых бактерий они принимают участие в регуляции активности автолитических ферментов – гидролаз, способных разрушать собственную оболочку. В составе клеточной стенки грамположительных бактерий в небольшом количестве обнаружены полисахариды, белки и липиды. Оболочка фирмакутных – эффективный ионообменник с высокой поглотительной способностью и может содержать большое количество катионов. Поглотительная способность оболочек фирмакутных сопоставима с лучшими промышленными катионитами. У большинства фирмакутных в составе оболочек присутствуют дополнительные структурные компоненты, образованные полисахаридами, белками или гликопротеидами. Нередко одиночно расположенные молекулы белков образуют дополнительную структуру на поверхности основного слоя клеточной стенки. Например, молекулы белка А стафилококков формируют одномолекулярную антипараллельную структуру, обладающую высокой биологической активностью. Белок А вызывает агглютинацию эритроцитов, угнетает фагоцитоз, комплемент, препятствует трансформации лимфоцитов, является иммунодепрессантом. У стрептококков группы А белок М образует ворсинки из спаренных молекул, связанных с муреином оболочки. Белок М обеспечивает связь в цепочке кокков, а также взаимодействие с клетками эпителия. По своему строению белок М очень близок к мышечному белку позвоночных тропомиозину, поэтому организм не вырабатывает против него антитела. Белок М является иммунологическим мимикрантом.

В наиболее сложно устроенных оболочках фирмакутных на срезах выявляются два электронно плотных слоя, разделенных слоем с меньшей электронной плотностью для электронов, пронизанных фибриллярными мостиками, имеющие на поверхности структуры белков.

Клеточная стенка грамотрицательных (грациликутных) бактерий многослойна, отличается структурной и функциональной сложностью, толщина ее составляет 14–17 нм. По химическому составу она более разнообразна. Эта группа прокариот отражает один из прогрессивных путей эволюции бактерий. Для них характерно наличие пространства между ЦПМ и клеточной стенкой, появление дополнительной внешней мембраны с большей структурной сложностью, меньшая доля муреина, входящего в состав муреинового мешка – саккулы.

Внешний слой клеточной стенки – наружная мембрана образована фосфолипидами, липополисахаридами – ЛПС, липопротеидами и белками.

Основной фракцией наружной мембраны являются липиды, составляющие в среднем 22% сухой массы клеточной стенки.

По строению наружная мембрана имеет типичную трехслойную организацию, характерную для элементарных мембран. Наружная мембрана отличается большей жесткостью и более сложным химическим составом. Основу внешней мембраны составляют липиды (ПЛС, липопротеины, фосфолипиды) и белки. ПЛС составляет около 30–40% поверхности мембраны, локализован во внешнем лепестке мембраны. ЛПС – вещество с высокой антигенной активностью, О-антиген или соматический бактериальный антиген, вызывает выработку антител иммунной системой макроорганизма. ЛПС сальмонелл состоит из липида А и гетерополисахаридной структуры, в которой выделяют О-антигенные цепи и ядро. О-антигенные или О-специфические цепи состоят из повторов олигосахаридов или гетерополисахаридов уникальной структуры. Эти цепи выступают над клеточной стенкой, образуя ворсинки рецепторного назначения, активно взаимодействующие с окружающим миром. О-антигенные цепи клубеньковых бактерий находят корни бобовых симбионтов.

О-антигенные цепи определяют устойчивость бактерий к действию фагоцитов, они часто мутируют и таким образом приобретают устойчивость к действию специфических антител, что дает преимущества патогенным бактериям.

Ядро структуры ЛПС является более стабильной структурой. Иногда выделяют внешнюю и внутреннюю части. Внешняя часть состоит из гексоз разного типа (Д-глюкозы, Д-галактозы, N-ацетилглюкозамина). Внутренняя часть состоит из гептоз, характерных ЛПС – 2-кето-3-дезоксид-манно-октоната (КДО) и других гептоз. Формирование полной структуры ЛПС у бактериального организма определяет некоторые культуральные свойства. Бактерии, имеющие полную структуру ЛПС образуют колонии с блестящей поверхностью, а с нарушением в структуре ЛПС – колонии с матовой поверхностью, обладают рядом дефектов внешней мембраны, часто отличаются селективными преимуществами по сравнению с нормой по ЛПС.

Липид А является мембранным носителем для ЛПС и представляет собой фосфолипид. Центральную часть липида А составляет дисахарид, состоящий из двух фосфорилированных Д-глюкозаминовых остатков. Глюкозамины ацилированы жирнокислотными остатками.

ЛПС большинства бактерий токсичен для животного организма, то есть является эндотоксином. ЛПС вызывает лихорадку, лейкоцитоз, токсический шок и даже смерть.

Липопротеин Брауна – основной компонент внешней мембраны, имеет молекулярную массу около 7000, состоит из 58 аминокислот. В липопротеине повторяется 15 аминокислот. Первичная структура расшифрована Брауном, предполагается эволюционное закрепление дублика-



ции гена. Отсутствие или нарушения в строении липопротеина влияют на функции внешней мембраны.

Белки основы внешней мембраны или порины составляют до 80% белков мембраны, выполняют функции формирования гидрофильных пор. Известно более 10 видов белков основы, но одновременно в клеточной оболочке бывает 2–3, но не более 5 видов. Молекулы поринов формируют тримеры с образованием гексагональной сетки матрикса мембраны. Предположительно три молекулы порина образуют водную пору диаметром 2 нм. Каждая молекула порина стабилизирована тремя молекулами липопротеина, одна из которых ковалентно соединена с муреином. Белковый матрикс оболочек грациликотных определяет прочность и форму клеток. Белки основы выполняют важную роль в транспорте элементов питания, служат рецепторами для фагов и колицинов. Белки порины играют большее значение для проکاریот естественных мест обитания, чем для культивируемых.

Вторую группу белков составляют минорные белки внешней мембраны. Они выполняют транспортные и рецепторные функции. Полифункциональность – основное характерное свойство белков мембраны. Белки определяют культуральные свойства бактерий.

Внешняя мембрана содержит двухвалентные катионы, которые удаляют с помощью ЭДТА или воды. Внешняя мембрана обладает трансмембранным потенциалом, она отрицательно заряжена со стороны периплазмы. Величина потенциала зависит от катионного состава среды; обычно оценивают в 20–30 Мв.

Периплазматическое пространство составляет около 10 нм, объем зависит от условий среды. Периплазма содержит муреиновый слой (саккулу) и раствор белков и олигосахаридов. Толщина муреинового слоя 1,6–3 нм, что соответствует одному-трем слоям муреина. Белки периплазмы двух типов. Встречаются гидролитические ферменты и транспортные белки. Возможно, что транспортные белки периплазмы ассоциированы с белками ЦПМ, которые обуславливают транспорт субстратов. Олигосахариды играют решающую роль в осморегуляции клетки.

У некоторых видов грациликотных на внешней мембране имеются белковые молекулы, образующие сетчатую структуру, несущие дополнительные защитные функции.

#### **Отличительные черты клеточных оболочек микобактерий**

Микобактерии характеризуются усложненными структурами оболочек. Относятся к фирмакутным бактериям. В оболочках выделяют 4 компонента:

- 1) скелет оболочек, образованный муреином, связанным ковалентно с миколом арабиногалактана;
- 2) свободные липиды;
- 3) пептиды;
- 4) глюкан.

Муреин микобактерий отличается рядом особенностей. Вместо ацетилмурамовой кислоты муреин содержит N-гликолилмурамовую кислоту. Свободные карбоксильные группы аминокислот амидированы, встречаются необычные связи типа мезо-ДАП – мезо-ДАП. Характерным компонентом оболочек микобактерий являются миколовые кислоты.

Миколовые кислоты это  $\alpha$  – разветвленные  $\beta$  – гидроксикислоты. По количеству атомов углерода различают типы кислот. Коринеформные – с 28–36 C, нокардиальные – с 40–60 атомами C, микобактериальные – с 60–90 атомами C.

Миколовые кислоты придают клеточной поверхности гидрофобность и кислотоустойчивость, способность к использованию гидрофобных субстратов (парафинов нефти), то есть определяют механизм важного адаптационного процесса. Компонентом миколовых кислот является миколат арабиногалактана, терминальные ветви которого определяют иммунные свойства. Патогенные микобактерии содержат корд-фактор, 6,6-димиколаттреголозы, обладающий высокой биологической активностью.

Клеточная стенка бактерий выполняет ряд функций. Она является наружным барьером клетки, устанавливающим контакт микроорганизма со средой. Обладая высокой степенью прочности, она выдерживает внутреннее давление протопласта в гипотоническом растворе.

Исключение составляют галофильные бактерии, клеточные стенки которых лишены муреина. Плотность (ригидность) муреинового каркаса клеточной стенки определяет форму микроба. Поскольку на поверхности клеточной стенки бактерий находятся фагоспецифичные рецепторы, следовательно, именно она определяет адсорбцию фага.

Структурную дифференциацию клеточной стенки грамотрицательных бактерий следует рассматривать как более высокую ступень эволюционного развития прокариот. Наружная мембрана клеточной стенки грамотрицательных бактерий выполняет роль дополнительного барьера, поэтому грамотрицательные бактерии оказываются более устойчивыми к действию различных химических веществ, ферментов и антибиотиков.

### **Протопласты, сферопласты, L-формы**

Действие некоторых антибиотиков (группы пенициллина и циклосерина), подавляющих синтез клеточной стенки бактерий, а также литических ферментов, разрушающих муреин, приводит к образованию протопластов или сферопластов. У последних, в отличие от протопластов, клеточная стенка разрушена не полностью.

Протопласты и сферопласты сохраняют обмен веществ, способность к росту, а иногда и к делению. При снятии действующего фактора они превращаются (реверсируют) в нормальные клетки, либо трансформируются в так называемые L-формы, либо погибают.

L-формами бактерий принято называть бактерии, лишенные клеточной стенки, но сохранившие способность к развитию. Морфологически L-формы бактерий полиморфны. Они представлены шаровидными или неправильной формы телами, часто вакуолизированными, размером от мельчайших (0,2–1 мкм в диаметре) до гигантских (от 5 до 50 мкм). Среди L-форм бактерий различают стабильные, которые почти никогда не реверсируют в исходный вид, и нестабильные, восстанавливающие клеточную стенку после прекращения действия трансформирующего агента.

Образование L-форм патогенных бактерий в организме больного человека можно рассматривать как одну из причин хронических рецидивирующих заболеваний. При неправильном приеме антибиотиков, способствующих образованию L-форм бактерий, может наступить улучшение состояния больного. Однако после прекращения приема лечебного препарата наступает реверсия L-форм в бактерии исходного вида с восстановлением их вирулентности, что приводит к рецидиву болезни. Свое название формы бактерий получили от имени Листера – известного английского врача, применившего впервые методы антисептики.

**Жгутики. Движение бактерий.** Жгутики встречаются во всех группах прокариот как постоянный или временный компонент. Рассмотреть жгутики можно только в электронном микроскопе после негативного контрастирования или оттенения их тяжелыми металлами. В световом микроскопе без специальных методов обработки отдельные жгутики не видны.

Жгутик состоит из нити, крюка и базальной структуры. Длина его обычно превышает длину клетки в 3 раза и в среднем составляет 10–20 мкм. Нить жгутика представлена полым цилиндром толщиной 12–20 нм, иногда нить окружена чехлом, и тогда ее толщина может достигать 35 нм. По химическому составу нить жгутика образована белком флагеллином. Аминокислотный состав флагеллина у разных видов бактерий может несколько варьировать. Содержание его нередко достигает 2% сухой массы клетки.

Концы нити жгутика неравноценны. Дистальный конец, удаленный от клетки, имеет Т-форму; проксимальный конец, обращенный к клетке, – Н-форму. Рост жгутика происходит с Т-конца. Считают, что молекулы флагеллина проходят по цилиндру нити и пристраиваются к Т-концу. Скорость роста нити жгутика у разных бактерий разная, в среднем она составляет 0,3–0,5 мкм/с. Полноценный жгутик *Escherichia coli* отрастает за 10 мин.

Нить жгутика крепится к крюку, представляющему собой изогнутый белковый цилиндр длиной 30–90 нм. Проксимальная часть крюка соединяется с палочкой, или осью, базальной структуры жгутика. Базальная структура жгутика сложная и состоит из двух или четырех колец, цилиндра и палочки-оси, на которой крепятся кольца и основание крюка. У грамотрицательных бактерий в базальной структуре жгутика имеются 4 кольца, из

них 2 дистальных кольца крепятся в наружной мембране и муреиновом слое клеточной стенки, проксимальные кольца локализованы: одно – в периплазматическом пространстве, другое – в цитоплазматической мембране. В базальной структуре жгутиков грамположительных бактерий имеются только 2 кольца, одно из которых крепится в цитоплазматической мембране, второе – в муреине клеточной стенки. По расположению и числу жгутиков на поверхности клетки бактерии подразделяются на: монополярные монотрихи – клетка несет один жгутик на одном из полюсов; монополярные политрихи – клетка несет пучок жгутиков на одном полюсе; биполярные монотрихи – клетка несет по одному жгутику на обоих полюсах; биполярные политрихи – клетка несет по пучку жгутиков на обоих полюсах; перетрихи – масса жгутиков располагается по всей поверхности клетки. Иногда жгутики располагаются латерально – на боковой стороне клетки. Число жгутиков (от 1–2 до 50–100 и более) и их расположение на поверхности клетки постоянны для каждого вида бактерий и являются диагностическими признаками микробов.

По функции жгутики – органы движения. Они типичны для плавающих палочковидных и извитых форм бактерий и лишь в единичных случаях встречаются у кокков. Жгутики бактерий по характеру работы подобны корабельному винту. Если клетка несет много жгутиков, они при движении собираются в пучок. Один жгутик или пучок жгутиков, быстро вращаясь против часовой стрелки, вызывает вращение клетки только в противоположном направлении и с меньшей скоростью.

Предполагается, что импульс вращения жгутики получают от вращения проксимального кольца базальной структуры, закрепленного в цитоплазматической мембране. Скорость поступательного движения клетки зависит от вида микроорганизма и условий окружающей среды. Нередко клетка проходит в 1 с расстояние в 20–60 мкм, т.е. в 20–50 раз больше длины собственного тела. К спринтерам среди бактерий относится холерный вибрион, его скорость равна 200 мкм/с.

Жгутики могут изменять направление вращения, и в этом случае бактерия останавливается и начинает кувыркаться. Вращение жгутиков у бактерий обеспечивается энергией трансмембранной протондвижущей силы. Эта сила создается при дыхании за счет выброса протонов в дыхательной цепи при переносе их через цитоплазматическую мембрану. Скорость вращения жгутиков зависит от величины мембранного потенциала.

Своеобразный тип движения характерен для спирохет. Тело спирохет состоит из протоплазматического цилиндра, окруженного цитоплазматической мембраной, и внешнего чехла, представленного муреиновым слоем и наружной мембраной. Вокруг протоплазматического цилиндра в периплазматическом пространстве перевиты пучки нитчатых структур – аксиальных фибрилл. Число их варьирует у разных спирохет от 2 до 100 и более. Одним своим концом аксиальные фибриллы закрепляются на полюсах

протоплазматического цилиндра, второй конец их свободен. В центральной части тела спирохет аксиальные фибриллы перекрываются.

Своеобразное движение спирохет осуществляется за счет вращения аксиальных фибрилл, вызывающего эластичную волну на поверхности внешнего чехла. Спирохеты способны вращаться вокруг оси спирали, изгибаться и осуществлять передвижение по винтовому или волнообразному пути. Аксиальные фибриллы спирохет, являясь внутриклеточными структурами, выполняют функцию бактериальных жгутиков.

У некоторых миксобактерий, микоплазм, нитчатых серобактерий и цианобактерий установлен скользящий тип движения с очень незначительной скоростью порядка 2–10 мкм/с. Механизм скользящего движения пока неясен. У ряда нитчатых цианобактерий между муреиновым слоем и наружной мембраной в клеточной стенке обнаружен тончайший непрерывный слой фибрилл. Предполагается, что функция фибрилл аналогична функции жгутиков, только фибриллы находятся в клеточной стенке цианобактерий и не выходят на поверхность. Скользящее движение нитчатых бактерий обычно сопровождается и вращением клетки.

Направленное передвижение бактерий в ответ на действие раздражителя получило название *таксиса*. Таксис может быть положительным или отрицательным. Принято различать хемотаксис, аэротаксис, фототаксис, в зависимости от действующего раздражителя. Фототрофные бактерии способны различать самые незначительные изменения освещенности среды, всего на 10,7%, т.е. почти так же, как человеческий глаз (0,4%). Обладая высокой чувствительностью к действию различных факторов окружающей среды, микроорганизмы за короткое время локализуются в оптимальной зоне обитания.

**Фимбрии.** Под электронным микроскопом на поверхности бактериальных клеток открыты тонкие нитевидные структуры, получившие название *фимбрий или пилей*. По размерам они короче и тоньше жгутиков. Длина их составляет 0,3–0,4 мкм при диаметре 5–10 нм. Фимбрий – прямые полые цилиндры, отходящие от цитоплазматической мембраны. Они образованы специфическим белком пилином. Число фимбрий на поверхности клетки колеблется от одной-двух до нескольких тысяч. Фимбрии имеют кокковидные, палочковидные, подвижные и неподвижные бактерии. Функции фимбрий не связаны с движением клетки.

По морфологии, антигенным свойствам и выполняемым функциям принято различать несколько типов фимбрий.

Фимбрии первого типа выполняют функцию прикрепления клетки к поверхности субстрата или сцепления клеток при образовании зооглеи. Возможно, они принимают участие в проведении крупномолекулярных соединений питательного субстрата в цитоплазму.

Фимбрии второго типа – половые фимбрии, или F-пили. Они образованы белком с молекулярной массой 11800, длина их составляет около

1,1 мкм при толщине 8,5–9,5 нм. Эти пили образуются на клетках-донорах в количестве 1–2, в анаэробных условиях иногда до 5. При конъюгации конец половой фимбрии клетки-донора прикрепляется к белку наружной мембраны клетки-реципиента. Считается, что по цитоплазматическому мостику через канал F-пили или непосредственно по ее каналу происходит передача материала ДНК из клетки-донора в клетку-реципиент. Половые пили способна отрастать за 4–5 мин и также быстро сбрасываться клеткой, что свидетельствует об активности данной структуры.

### **Структурно-функциональная организация клеток прокариот.**

#### **Внутреннее строение клеток прокариот. Эндоспоры**

- 1. Цитоплазматическая мембрана и её производные.**
- 2. Цитоплазма и внутрицитоплазматические включения.**
- 3. Запасные вещества прокариот.**
- 4. Эндоспоры и другие покоящиеся стадии бактерии.**

**Цитоплазматическая мембрана и ее производные.** Внутри от клеточной стенки располагается цитоплазматическая мембрана (ЦПМ), окружающая цитоплазму клетки. Она является обязательным полифункциональным структурным элементом клетки. Цитоплазматическая мембрана составляет 8–15% сухой массы клетки.

Химический состав цитоплазматической мембраны представлен белково-липидным комплексом, в котором на долю белков приходится 50–75%, на долю липидов – 15–50%. В цитоплазматической мембране некоторых бактерий обнаружено незначительное количество углеводов. По-видимому, углеводы входят в состав гликолипидов и гликопротеидов. Главным липидным компонентом мембраны являются фосфолипиды. К характерным мембранным фосфолипидам бактерий относятся фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин и дифосфатидилглицерин, или кардиолипин. Гликофосфолипиды, включающие остатки различных сахаров – глюкозы, галактозы, маннозы, глюкуроновой кислоты, присущи в основном мембране клеток грамположительных бактерий. Из других компонентов липидной фракции в цитоплазматической мембране бактериальной клетки обнаружены каротиноиды, убихиноны и менахиноны.

Белковая фракция цитоплазматической мембраны представлена структурными белками, обладающими ферментативной активностью. Белковый состав цитоплазматической мембраны бактерий весьма разнообразен. Так, в цитоплазматической мембране *Escherichia coli* содержится около 120 различных белков. По аминокислотному составу белки цитоплазматической мембраны не отличаются от других белков бактериальной клетки.

К строению цитоплазматической мембраны бактерий приложима жидкостно-мозаичная модель мембран. Согласно этой модели мембрана образована текучим бислоем липидов, в который включены асимметрично

расположенные белковые молекулы. По расположению и характеру связи с липидным бислоем белки цитоплазматической мембраны подразделяются на поверхностные, периферические и интегральные. Поверхностные и периферические белки слабо связаны с липидным компонентом мембраны и обладают ферментативной активностью. Интегральные белки настолько тесно ассоциированы с молекулами липидов, что нередко только в присутствии липидов проявляют ферментативную активность.

Для ЦПМ характерны два наиболее типичных состояния: жидкостное и квазикристаллическое. Под жидкостным состоянием ЦПМ понимают способность фосфолипидных молекул к вращению и латеральному перемещению в соответствующем слое мембраны. Молекулы жирных кислот подвижные, толщина липидного слоя уменьшается. Скорость переходов липидных молекул внутри ЦПМ увеличивается.

Квазикристаллическое состояние характеризуется уменьшением подвижности липидного слоя, увеличением толщины мембраны, скорость переходов падает.

Цитоплазматическая мембрана выполняет роль основного осмотического барьера клетки. Она ответственна за поступление веществ питательного субстрата в клетку и выход продуктов метаболизма наружу. В мембране локализованы субстратспецифические ферменты-пермеазы, осуществляющие активный избирательный перенос органических и неорганических молекул. Ферментные белки цитоплазматической мембраны катализируют конечные этапы синтеза мембранных липидов, веществ клеточной стенки, капсулы и экзоферментов. На мембране локализованы окислительные ферменты и ферменты транспорта электронов.

Темпы роста цитоплазматической мембраны обычно превышают темпы роста клеточной стенки, в результате чего мембрана часто образует многочисленные инвагинации (впячивания) различной формы. Локальные инвагинации цитоплазматической мембраны, описанные у разных групп бактерий, получили название *мезосом*.

Мезосомы бактерий весьма разнообразны по форме, размерам и локализации в клетке. Наиболее простоорганизованные мезосомы имеют форму везикул (пузырьков), более сложно устроены ламеллярные (пластинчатые) и тубулярные (трубчатые) мезосомы. Часто в клетке бактерий формируются мезосомы смешанного типа, состоящие из пластинок, трубочек и пузырьков. Сложные мезосомные структуры встречаются у грамположительных бактерий. Большинство грамотрицательных бактерий имеют относительно просто организованные мезосомы; исключения составляют группы азотфиксаторов, нитрификаторов и метанооксиляющих бактерий.

Функции мезосом еще не выяснены. Предполагается, что они принимают участие в формировании поперечной перегородки при делении клетки. Мезосомы, имеющие непосредственную связь с нуклеоидом, играют определенную роль в репликации ДНК и последующем расхождении

дочерних хромосом. Возможно, мезосомы обеспечивают разделение (компарментализацию) бактериальной клетки на относительно обособленные отсеки, что создает более благоприятные условия для протекания ферментативных процессов.

В клетке фотосинтезирующих бактерий имеются внутрицитоплазматические мембранные образования, носящие название *хроматофоров*. В них локализованы фотосинтетические пигменты, поглощающие световую энергию, – бактериохлорофиллы и каротиноиды, ферменты транспорта электронов – убихиноны и цитохромы, а также компоненты системы фосфорилирования. Хроматофоры в клетках фотосинтезирующих бактерий образуют сложную мембранную сеть в виде трубочек, пузырьков или плоских сдвоенных дисков (тилакоидов), сохраняющих связь с цитоплазматической мембраной. При переходе фотосинтезирующих бактерий к гетеротрофному питанию в темноте хроматофоры могут исчезать и вновь образовываться на свету.

Формирование внутрицитоплазматических мембранных систем в бактериальной клетке следует рассматривать как увеличение рабочей поверхности цитоплазматической мембраны, обеспечивающее усиление разнообразных клеточных функций.

**Цитоплазма и внутрицитоплазматические включения.** *Цитоплазма* – это содержимое клетки, окруженное цитоплазматической мембраной. Гомогенная фракция цитоплазмы, содержащая растворимые компоненты РНК, ферментные белки, вещества субстрата и продукты метаболических реакций, получила название *цитозоля*. Вторая фракция цитоплазмы представлена структурными элементами: рибосомами, внутрицитоплазматическими включениями и нуклеоидом.

*Рибосомы* прокариот имеют константу седиментации 70S. Диаметр рибосом составляет 15–20 нм. Они образованы двумя субъединицами: 30S и 50S. Меньшая субъединица – 30S – включает одну молекулу 16S РНК с молекулярной массой около  $5,5 \cdot 10^5$  и 21 молекулу белков. Большая субъединица – 50S – содержит 2 молекулы РНК (23S и 5,5S с молекулярными массами.  $1,1 \cdot 10^6$  и  $0,4 \cdot 10^5$ ) и 34 молекулы белков. Для объединения субъединиц в димер рибосомы необходимы ионы  $Mg^{2+}$ .

Число рибосом в бактериальной клетке может быть разным. Так, в быстро растущей клетке *Escherichia coli* насчитывается около 15000 рибосом. Процесс биосинтеза белка в клетке осуществляется полисомами. Иногда в полисоме насчитывается несколько десятков рибосом, что свидетельствует об их высокой белоксинтезирующей активности. Для прокариот характерна ассоциация процессов транскрипции и трансляции, поэтому свойственно образование комплексов рибосом (полисом), и-РНК и ДНК.

Рибосомы бактериального 70S-типа входят в состав органоидов эукариот – митохондрий и хлоропластов. Данный факт свидетельствует об



эволюционном родстве прокариотных и эукариотных организмов. Существует теория симбиогенеза

*Цитоплазматические включения* бактериальной клетки принято подразделять на включения, окруженные белковой мембраной, и включения, лишенные белковой мембраны. Примером включений, имеющих белковую мембрану, могут служить *аэросомы* (газовые вакуоли), обнаруженные только в клетках прокариот. Аэросомы характерны для многих групп бактерий, обитающих в водоемах и илах. Электронная микроскопия установила сотовидную структуру аэросом, представленную массой газовых пузырьков, каждый из которых имеет форму цилиндра длиной 200–1000 нм и диаметром около 75 нм. Пузырьки ограничены однослойной белковой оболочкой толщиной 2 нм и заполнены газом. Предполагается, что состав газа аэросом аналогичен составу газов в окружающей среде. Аэросомы, снижая удельную массу бактериальной клетки, поддерживают ее во взвешенном состоянии в водоеме. Бактерии, имеющие аэросомы, обычно являются обитателями планктона.

В клетках зеленых бактерий к внутрицитоплазматическим включениям относятся *хлоросомы*. Они имеют форму продолговатых пузырьков длиной 90–150 нм и диаметром 25–70 нм. Хлоросомы окружены однослойной белковой мембраной. В них локализованы бактериохлорофиллы, поглощающие световую энергию.

В клетках цианобактерий присутствуют *фикобилисомы*, содержащие водорастворимые пигменты белковой природы – фикобилипротеиды.

К внутрицитоплазматическим включениям в клетках некоторых фототрофных и хемотрофных бактерий, а также всех цианобактерий относятся *карбоксисомы*, или полиэдрические тела. Они имеют форму многогранника диаметром 90–100 нм, окруженного однослойной белковой мембраной. Содержимое карбоксисом представлено в основном молекулами D-рибулезо-1, 5-дифосфаткарбоксилазы – ключевого фермента, катализирующего фиксацию углекислого газа в процессах фото- и хемосинтеза.

К специфическим включениям относятся рапидосомы, магнитосомы, R-тела.

### **Запасные вещества прокариот**

К внутрицитоплазматическим включениям бактериальной клетки относятся и запасные вещества – полифосфаты, полисахариды, поли-β-оксимасляная кислота и отложения серы. В условиях голодания запасные вещества являются источником энергии и питания бактерий. Запасные вещества накапливаются в цитоплазме при выращивании бактерий на обогащенных питательных средах, при заторможенных темпах роста культуры или при переходе ее в стадию покоя. В клетках бактерий может накапливаться одно запасное вещество или несколько разных по химической природе веществ. Например, клетки *Escherichia coli* предпочитают запасать гликоген, а *Chromatium okenii* способен накапливать полифосфаты.

Аналогом крахмала у представителей рода *Clostridium* является вещество гранулеза. В большинстве случаев запасные вещества отграничены от цитоплазмы белковой оболочкой или находятся в виде высокомолекулярных полимеров.

Эндоспоры и другие покоящиеся стадии бактерий.

Эндоспоры – особый тип покоящихся клеток фирмакутных, т.е. бактерий с грамположительным типом оболочки, хотя некоторые образующие споры виды могут по методу Грама окрашиваться отрицательно.

К настоящему времени описано более 15 родов бактерий, образующих эндоспоры. Эти организмы различаются как морфологически, так и по физиологии и экологии. Образование спор является приспособлением, необходимым для существования соответствующих видов, так как позволяет переносить неблагоприятные условия среды.

Одна клетка образует одну спору, увеличения числа организмов при этом не происходит, поэтому эндоспорообразование не способ размножения бактерий. Эндоспоры представляют собою стадию покоя и приспособлены к перенесению неблагоприятных условий.

Способность к образованию спор определяется наличием специальных генов, комплекс которых иногда определяют как спорулон, хотя они не оформлены в виде какой-либо определенной структуры, но несколько их групп-оперонов расположены в различных участках хромосомы.

Для начала спорообразования необходимо завершение репликации хромосомы, причем сигнал к спорообразованию должен быть получен еще в период репликации. Если репликация заканчивается в богатой среде, наступает вегетативное деление. В процессе образования споры хромосома не реплицируется, таким образом, в спору попадает одна или несколько полностью реплицированных хромосом.

Процесс спорообразования принято подразделять на 6 последовательных стадий, смена которых определяется активированием соответствующих генов. При этом один из продуктов работающего по данной стадии оперона служит индуктором активности последующих генов, выключение любого этапа делает невозможными последующие. Депрессия споровых генов до 3-й стадии спорообразования (образование споры) обратима, и изменение среды может привести к их репрессии и переходу клетки к вегетативному росту.

Процесс образования споры довольно продолжителен, у аэробных мезофильных бацилл он занимает около 8 ч.

Стадия 1 характеризуется, прежде всего, необычным поведением ДНК, образующей осевой тяж вдоль клетки. У видов *Bacillus* осевой тяж проходит через всю клетку и включает в себя всю ДНК клетки, тогда как у некоторых видов *Clostridium* он образуется только частью содержащейся в клетке ДНК и располагается на одном из полюсов клетки, занимая лишь незначительную часть ее длины.

Конденсацию ДНК в относительно компактную структуру в процессе спорообразования связывают с изменением активности генома, с прекращением репликации хромосомы, транскрипции и трансляции вегетативных генов и потерей ДНК связи с рибосомами и мембраной. Показано, что на первых двух стадиях спорообразования активность генома низка.

Цитоплазма спорогенной зоны обычно не содержит включений запасных веществ.

Стадия 2 характеризуется отделением от осевого тяжа ДНК участка, соответствующего хромосоме, который движется к полюсу клетки. Затем часть цитоплазмы клетки с заключенной в нее хромосомой отделяется цитоплазматической мембраной, врастающей так же, как при клеточном делении, но здесь оболочка клетки участия в делении не принимает. В результате образуются две разделенные мембраной клетки, неравные по размерам. В это время процесс спорообразования еще обратим. Если бактерии перенести в условия, благоприятные для вегетативного роста, деление будет завершено слоями оболочки, и образуются две вегетативные клетки разной длины. Обе в дальнейшем могут делиться, хотя меньшая клетка медленнее.

События, происходящие на второй стадии спорообразования, определяются генами, по крайней мере 8 оперонов, расположенных в разных участках хромосомы.

Между 2-й и 3-й стадиями происходит врастание двойной мембраны или септы так, что в результате образуется округлая проспора, окруженная двумя мембранами. У некоторых видов в этом процессе принимает участие мезосома. Проспора в конце концов совершенно отделяется от мембраны материнской клетки и как бы свободно плавает внутри нее. На этом этапе происходит резкое изменение свойств мембран споры, на срезах они окрашиваются менее контрастно, чем цитоплазматическая. Считают, что в этот момент происходит изменение их транспортных свойств. Процесс спорообразования становится необратимым, причем не только для споры, но и для материнской клетки, которая уже не может вернуться к вегетативному росту.

Проспора остается у полюса клетки или, у некоторых видов, перемещается к ее центру. В процессе образования споры две окружающие ее мембраны оказываются расположенными зеркально, т.е. внешний, ранее обращенный к среде лепесток внутренней мембраны обращен наружу, а у внешней мембраны – внутрь. При этом, вероятно, эффективный транспорт веществ внутрь споры из цитоплазмы материнской клетки может обеспечиваться только за счет пассивной или облегченной диффузии.

После завершения образования споры бактерия начинает интенсивно потреблять из среды ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , которые в конце концов могут составить до 2% от сухой массы споры и в молярном выражении превысить сумму всех других находящихся в споре катионов. Поступление  $\text{Ca}^{2+}$  в

спорангии, т.е. в спорулирующую клетку, происходит в результате энергозависимого активного транспорта, но из цитоплазмы спорангия в проспору он поступает за счет диффузии. Внутри проспору образуется комплекс Са с дипиколиновой кислотой (ДПК), так что концентрация свободного  $\text{Ca}^{2+}$  в проспоре оказывается низкой и не препятствует его диффузии из клетки.

На 4-й стадии между двумя мембранами проспору начинается образование муреинового слоя. Процесс идет в 2 стадии. Сначала образуется примордиальный (зачаточный) слой, который после прорастания споры станет оболочкой проростка. Затем над ним откладывается несколько видоизмененный муреин, образующий толстый слой коры или кортекса. Синтез вещества кортекса является более кислым, чем муреин оболочки, за счет того, что многие остатки мурамовой кислоты не содержат пептидов или соединены лишь с 1–3 аминокислотами, которые не образуют сшивок и, следовательно, имеют свободные карбоксильные группы.

По мере развития проспору происходит усиление ее способности к светопреломлению, вероятно, связанной с обогащением споры комплексом ДПК-Са. В фазово-контрастном микроскопе проспора выглядит серой. Способность к светопреломлению является характерной особенностью зрелой бактериальной споры.

На стадиях 3 и 4 проспора, выделенная из спорангия, осмотически нестабильна и нежизнеспособна.

На 5-й стадии спорообразования у бацилл начинают формироваться покровы споры. На срезах они сначала имеют вид отдельных коротких электронно-плотных линий или пластинок, расположенных в цитоплазме спорангия в 20–30 нм от наружной мембраны проспору. Пластины затем разрастаются и сливаются, образуя непрерывные слои вокруг споры. Внешняя мембрана проспору становится плохо заметной на срезах, хотя, видимо, сохраняется в дальнейшем.

На 5-й стадии продолжается накопление спорой ДПК и Са, повышается устойчивость ее к органическим растворителям, например октанолу, хлороформу, спора становится светлой в фазовом контрасте. Она уже осмотически стабильна, но сохраняет термочувствительность. Выделенные из спорангия проспору могут прорасти, при этом их прорастание индуцируется теми же индукторами, что и прорастание зрелых спор, но не наблюдается термоиндукции прорастания.

На 6-й стадии спорообразования заканчивается формирование всех характерных структур споры, она приобретает термоустойчивость. Иногда выделяют еще 7-ю стадию, на которой происходит лизис спорангия и выход споры в окружающую среду. При этом материнская клетка, или спорангий, до самого последнего момента сохраняет активность. Развитие споры определяется активностью двух геномов – материнской клетки и проспору. Геном материнской клетки определяет синтез ДПК, белков, покровов споры, экзоспориума, выростов и газовых вакуолей у спор, содер-

жащих эти структуры. От активности генома материнской клетки зависит образование ассоциированных со спорообразованием протеаз, антибиотиков и токсинов, а так же литических ферментов, образующихся на последнем этапе спорообразования. Определенная степень координации метаболизма материнской клетки сохраняется вплоть до ее лизиса.

Строение зрелой споры у разных видов соответствует одной и той же схеме. Сердцевина споры содержит белки и нуклеиновые кислоты, на их долю приходится не более 50–60% сухой массы споры, остальную ее часть составляют ДПК и другие низкомолекулярные вещества. Спора содержит так же рибосомы и различные ферменты, большинство из которых ничем не отличаются от соответствующих ферментов вегетативной клетки. Липиды вегетативной клетки и споры одинаковы, хотя количественное содержание определенных жирных кислот может быть различным.

Сердцевина споры окружена цитоплазматической мембраной, липиды которой находятся в упорядоченном кристаллическом состоянии геля. В их стабилизации, возможно, принимают участие ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Как уже говорилось, над мембраной находится примордиальный муреиновый слой, а затем толстый слой кортекса. Последний занимает 13–60% от объема споры, хотя образующий его муреин составляет всего 9–15% от массы споры. Это несоответствие объясняют высокой обводненностью кортекса. Даже довольно значительное его уменьшение может заметно не повлиять на свойства споры, но имеется определенный минимум массы кортекса, ниже которого спора теряет термоустойчивость.

На срезах споры кортекс выглядит как массивный электронно-прозрачный слой, у покоящихся спор гомогенный, у прорастающих или разрушающихся – фибриллярный.

Как уже было отмечено, муреин кортекса является кислым за счет того, что только незначительная часть остатков мурамовой кислоты несет пептиды, часть занята только остатками L-аланина, а часть не соединена с аминокислотой и образует лактам.

Видимо, лактам, пептид и аланин чередуются в молекуле муреина. Состав пептидов кортекса может несколько отличаться от состава пептидов муреина оболочки. Длина нитей полисахаридной части муреина кортекса больше, чем у вегетативных клеток, и соответствует 80–100 дисахаридным остаткам. Синтез мурамового лактама начинается одновременно с синтезом ДПК.

Кортекс и зародышевая стенка кроме муреина содержат ряд литических ферментов, которые активируются при прорастании или при механическом нарушении целостности споры.

Снаружи кортекс ограничен внешней мембраной проспоры. Затем следуют покровы споры. Между мембраной и покровами находятся захваченные при спорообразовании участки цитоплазмы материнской клетки.

Над кортексом споры одеты слоистыми покровами, число и строение которых у разных видов бывают различны. У многих видов покровы дифференцированы на три слоя: внутренний, средний и внешний. Каждый из этих слоев в свою очередь может состоять из нескольких чередующихся электронно-плотных и электронно-прозрачных слоев. При этом внешний покров часто структурирован.

Покровы споры состоят из белка обычно с небольшой примесью углеводов и липидов, иногда содержат много фосфора.

У зрелой споры выявляются три основных слоя покровов, но они имеют комплексное строение. Внешний слой содержит белок, синтезированный одним из первых, и белок, синтезируемый на поздних стадиях спорообразования. Именно внешний покров обеспечивает устойчивость спор к лизоциму. Покровы споры обеспечивают ее устойчивость к лизоциму и другим ферментам, органическим растворителям, поверхностно активным соединениям, придают споре гидрофобность. Покровы чувствительны к щелочам, мочеvine, сильным детергентам, например додецилсульфату. При нарушении целостности покровов сохраняется термоустойчивость и радиоустойчивость споры и ее способность к светопреломлению. При обработке крепкой кислотой спора разрывается и ее содержимое выходит. При этом, видимо, происходит освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из его комплекса с ДПК, и спора разрывается за счет создавшегося высокого внутреннего осмотического давления.

Экзоспориум образует как бы свободный мешок, внутри которого лежит спора, контактируя с ним только в некоторых участках. Обычно в его состав входят белки, липиды, углеводы. Базальный слой экзоспориума образован белком и формируется в результате самосборки белковых молекул.

Экзоспориум, видимо, никогда не бывает полностью замкнутым, и ограниченная им цитоплазма сообщается с остальной частью цитоплазмы спорангия. Вместе с тем экзоспориум создает определенную компартментализацию цитоплазмы.

У многих видов рода *Clostridium* споры снабжены различными придатками и выростами. По классификации, предложенной В.И. Дудой, можно выделить 6 типов и 16 разновидностей выростов спор *Clostridium*. 1-й тип – трубчатые выросты, которые могут иметь капсулярный слой, латеральные разветвления или шляпки; 2-й тип – лентовидные выросты; 3-й тип – булабовидные выросты, располагающиеся на споре по одному или несколько перитрихально; 4-й тип – фибриллярные тяжи; 5-й тип – волосовидные выросты, расположенные пучками на полюсе споры или по всей поверхности споры; 6-й тип – древовидные выросты. В составе выростов обнаружены белки, полисахариды, липиды. Предполагают, что выросты являются одним из средств пространственной организации (компартментализации) процессов в спорулирующих клетках.

Споры иногда окрашены и в массе выглядят желтыми или коричневыми. Споры не окрашиваются при использовании обычных методов, принятых в светооптической микроскопии, но без труда фиксируются методами, принятыми в электронно-микроскопических исследованиях. Характерной особенностью спор является способность к светопреломлению. Индекс светопреломления споры (около 1,55) близок к таковому сухого белка. Споры могут содержать до 79% воды, многократно высказывалось мнение, что эта вода сосредоточена только в районе кортекса, тогда как сердцевина обезвожена, имеются, однако, наблюдения, свидетельствующие о равномерном распределении воды в спорах.

Некоторые бактерии одновременно со спорами образуют параспоральные тела, которые не являются элементами спор или нормальными компонентами бактериальной клетки.

Бактериальные споры обладают уникальной устойчивостью к ряду неблагоприятных воздействий. Широко известная высокая устойчивость спор к температуре может быть различной и зависит от температуры, при которой происходит вегетативный рост соответствующего вида.

Повышенную устойчивость спор к ферментам, ядам, органическим растворителям можно в основном объяснить барьерной ролью белковых покровов споры.

Процесс прорастания споры принято подразделять на три стадии – активацию, инициацию и вырастание.

Активация означает готовность споры к прорастанию, при этом сохраняется ее устойчивость к температуре, способность к светопреломлению и др. Активация происходит в процессе старения спор, и тогда она необратима. Активация в сильной степени зависит от температуры. Активация может быть достигнута снижением величин pH, воздействиями редуцирующих агентов, в этих же случаях возможна деактивация.

Инициация прорастания необратима и длится в течение нескольких минут, при этом наблюдается определенная последовательность событий. Сначала снижается устойчивость споры к прогреванию, выход в среду ДПК-Са, спора становится темной в фазовом контрасте, хорошо окрашивается и, наконец, в среду начинает освобождаться глюкозамин и ДАП из растворяющегося кортекса. Происходит снижение светорассеяния суспензий спор. Процесс инициации зависит от температуры, влажности, величины pH раствора, но может происходить в условиях, исключающих вегетативный рост. Инициация нечувствительна к действию антиметаболитов, не зависит от присутствия источников азота, фосфора. Она может быть вызвана неспецифическими механическими воздействиями, обработкой спор ультразвуком, растиранием со стеклянными бусами, воздействием давлением несколько сот атмосфер. Подобная индукция инициации не является естественной и, вероятно, не имеет существенного биологического значения. Большой интерес представляет индукция инициации, вызываемая спе-

цифическими индукторами. Индукторами могут быть различные органические и неорганические вещества, очень часто некоторые аминокислоты.

Оказалось, что при спорообразовании в проспоре накапливается белок с молекулярной массой 46000, который в процессе созревания споры превращается в белок с молекулярной массой 4100, и, наконец, при прорастании споры в белок с молекулярной массой 40000, который и обнаруживает активность. Превращение белка с массой 41000 в белок с массой 40000 не требует затраты энергии, но дальнейшая деградация специфической протеазы – энергезависимый процесс.

Вырастание – это процесс активного роста, однако имеются некоторые отличия процессов, происходящих при вырастании и вегетативном росте. При вырастании идет активный синтез белка и РНК, но репликация ДНК начинается только через 1–2 ч после начала прорастания споры. Сначала происходят процессы репарации повреждений ДНК, произошедших в период покоя споры.

В процессе прорастания споры происходит лизис ее оболочек или их разрыв и выход проростка из оболочек. Тот или иной способ прорастания характерен для данного вида.

Образование эндоспор у некоторых видов может быть связано с прохождением бактерией специализированного жизненного цикла. Так, эндоспоры, одновременно являющиеся инфицирующей стадией организма, образуют бактериальный паразит нематод. Округлая спора находится внутри экзоспориума, имеющего чашевидную форму, и окружена кольцом фибриллярного материала. Плоская сторона этого комплекса прикрепляется к кутикуле нематоды, после чего спора прорастает в трубке, проходящей внутрь тела животного, где формируется примитивный мицелий. Отдельные клетки мицелия, сильно разрастаясь, превращаются в спорангии, в которых формируются споры. После лизиса зараженной нематоды споры оказываются в почве, где заражают новых животных. Из одной умершей нематоды может освободиться до 2 млн. спор.

По расположению в клетке выделяют типы спор. Бациллярный – спора располагается в центре клетки, кластридальный – спора смещена от центра к одному из полюсов, плектридиальный – спора располагается полярно, приобретая вид барабанной палочки.

Кроме эндоспор у бактерий могут обнаруживаться также другие типы покоящихся стадий. Цианобиты, спирохеты, метилотрофные бактерии способны образовать цисты, содержащие вдвое больше липидов, чем вегетативные клетки. Некоторые фотосинтезирующие и метанолюкисляющие бактерии образуют экзоспоры. Одна вегетативная клетка способна сформировать до 4 экзоспор.



## Генетика прокариот

1. **Нуклеоид прокариот. Внехромосомные носители наследственности.**
2. **Изменчивость прокариот.**
3. **Генетическая рекомбинация прокариот: трансформация, трансдукция, трансфекция, конъюгация.**
4. **Генная инженерия, перспективы и достижения.**

**Нуклеоид прокариот. Внехромосомные носители наследственности.** В широком понимании генетический аппарат включает все структуры клетки, которые взаимосвязано функционируют в процессе реализации генетической информации. Главенствующую роль играет нуклеоид. Нуклеоид содержит хромосому (молекулу ДНК), в которой в линейном порядке сгруппированы гены (цистроны). Определенный ген может занимать один локус («место») со своим аллеломорфным геном, то есть с другой формой одного и того же гена. Аллели одного локуса обозначаются буквами латинского алфавита – доминантные – заглавными, строчными – рецессивные гены.

Ген состоит из нескольких тысяч пар нуклеотидов. Каждый нуклеотид может изменяться, то есть мутировать, являясь единицей мутации – мутоном и единицей рекомбинации – реконом.

Различают:

1. Структурные гены – ответственные за синтез белковых молекул;
2. Гены-регуляторы – определяющие синтез цитоплазматических продуктов, от активности репрессоров зависит функционирование структурных генов;
3. Гены-операторы – участки по соседству со структурными генами, являются местами приложения действия репрессоров (Rp.);
4. Оперон – группа сцепления структурных генов, находящихся под контролем оператора.

Нуклеоид занимает в цитоплазме центральную область, представлен нитями ДНК диаметром 2 нм, нити ДНК упорядочены в хромосому в виде ковалентно замкнутого кольца. Длина молекулы ДНК в развернутом виде  $\approx$  в 1000 раз превышает длину бактериальной клетки. Часть молекулы ДНК в естественном состоянии состоит из суперспирализованных петель ДНК (от 20 до 100), что обеспечивается РНК.

В клетке прокариот молекулы ДНК взаимодействуют с полиаминами, а не гистонами – спермином, спермидином, с ионами Mg. Эти вещества нейтрализуют отрицательные заряды ДНК и создают структуру бактериальной хромосомы. Под влиянием определенных условий в клетке может происходить образование множества копий хромосомы (репликонов), в том случае понятие хромосомы и нуклеоида не совпадают.

Кроме хромосомы в клетке прокариот могут присутствовать плазмиды – и эписомы. Эписомы – плазмиды, встроенные в хромосомы бактериальной клетки.

Плазмиды бактерий – представляют собой кольцевидные двухцепочечные молекулы ДНК. Мелкие плазмиды содержат генетическую информацию  $\approx$  для двух белков, крупные – для 200 белков. Примерами плазмид являются факторы бактериоциногенности, колицины, F-фактор.

Факторы бактериоциногенности – впервые найдены у *E. coli* – колицины, генетически контролируют синтез специфических бактериоцинов, веществ убивающих чувствительные бактерии. Найдены у  $\Gamma^+$  и у  $\Gamma^-$  бактерий. F-фактор – половой фактор, контролирует процесс конъюгации и перенос генетического хромосомного материала из бактерий клетки-донора  $\Gamma^+$  в клетку реципиента ( $\Gamma^-$ ). На хромосому приходится один F фактор. R-фактор – фактор множественной устойчивости к химиотерапевтическим веществам. Он никогда не возникает в результате мутации, а передается через F-пили от одних клеток к другим или посредством трансдукции. Клетки с R-фактором регулируют сек-пили, и становятся донорами R-факторов. R-плазмиды имеют большое значение, т.к. клетки патогенных бактерий, содержащие R-фактор, устойчивы к лечебным химиопрепаратам.

В клетках дрожжей – обнаружено РНК-плазида – киллер-плазида (убийца), которая индуцирует синтез белка-токсина, убивающего клетки того же рода.

С помощью современных методов исследования установлено, что репликация ДНК начинается в точке прикрепления хромосомы к ЦПМ. М. Мезельсон и Ф. Сталь подтвердили полуконсервативный метод репликации ДНК у прокариот. При полуконсервативном способе новая молекула ДНК состоит из одной родительской цепи и одной вновь синтезированной. Использовался изотопный метод при равновесном центрифугировании.

Генетический код прокариот во многом аналогичен коду эукариот. Генетический код – триплетный, вырожденный, неперекрывающийся, универсальный, с кодонами терминации и инициации, т.е. бессмысленными в смысловой структуре транскрипции.

### **Изменчивость прокариот**

Генетика прокариот изучает закономерности наследственности и изменчивости организмов, относящихся к этому обширному и многообразному царству.

Наследственность прокариот обеспечивает сохранение и точное воспроизведение признаков данного вида. Изменчивость определяет появление различий в признаках между особями одного вида бактерий, что в конечном итоге, в процессе эволюции, приводит к возникновению разнообразных форм жизни.

Для прокариот, как и для эукариот, характерны два типа изменчивости: *генотипическая* (наследственная) и *фенотипическая* (модификационная). Фенотипические изменения признаков получили название *модификаций*.

При работе с микроорганизмами в качестве объекта используется не особь, а популяция. Популяция прокариот – это множество клеток (особей) одного вида, обитающие в ряду поколений в определенных условиях, где нет преград для свободного скрещивания. Микроорганизмы имеют общую генетическую программу и свободно обмениваются наследственной информацией.

Для популяции существуют такие показатели:

- ✓ Плотность – число особей на единицу V или S;
- ✓ Прирост – число новых особей, возникших в единицу времени;
- ✓ Гибель – число особей, гибнущих в единицу времени.

Изменение численности микроорганизмов выражают кривыми выживания или кривыми размножения. Клон – культура микроорганизмов, состоящая из наследственных однородных клеток, возникающих в результате бесполового размножения. Клон, сохраняющий специфические черты в течение длительного времени – штамм.

Из множества признаков, используемых для учета изменчивости микроорганизмов – морфология, структурно-химические особенности, культуральные антигенные – наиболее значимы стабильные изменения, наследуемые в потомстве клеток. Различают:

- ✓ Наследственные мутации;
- ✓ Ненаследственные модификации;
- ✓ Наследуемые длительные фенотипические модификации.

**Фенотипическая изменчивость.** Фенотипическая изменчивость возникает как ответная реакция организма на изменение условий окружающей среды и проявляется у большинства особей в популяции. Она не является наследственной и не приводит к изменению генетического аппарата бактерий. Фенотипическая изменчивость носит адаптационный характер. Модификации бактерий проявляются лишь временно, в период непосредственного действия фактора, и исчезают при его устранении. Например, широко распространённые в почве бактерии рода *Azotobacter* активно фиксируют атмосферный азот в условиях недостатка его в почве и резко снижают азотфиксацию при внесении в почву минеральных азотных удобрений. Недостаток кальция в среде вызывает слизистый рост бацилл сибирской язвы, но стоит добавить кальций – и слизеобразование прекращается.

Возникающие модификации бактерий могут быть относительно стабильными или, наоборот, очень лабильными. Иногда они могут сохраняться в течение нескольких поколений. Так, при длительном воздействии на культуру бактерий пенициллина или ультрафиолетового облучения происходит образование L-форм бактерий, которые сохраняются в течение нескольких поколений.

В природе фенотипические изменения часто повторяются в жизни прокариот. Нередко они носят циклический характер, связанный с сезонными климатическими факторами. Например, в почвах южных районов в

сезон знойного засушливого лета большинство бактерий приобретают слизистый матрикс, предохраняющий клетку от высыхания. Роль фенотипической изменчивости сводится к обеспечению выживаемости микробной популяции в изменившихся условиях среды.

Различают ненаследуемые модификации и наследуемые длительные фенотипические модификации. Последние определяются включением стабильных метаболических циклов.

Генотипическая изменчивость. Генотипическая изменчивость прокариот проявляется в виде мутаций и рекомбинаций и осуществляется в результате изменений в первичной структуре генетического аппарата.

Генотипические изменения возникают в природе как редкие события в жизни бактериальной популяции. Они не носят направленного характера и не являются адекватными изменению условий среды.

*Мутация* (от лат. *mutatio* – изменение) – термин, употребляемый в двух смыслах: возникновение изменения в структуре генетического материала и само изменение.

Анализ возникновения мутаций и накопление мутантов в бактериальных культурах был впервые проведен в 1943 г. С. Лурия и М. Дельбрюком. Их работы заложили основы генетики бактерий.

Мутации – стойкие наследственные изменения в структуре генетического аппарата. Механизм мутаций заключается в выпадении, вставке или замене одной пары нуклеотидов либо группы нуклеотидов в молекуле ДНК, а также в изменении последовательности их расположения. Мутационной изменчивости подвержены такие признаки бактерий, как ауксотрофность по аминокислотам, пуринам, пиримидинам, витаминам и другим компонентам питательного субстрата, чувствительность, или резистентность (устойчивость), к антибиотикам, ферментативная активность и т.д.

Если мутантная бактериальная клетка оказывается лучше приспособлена к условиям окружающей среды, чем исходные особи, то потомство ее при размножении культуры будет занимать все большую часть популяции и постепенно вытеснит исходные клетки. В результате произойдет изменение генотипического состава и соответственно свойств данной культуры микроорганизма.

По происхождению различают спонтанные и индуцированные мутации.

*Спонтанные* мутации возникают в популяциях прокариот без видимого внешнего воздействия и проявляются в самопроизвольном изменении их генома. Они носят случайный, ненаправленный характер и возникают до воздействия какого-либо селекционирующего фактора. Распространенными типами спонтанных мутаций являются устойчивость бактерий к фагам, ауксотрофность, антибиотикорезистентность. Одной из причин возникновения спонтанных мутаций могут быть ошибки в работе ДНК-полимеразы во время процесса репликации ДНК, например включение в синтезируемую дочернюю цепь нуклеотида, некомплементарного

нуклеотиду родительской цепи (вместо аденина, комплементарного тимину, включается гуанин или цитозин). В природе спонтанные мутации служат основным источником естественной изменчивости бактерий, именно они и лежат в основе эволюционного процесса прокариот.

*Индукцированные* мутации вызываются действием какого-либо фактора – химического соединения или различного рода излучениями (рентгеновские, ультрафиолетовые и гамма-лучи). Впервые возможность индуцирования мутаций показали в 1925 г. Г.С. Филиппов и Надсон. Они обнаружили мутагенное действие рентгеновских лучей на клетки дрожжей.

Частота индуцированных мутаций значительно выше частоты спонтанных и зависит от природы мутагена и его дозы.

По количеству мутировавших генов и характеру изменений в первичной структуре ДНК выделяют генные и хромосомные мутации.

*Генные* мутации затрагивают только один ген и чаще всего являются точковыми. Последние представляют собой выпадение, вставку или замену одной пары нуклеотидов.

*Хромосомные* мутации распространяются на несколько генов. Они носят характер крупных перестроек в отдельных фрагментах ДНК и проявляются в виде делеции – выпадении меньшего или большего числа нуклеотидов, инверсии – повороте участка ДНК на  $180^\circ$ , дупликации – повторении какого-нибудь фрагмента ДНК. Нередко хромосомные мутации приводят к дезинтеграции всех систем бактериальной клетки, что сопровождается летальным эффектом.

Факторы, вызывающие мутации, получили название *мутагенов*. Наиболее доступным мутагеном является ультрафиолетовое облучение бактериальных культур бактерицидными лампами с длиной волны около 260 нм. При этом механизм повреждения заключается в образовании димера тимина в молекуле ДНК, что приводит к блокированию нормального процесса репликации. В зависимости от дозы ультрафиолетовое облучение может оказывать на бактериальные клетки мутагенный или даже летальный эффект.

При рентгеновском и гамма-облучении в ДНК бактерии возникают различные повреждения – разрывы цепей и химические изменения нуклеотидов. Эффект повреждения прямо пропорционален дозе облучения.

Исключительной эффективностью характеризуются некоторые химические мутагены. Наиболее сильными супермутагенами являются нитрозосоединения. Относительно безопасным мутагеном считается азотистая кислота. В растворе при  $\text{pH}=4,4$  она активна по отношению ко всем группам микроорганизмов от вирусов до бактерий и грибов. Сильными мутагенами являются акридиновые красители, приводящие к мутациям типа вставок и выпадения нуклеотидов.

Эксперименты по индуцированному мутагенезу бактерий используются для решения общепромышленных проблем мутагенеза, а также прикладных задач промышленной и медицинской микробиологии.

## Генетическая рекомбинация

Генотипическая изменчивость прокариот наблюдается в результате *рекомбинации* генетического материала за счет частичного объединения геномов двух клеток и проявляется в фенотипе бактерий. К рекомбинативной изменчивости генетического материала прокариот приводят трансформация, трансдукция и конъюгация.

В отличие от эукариот, у которых при половом процессе происходит образование истинной зиготы, объединяющей генетический материал обоих родителей, у прокариот при всех трех вышеуказанных процессах наблюдается лишь частичный перенос генетического материала из клетки-донора в клетку-реципиент, что приводит к образованию неполноценной зиготы – *мерозиготы* (от греч. meros – часть). Таким образом, прокариотная клетка-реципиент становится частично диплоидной, сохраняя в основном генотип клетки-реципиента и приобретая лишь отдельные свойства клетки-донора.

Ответственность за рекомбинации несут специальные гены клетки-реципиента, получившие название *гес-генов*. Механизм рекомбинаций включает ряд последовательных стадий: разрыв нитей ДНК клетки-реципиента; встраивание фрагментов ДНК, привнесенных из клетки-донора в геном клетки-реципиента; репликация рекомбинативной ДНК, дающей начало потомству клеток с измененным геномом. Доказательства вышеуказанного механизма рекомбинации были экспериментально получены при изучении процесса конъюгации кишечной палочки (*Escherichia coli*) с использованием меченных по фосфору ( $P^{32}$ ) клеток-доноров.

*Трансформация* (от лат. transformatio – преобразование) – изменение генома, а следовательно, и свойств бактерий в результате переноса информации при проникновении фрагмента свободной ДНК из среды в клетку. При трансформации не требуется непосредственного контакта между клеткой-донором и клеткой-реципиентом. Источником трансформирующей ДНК может служить свежееубитая культура бактерий или чистые препараты ДНК, экстрагированной из нее.

Явление трансформации у бактерий впервые наблюдал Ф. Гриффитс в 1928 г. Он обнаружил, что при совместном ведении в организм мышей убитого вирулентного капсульного пневмококка S-типа с живым авирулентным бескапсульным пневмококком R-типа все животные погибают. При этом из крови погибших мышей наряду с бескапсульными пневмококками R-типа выделяются вирулентные капсульные пневмококки S-типа. Гриффитс не сумел объяснить явление трансформации. Лишь в 1944 г. О. Эвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Карти выделили трансформирующее вещество из убитых клеток капсульных пневмококков и показали, что им является ДНК, чувствительная к ДНК-полимеразе.

Процесс трансформации проходит в несколько этапов: 1) адсорбция трансформирующей ДНК на поверхности компетентной клетки-реципиента;

2) ферментативное расщепление трансформирующей ДНК с образованием фрагментов со средней молекулярной массой  $(4-5) \cdot 10^6$ ; 3) проникновение фрагментов ДНК в клетку-реципиент, сопровождающееся деградацией одной из цепей ДНК и образованием одноцепочечных фрагментов; 4) интеграция – включение фрагментов трансформирующей ДНК в ДНК клетки-реципиента путем генетического обмена; 5) экспрессия – интенсивное размножение трансформированных клеток, потомство которых будет иметь измененный ген в молекуле ДНК.

Трансформирующий фрагмент ДНК обычно соответствует 0,3% бактериальной хромосомы, или примерно 15 генам. В клетку-реципиент проникает очень малый фрагмент ДНК, что обуславливает трансформацию только одного признака и редко двух. Путем трансформации из одной клетки в другую могут быть перенесены такие признаки бактерий, как устойчивость к лекарственным препаратам, способность к синтезу капсульных полисахаридов, ферментов, определенных метаболитов и т.д. При трансформации, как правило, не происходит добавления качественно нового наследственного признака, наблюдается лишь замена одного признака другим.

Процесс трансформации показан для многих видов бактерий – пневмококков, стафилококков, гонококков, менингококков, кишечной палочки, некоторых бацилл и клубеньковых бактерий. Изучение возможности трансформации бактерий свидетельствует о распространенности в царстве прокариот этого механизма передачи генетического материала, а следовательно, о существенной роли его в эволюционном процессе. Установлено, что проникновение фрагмента ДНК в клетку-реципиент вызывает трансформацию бактерий с достаточно высокой частотой  $10^{-2} - 10^{-3}$  и зависит от вида микроорганизма, от свойств трансформирующей ДНК и состояния клеток-реципиентов.

*Трансдукция* заключается в переносе генетического материала из клетки-донора в клетку-реципиент умеренным бактериофагом. Явление трансдукции в 1952 г. открыли Н. Циндер и Дж. Ледерберг на примере двух штаммов сальмонелл.

По механизму взаимодействия с бактериальной клеткой фаги подразделяются на вирулентные и умеренные. Вирулентные фаги, проникая в клетку, обуславливают формирование новых фагов и лизис бактерий. Заражение клеток умеренными фагами не всегда сопровождается лизисом бактерий, часть их выживает и становится лизогенными. В лизогенных бактериях ДНК-фага включается в ДНК-клетки и умеренный фаг превращается в профаг, утрачивая при этом способность лизировать бактериальную клетку. Профаг ведет себя как часть бактериальной хромосомы и репродуцируется в ее составе в течение ряда поколений. Освобождение умеренных фагов из клеток лизогенных бактерий происходит спонтанно либо под действием лизогенных бактерий происходит спонтанно либо под дей-

ствием индуцированных агентов – ультрафиолетовых лучей, ионизирующей радиации и химических мутагенов.

В процессе репродукции некоторых умеренных фагов небольшой фрагмент бактериальной хромосомы, включается в геном фага. Трансдуцирующий фаг переносит фрагмент ДНК предыдущего хозяина в новую чувствительную к нему бактериальную клетку. Таким образом, бактериальная клетка-реципиент становится частичной зиготой.

У бактерий различают 3 типа трансдукции: специализированную, общую и abortивную.

При *специализированной* трансдукции в геном фага включаются строго определенные гены ДНК бактерии-донора, расположенные на хромосоме бактерии непосредственно рядом с профагом. Прилегающие к профагу гены выщепляются из бактериальной хромосомы, а часть генов профага остается в ее составе. Освобождающиеся из клетки-донора трансдуцирующие дефектные фаги вызывают лизогенезацию клетки-реципиента. ДНК дефектного фага включается в состав хромосомы клетки-реципиента, привнося в нее и гены бактерии-донора.

*Общая* трансдукция отличается от специализированной тем, что в состав ДНК фага включается любой фрагмент ДНК бактерии-донора.

Таким образом, при общей трансдукции трансдуцирующие фаги переносят из хромосомы бактерии-донора любые гены, контролирующие различные признаки, в клетку бактерии-реципиента.

При *abortивной* трансдукции фрагмент хромосомы клетки-донора, привнесенный трансдуцирующим фагом в клетку-реципиент, не включается в ее хромосому, а локализуется в цитоплазме и при делении клетки-реципиента передается только одной из образующихся клеток.

Трансдукция в эксперименте показана на кишечных бактериях, псевдомонадах, стафилококках, бациллах и актиномицетах. Очевидно, в естественных условиях перенос генетического материала с помощью фагов может быть самым распространенным механизмом рекомбинации у прокариот. Трансдукция определяет появление разновидностей бактерий с новыми свойствами, устойчивость к лекарственным препаратам, синтез ферментов, аминокислот и др.

В экспериментах по генной инженерии трансдукция открывает не только широкие возможности межвидовой гибридизации бактерий, но и возможность получения гибридов среди разных групп прокариот.

*Конъюгация* происходит при непосредственном контакте бактериальных клеток и предусматривает направленный перенос генетического материала из клетки-донора в клетку-реципиент. Феномен конъюгации в 1946 г. описали Дж. Ледерберг и Э. Тейтум на примере кишечной палочки (*Escherichia coli*) штамма K<sub>12</sub>.

Способность бактерий к конъюгации связана с наличием у них полового F-фактора, относящегося к числу конъюгативных плазмид. Клетки,



несущие F-фактор, обозначаются  $F^+$ ; клетки, лишенные F-фактора, -  $F^-$ . F-фактор (F-плазида) в клетках  $F^+$  обычно находится в изолированном состоянии от бактериальной хромосомы и является цитоплазматической структурой. Бактериальные клетки, содержащие F-фактор, отличаются от остальных клеток рядом свойств: измененным поверхностным зарядом и способностью синтезировать дополнительные поверхностные структуры F-пили.

Процесс конъюгации начинается с прикрепления конца F-пили клетки-донора к клетке-реципиенту. В течение нескольких минут клетка-донор и клетка-реципиент сближаются, возможно, за счет сокращения F-пили и вступают в непосредственный контакт. Через цитоплазматический мостик по каналу F-пили, менее чем за 5 мин, происходит передача полового F-фактора, независимо от бактериальной хромосомы, из цитоплазмы клетки-донора  $F^+$  в цитоплазму клетки-реципиента  $F^-$ . При этом клетка-донор не теряет своей донорной способности, так как в ней остаются копии F-фактора.

Среди популяции клеток  $F^+$  имеются бактерии, способные при конъюгации передавать не F-фактор, а фрагмент бактериальной хромосомы. Эти клетки бактерий и образованные ими штаммы обозначаются Hfr (от англ. high frequency of recombination), что означает бактерии с высокой частотой рекомбинации. Рекомбинации между клетками Hfr и клетками  $F^-$  происходят в тысячу раз чаще, чем между клетками  $F^+$  и  $F^-$ . Отличие клеток Hfr от клеток  $F^+$  заключается в том, что половой F-фактор у них включен в бактериальную хромосому. Во время конъюгации в клетке-доноре Hfr идет процесс репликации ДНК. При этом одна из реплицирующихся цепей ДНК через конъюгационный мостик проникает в клетку-реципиент  $F^-$ , вторая остается в клетке-доноре Hfr, затем каждая из этих цепей достраивается комплементарной нитью. Конъюгационный мостик непрочен, он легко разрывается, поэтому из клетки-донора Hfr в клетку-реципиент  $F^-$  передается не вся хромосома, а лишь ее фрагмент.

Между перенесенным из клетки Hfr фрагментом хромосомы и гомологичным участком хромосомы клетки  $F^-$  происходит генетический обмен. В результате часть донорной ДНК встраивается в ДНК реципиента, а соответствующая часть реципиентной ДНК исключается из нее. Эффективность включения донорной ДНК в хромосому реципиента высока и составляет примерно 0,5.

Конъюгацию прокариот не следует отождествлять с половым процессом эукариот, так как при конъюгации в клетку  $F^-$  передается только часть генетического материала клетки  $F^+$ , в результате чего образуется неполноценная мерозигота. Основу последней составляет геном клетки-реципиента с привнесенной частью генома клетки-донора.

Итак, наряду со стабильностью и точностью наследственных свойств генетический аппарат прокариот характеризуется изменчивостью, которая проявляется в форме мутаций и рекомбинаций.

Спонтанные мутации прокариот, очевидно, следует считать начальным видом изменчивости, возникшим параллельно началу функционирования их ДНК как генетической структуры. Возможно, что на протяжении миллионов лет мутации были единственным механизмом изменчивости прокариот.

Скачком в эволюции прокариот явилось появление рекомбинативной изменчивости, заключающейся в частичном объединении генетической информации двух прокариотных клеток донора и реципиента. Таким образом возник новый дополнительный материал для естественного отбора, ускоряющий процесс эволюции. Из трех вышерассмотренных рекомбинативных процессов наиболее совершенным является конъюгация, так как она обеспечивает более полный обмен генетической информацией между двумя клетками. Известны случаи, когда при длительной конъюгации (90 мин) двух клеток *Escherichia coli* наблюдается вхождение всей хромосомы клетки-донора в клетку-реципиент.

Однако, оценивая значимость рекомбинаций в эволюционном процессе прокариот, следует иметь в виду, что эффективность генетических рекомбинаций оказывается высокой только для близкородственных бактерий, имеющих родство в пределах вида.

### **Значение мутаций. Перспективы генной инженерии**

Мутационная изменчивость прокариот по отношению к здоровью человека и его хозяйственной деятельности проявляется по-разному. С одной стороны, мутации патогенных бактерий и вирусов несут серьезную угрозу здоровью человека. За последние 30–40 лет наблюдается неуклонный рост резистентных форм патогенных бактерий к различного рода химическим лекарственным препаратам и антибиотикам. В основе их появления лежит естественный отбор спонтанно возникающих мутантов. Развитию резистентности мутантов способствует бесконтрольный прием лекарств. Недостаточные дозы лекарственных препаратов не убивают патогенные микробы, а, наоборот, способствуют отбору резистентных мутантов в популяции. Широкий арсенал применяемых химиотерапевтических препаратов и антибиотиков, сам по себе, является сильным селективным фактором, способствующим появлению множественной лекарственной устойчивости патогенных бактерий. Множественную лекарственную устойчивость проявляют гноеродные стрептококки и стафилококки, гонококки, пневмококки, бактерии туберкулеза, возбудители кишечных инфекций и др.

Однако мутации патогенных бактерий имеют не только теневую сторону для здоровья человека. Индуцированный мутагенез патогенных бактерий и вирусов позволил человеку создать высокоэффективные вакцинные штаммы микроорганизмов со стабильно сниженной вирулентностью.

Индуцированный мутагенез применяется также для создания высокопродуктивных промышленных штаммов микроорганизмов – продуцентов антибиотиков, ферментов, витаминов и других биологически активных

веществ. Так, использование химических мутагенов и ионизирующего излучения с последующим ступенчатым отбором позволили получить мутантные штаммы микроорганизмов – продуцентов антибиотиков, которые в 10–20 – 100 раз превосходят по продуктивности природные формы.

Индукцированный мутагенез был положен и в основу выведения высокопродуктивных мутантов бактерий, синтезирующих аминокислоты. Некоторые дикие штаммы коринебактерий, называемые глутаминовыми, способны синтезировать до 30 г/л глутаминовой кислоты и выделять ее в среду. Промышленные штаммы *Corynebacterium glutamicum*, полученные путем индуцированного мутагенеза, производят до 100 г/л этой аминокислоты. На сегодняшний день ежегодно в мире микробиологическим синтезом получают 270 тыс. тонн глутаминовой кислоты. Второе место по объему продукции занимает лизин, производство которого достигло 180 тыс. тонн.

Общеизвестно, что гибридизация среди представителей царства эукариот осуществляется только между близкородственными организмами. У прокариот, посредством передачи плазмид, гибридизация не ограничивается рамками даже крупных систематических категорий. И в этом смысле прокариоты открывают беспредельные возможности нового научного направления – генной инженерии, заключающегося в конструировании гибридов из материала совершенно разного происхождения.

Методы генной инженерии предусматривают решение трех проблем:

- выделение молекул ДНК из клеток различных организмов;
- сшивка фрагментов ДНК различного происхождения в единую молекулу;
- введение вновь полученной молекулы ДНК в клетку-реципиент и далее в ее хромосому.

Первые опыты по генной инженерии, начатые в 1972–1973 гг., позволили с помощью фага включить в геном кишечной палочки (*Escherichia coli*) ген *LIG*, контролирующий синтез лигазы. При этом содержание лигазы в клетках-реципиентах возросло в 500 раз и фермент составил 5% массы всего бактериального белка.

Методом генной инженерии получен высокопродуктивный штамм *Escherichia coli* по синтезу треонина, потребляющий в качестве источника углерода дешевую сахарозу вместо глюкозы или фруктозы.

Весьма актуальны генно-инженерные работы по созданию новых бактерий – фиксаторов азота. Эта проблема решается в двух направлениях: за счет расширения видовой специфичности клубеньковых бактерий, способных входить в симбиоз, помимо бобовых культур, с растениями других семейств, а также за счет придания способности фиксировать азот некоторым симбионтам растений – бактериям-эпифитам и ослабленным фитопатогенам.

В последние годы развернуты работы в области клеточной инженерии. Суть их заключается в слиянии протопластов различных клеток, актиномицетов, бацилл, коринебактерий, мицелиальных грибов и дрожжей.

Путем обработки клеток полиэтиленгликолем можно осуществить рекомбинацию далеких неродственных организмов. Так, при слиянии протопластов клеток азотобактера и микоризного гриба рода *Rhizogon* получен гибридный эукариотный организм, активно фиксирующий азот. В недалеком будущем методами генной инженерии будут получены микроорганизмы-суперпродуценты, производящие ценные для человека продукты.

### **Рост и размножение прокариот**

- 1. Рост бактерий. Онтогенез прокариот, циклы жизни прокариот.**
- 2. Размножение бактерий. Скорость размножения.**
- 3. Рост бактериальной популяции в статической культуре. Фазы роста.**
- 4. Непрерывные культуры микроорганизмов. Промышленное получение микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.**

#### **Рост бактерий. Онтогенез прокариот, циклы жизни прокариот**

У прокариот онтогенез равнозначен одноклеточному циклу, т.е. периоду от одного деления клетки до другого. Клеточный цикл у бактерий включает совокупность процессов, связанных с ростом и делением.

Под ростом бактериальной клетки понимают скоординированное увеличение всех химических компонентов, которые формируют клеточные структуры. Рост клеток сопровождается увеличением массы и размеров.

У большинства бактерий полярности клеток не наблюдается, рост их идет равномерно вдоль длинной оси. В норме после достижения клеткой определенных размеров наступает ее деление, в редких случаях рост не сопровождается делением клетки или наоборот, деление клетки происходит без ее роста.

#### **Размножение бактерий**

Большинство бактерий размножаются путем равновеликого бинарного поперечного деления клетки. При таком симметричном делении образуются две одинаковые дочерние клетки.

Делению клетки предшествует процесс репликации ДНК. После репликации ДНК и расхождения дочерних хромосом клетка начинает делиться. У большинства грамположительных бактерий деление клетки происходит путем образования перегородки без изменения диаметра клетки. Сначала в месте будущей перегородки формируются встречные впячивания цитоплазматической мембраны, идущие от периферии к центру. Далее на их основе строится поперечная перегородка из цитоплазматической мембраны и муреинового слоя. Остальные компоненты клеточной стенки синтезируются позднее.

У грамотрицательных бактерий клетки делятся обычно перетяжкой. В месте перетяжки диаметр клетки резко сужается. Клеточная стенка и ци-

топлазматическая мембрана, постепенно искривляясь внутрь, перетягивают клетку пополам. Расхождение вновь образовавшихся дочерних клеток происходит в результате действия литического фермента на срединный слой клеточной перегородки.

Бинарное деление бактериальных клеток происходит в одной или нескольких плоскостях. При делении в одной плоскости, если дочерние клетки не расходятся, образуются цепочки кокков и палочек. При делении клеток в нескольких плоскостях образуются скопления клеток разной конфигурации (тетракокки, сарцины, стафилококки).

При равновеликом бинарном делении реализуется так называемый мономорфный клеточный цикл, при котором обычно образуется один морфологический тип клеток.

Разновидностью бинарного деления является почкование. Этот способ неравновеликого деления характерен для бактерий, относящихся к родам *Nyphomicrobium*, *Nyphomonas*, *Pedomicrobium*, *Rhodopseudomonas* и др.

Рост клетки почкующихся бактерий обычно наблюдается на одном полюсе, и клетка имеет ярко выраженную полярность. У некоторых почкующихся бактерий обнаружена асимметрия внутриклеточных структур. При почковании на одном из полюсов материнской клетки образуется вырост – гифа. На конце гифы формируется почка, в которую переходит один из поделившихся нуклеоидов. Почка разрастается, превращаясь в дочернюю клетку. Последняя приобретает жгутик, отделяется от материнской клетки и уплывает; либо продолжает сохранять с ней связь, формируя многоклеточные комплексы. Процессу отделения почки от материнской клетки предшествует образование перегородки между почкой и гифой.

У почкующихся бактерий наблюдается диморфный клеточный цикл. В результате неравновеликого деления клетки (почкования) образуются две неравноценные особи, различающиеся по форме, размерам, подвижности и другим признакам. Образовавшиеся клетки проявляют индивидуальность. Одна из них, неподвижная, несет черты старения и является материнской; другая, снабженная жгутиком, – дочерней. При почковании материнская клетка практически не получает вновь синтезируемого материала и постепенно стареет. Дочерняя клетка, наоборот, активно достраивает клеточные структуры. В редких случаях у бактерий встречается полиморфный клеточный цикл, когда при делении образуются два или более морфологически различных типа клеток. Например, у бактерий рода *Nyphomicrobium* при выращивании их на метаноле происходит образование гиф и овальных почек. В культурах некоторые штаммы *Nyphomicrobiilm* образуют многогранные и лопастные клетки.

### **Скорость размножения прокариот**

Скорость размножения прокариот огромна. Время генерации (период от одного деления клетки до другого) при благоприятных условиях для многих бактерий (*Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*) составляет 15–20–30 мин, в то время как для клеток млекопитающих

в культуре тканей – 1 сутки. За 24 ч у бактерий сменяется столько поколений, сколько у человека за 5000 лет.

При наличии идеальных условий, исключающих гибель клеток, одна бактерия за сутки может образовать массу 4720 т (если принять, что 1 млрд. бактерий имеет массу 1 мг). Столь высокие темпы размножения прокариот способствуют их быстрому расселению на планете. Скорость размножения прокариот зависит от вида микроорганизма, возраста культуры, питательного субстрата, условий аэрации, температуры, влажности и других факторов. При наступлении неблагоприятных условий микробная популяция может в массе погибнуть, но если сохранятся хотя бы 1–2 клетки, то при подходящих условиях они за короткое время вновь образуют огромное количество особей.

### **Рост бактериальной популяции в статической культуре**

Бактериальная популяция в статической культуре, то есть в условиях среды, к которой не добавляют питательные вещества и из которой не выводят продукты обмена, характеризуется рядом особенностей. Течение процессов в статической культуре изучались Умбрайтом и Лейб-Клейтоном в 1909 году. Цикл роста бактериальной популяции в статической культур можно разделить на четыре основные фазы: начальную фазу, экспоненциальную, или логарифмическую фазу, максимальную стационарную фазу и фазу отмирания и выживания.

Лаг-фаза включает период от посева бактерий на свежую питательную среду до достижения ими максимальной скорости роста. В начале лаг-фазы бактерии приспосабливаются к новым условиям. В клетках идет синтез ферментов, нуклеиновых кислот, активизируются обменные процессы. Клетки интенсивно растут и размеры их заметно увеличиваются. Однако деления бактерий на этой стадии почти не происходит. Длительность лаг-фазы зависит от полноценности состава питательной среды и от состояния культуры микроорганизма. Чем полноценнее питательная среда и чем моложе культура бактерий, тем короче лаг-фаза.

Экспоненциальная, или логарифмическая, фаза характеризуется активным делением массы клеток бактериальной популяции. Число клеток возрастает и геометрической прогрессии.

Для выражения общего числа клеток, образующихся в бактериальной популяции, пользуются не абсолютными числами, так как они достигают огромных величин, а логарифмами этих чисел. Логарифмируя, получаем:

$$\lg N = \lg N_0 + n \times 2$$

Число генераций  $n$  можно вычислить из уравнения:

$$n \times \lg 2 = \lg N - \lg N_0, \quad n = \frac{\lg N - \lg N_0}{\lg 2}.$$

Зная число генераций  $n$  и продолжительность опыта (время  $t$ ), легко вычислить скорость роста бактериальной популяции  $v$

$$V = \frac{n}{t}; \quad v = \frac{\lg N - \lg N_0}{t \times \lg 2}.$$

Время, необходимое для одного цикла деления, или время генерации, равно

$$g = \frac{1}{n} = \frac{1}{V}.$$

Пример. Если за 10 ч число клеток в суспензии возрастает с  $10^3$  до  $10^9$ , то это означает, что скорость роста равна:

$$V = \frac{\lg 10^9 - \lg 10^3}{10 \times 0.3010} = \frac{9 - 3}{3.01} \approx \frac{6}{3} = 2,$$

а время генерации равно:  $g = \frac{1}{2} = 30$  мин.

Во времени экспоненциальная фаза непродолжительна, и у разных бактерий она длится разное время: для *Escherichia coli* – 20–30 мин, для азотобактера – 70–80 мин, для клубеньковых бактерий – до 90 мин, для нитрифицирующих бактерий – 5–10 ч. Если бы экспоненциальная фаза длилась 48 ч при времени генерации 20 мин, то одна бактериальная клетка дала бы потомство массой  $2,2 \cdot 10^{31}$  г, что примерно в 4000 раз превысило бы массу Земли. Однако этого не происходит, так как в статической культуре сбалансированный рост бактерий, когда все компоненты клетки синтезируются в одинаковой степени, наблюдается лишь в самом начале экспоненциальной фазы. В процессе интенсивного роста бактериальной популяции быстро истощается питательная среда, накапливаются токсичные продукты обмена, снижается интенсивность синтеза нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов и других компонентов клетки. Размеры клеток достигают минимального предела. Все это приводит к замедлению роста бактериальной популяции и переходу ее в следующую фазу.

Максимальная стационарная фаза соответствует периоду, когда число жизнеспособных клеток в бактериальной популяции, достигнув максимального уровня, перестает увеличиваться. Многие бактериальные клетки еще продолжают делиться, но количество вновь образующихся клеток равно количеству погибающих. При этом общая численность бактериальной популяции не изменяется. Время наступления этой фазы в культурах разных микроорганизмов разное. Так, у *Escherichia coli* она наступает через 24 ч, а у азотобактера – через 72 ч с момента посева культуры бактерий на свежую питательную среду. К концу стационарной фазы условия роста бактериальной популяции ухудшаются и она переходит в завершающую фазу.

Фаза отмирания и выживания характеризуется массовой гибелью бактерий, скорость их образования. Среди бактериальной популяции возникают инволюционные формы, не дающие потомства. Питательная среда предельно истощается, и в ней накапливается большое количество токсичных веществ и продуктов метаболизма. Большинство клеток бактериальной

популяции погибают. В данных неблагоприятных условиях выживают лишь единичные особи, которые переходят в состояние покоя. Бактериальная популяция пребывает в состоянии покоя столько времени, пока культура бактерий не окажется в условиях, благоприятных для ее развития.

### **Непрерывные культуры микроорганизмов**

В 50-е годы XX столетия разработан метод непрерывной, проточной, культуры микроорганизмов. Суть его заключается в следующем. В ферментер или биореактор, где выращивается культура микроорганизмов, постоянно подается свежая питательная среда и одновременно выводятся продукты обмена и накапливающаяся биомасса микробов. Так в ферментере создаются оптимальные условия для поддержания бактериальной культуры в фазе экспоненциального роста на неопределенно долгий период времени.

Для выращивания непрерывной культуры бактерий используются хемостаты и турбидостаты. В хемостатах рост бактериальной популяции контролируется концентрацией питательного раствора по источнику углерода или азота. Чем выше концентрация лимитирующего вещества, тем больше скорость роста бактериальной популяции. Принцип работы турбидостата основан на регулировании скорости подачи питательной среды плотностью образующейся бактериальной популяции. Плотность последней контролируется фотоэлементом, соединенным с реле, которое регулирует подачу среды.

Метод непрерывной культуры микроорганизмов широко внедряется в различные производства микробиологической промышленности, связанные с получением максимальной биомассы микробов.

Показателем продуктивности культуры служит экономический коэффициент. Он выражается отношением полученной биомассы бактерий, урожая, к количеству потребленного субстрата.

Метод непрерывной культуры применяется в лабораторной практике для изучения физиологии прокариот в строго контролируемых условиях. Синхронные культуры прокариот характеризуются тем, что клетки.

### **Питание прокариот**

- 1. Химический состав прокариотной клетки.**
- 2. Пищевые потребности прокариот.**
- 3. Факторы роста. Ауксотрофы, прототрофы.**
- 4. Типы питания и группы микроорганизмов по типу питания.**
- 5. Бактериальный фотосинтез и его типы. Отличие бактериального фотосинтеза от фотосинтеза растений.**

Химический состав клеток прокариот близок к таковому (в принципе) эукариот. 70–80 % состава клеток прокариот составляет вода. На остальные вещества приходится 10–30 % сухого вещества клетки. Сухое ве-



щество клетки составляют белки, липиды, полисахариды, НК, низкомолекулярные вещества органического происхождения, минеральные соли. На долю белков приходится 50–80% сухой массы, встречаются специфические аминокислоты – мезо-ДАП, дипиколиновая кислота и др.

В прокариотной клетке – 60 типов т-РНК, около 600 видов и-РНК, ДНК представлена одним видом, но может быть несколько копий. В клетке может быть около 1 млн молекул метаболитов, 2000–2500 видов белков.

Элементарный состав представлен 50% – углерод, 20% – кислород, 10–15% – азот, 10 – водород, 2–6% – фосфор, доли процента составляет наличие других элементов.

Пищевые потребности прокариот.

Прокариоты нуждаются в питательных веществах. Пища, поступающая в клетку, служит источником энергии для поддержания жизни и строительным материалом для синтеза клеточных структур. Чем больше готовых соединений для поддержания жизни должен получить микроорганизм из внешней среды, тем соответственно ниже уровень его собственных биосинтетических способностей. Для биосинтеза основных макромолекул клетка в качестве источников питания должна получать углерод, кислород, водород, азот, фосфор, серу и другие элементы в виде более или менее сложных соединений.

**Пищевые потребности источники биогенных элементов.** Углерод – наиболее важный элемент клетки. По отношению к 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. Для большинства гетеротрофов оптимальным и наиболее доступным источником углерода служат углеводы. В форме углеводов одновременно с углеродом в клетку поступают кислород и водород.

Помимо углеводов, хорошим источником углерода для многих бактерий являются многоатомные спирты и аминокислоты. Некоторые виды прокариот способны усваивать углерод из органических кислот.

Ограниченное число бактерий потребляет восстановленные соединения углерода. Так, использование углеводов характерно для кориневых бактерий, микобактерий и псевдомонад. Общее число органических соединений, потребляемых в качестве источника углерода различными гетеротрофными микроорганизмами, чрезвычайно велико. Этим и объясняется главенствующая роль прокариот в круговороте углерода.

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 и аммиака ( $\text{NH}_3$ ). Многие бактерии используют органические азотсодержащие вещества – белки, аминокислоты, мочевину,

разрушая их с выделением аммиака. Окисленные формы азота – нитриты, нитраты – также усваиваются различными группами бактерий. Среди прокариот известно большое число организмов – бактерий, актиномицетов, цианобактерий, 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 микроэлементам относятся марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель, магний и др.

Ионы металлов входят в состав жизненно важных метаболитов бактериальной клетки. Так, кобальт является активатором ферментов транспорта электронов в окислительно-восстановительных реакциях цикла Кребса. Железо и молибден необходимы бактериям для синтеза ферментов, участвующих в процессе азотфиксации.

Существует антагонистическое действие некоторых ионов. Например, ионы натрия угнетают рост молочнокислых микробов. Галофильные бактерии, наоборот, нуждаются в ионах натрия.

**Факторы роста.** 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. *Прототрофные организмы* способны синтезировать данное вещество в клетке.

Прокариоты существенно различаются по потребностям в факторах роста. Например, молочнокислые бактерии ауксотрофны ко многим ами-

нокислотам, пуринам, пиримидинам и 5–6 витаминам, в то время как различные штаммы *Escherichia coli* проявляют ауксотрофность к какому-либо одному, но разному фактору роста.

Особенно часто микроорганизмы ауксотрофны к аминокислотам. Так, для роста бактерии *Leuconostoc mesenteroides* необходимо не менее 17 аминокислот. Глутаминовая кислота является фактором роста для гемолитических стрептококков, гонококков и бацилл сибирской язвы.

Многие микроорганизмы проявляют ауксотрофность к витаминам, в частности к витаминам группы В. Витамины этой группы входят в состав жизненно важных ферментов. Ростовым фактором для многих патогенных бактерий – пневмококков, гонококков, возбудителей дизентерии является парааминобензойная кислота. Она необходима микробной клетке для синтеза пуриновых оснований и ряда аминокислот (серии, гистидин, тирозин, метионин).

Как правило, факторы роста необходимы бактериям в ничтожно малых концентрациях.

#### **Типы питания прокариот. Группы микроорганизмов по типу питания**

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).

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 вещества, *органотрофы*, использующие в качестве доноров электрона органические соединения.

По трем вышеуказанным критериям выделяют 4 основных типа питания прокариот: *фотолитоавтотрофы*, *фотоорганавтотрофы*, *хемолитоавтотрофы* и *хемоорганогетеротрофы* (таблица 1).

Различают следующие типы гетеротрофии: паразитизм облигатный, внутриклеточный, паразитизм факультативный, сапрофитизм.

Организмы, которые могут жить только внутри других организмов, имеют редуцированный метаболизм, зависят от метаболизма хозяина, являются облигатными внутриклеточными паразитами.

Факультативные паразиты-организмы, способные расти вне клетки хозяина при подходящих условиях, на питательных средах.

Сапрофиты – гетеротрофные организмы, нуждаются в готовых органических веществах, непосредственно от организмов не зависят.

Сапрофиты нуждаются в разных концентрациях органических веществ. Олиготрофы – способны расти при низких концентрациях органического вещества (1–15 мг углерода в литре раствора). Копиотрофы – предпочитают высокие концентрации питательных веществ (10 грамм углерода в литре раствора).

### **Бактериальный фотосинтез. Отличия бактериального фотосинтеза от фотосинтеза растений**

У прокариот обнаружены следующие типы фотосинтеза:

- зависимый от бактериохлорофиллов бескислородный фотосинтез;
- зависимый от хлорофиллов кислородный фотосинтез;
- зависимый от бактериородопсина бескислородный фотосинтез галофильных бактерий.

Таблица 1

### **Основные типы питания прокариот**

| Тип питания                   | Источник углерода                     | Источник энергии                         | Донор электронов                                                                                                                 | Представители прокариот                                                                                                        |
|-------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Фотолитоавтотрофы<br>ФЛАТ     | CO <sub>2</sub>                       | Свет                                     | H <sub>2</sub> O Неорганические соединения (H <sub>2</sub> S, S, Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3i</sub> H <sub>2</sub> ) | Цианобактерии, зеленые, серные пурпурные бактерии, прохлорофиты, гелиобактерии.                                                |
| Фотоорганавтотрофы<br>ФОАТ    | CO <sub>2</sub> и органич. соединения | Свет                                     | Органические соединения (спирты, органические кислоты другие)                                                                    | Некоторые пурпурные бактерии                                                                                                   |
| Хемолитоавтотрофы<br>ХЛАТ     | CO <sub>2</sub>                       | Реакции окисления неорганических веществ | Неорганические соединения (H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NH <sub>3</sub> , Fe <sup>2+</sup> + и др.)                        | Нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии                                                    |
| Хемоорганогетеротрофы<br>ХОГТ | Органические соединения               | Реакции окисления органических веществ   | Органические соединения                                                                                                          | Большинство бактерий<br>Аммонификаторы, азотфиксаторы, пектинокоразрушающие, Молочнокислые, уксуснокислые, маслянокислые и др. |

### **Отличия бактериального фотосинтеза от фотосинтеза растений**

- наличие специфических пигментов фотосинтеза (бактериохлорофиллов, каротиноидов, бактериородопсина);
- расширение спектра поглощения световой энергии от 700 нм до 1100 нм;

- экологические условия жизни более разнообразны, от оптимальных до экстремальных;
- необходимо меньшее количество энергии активации (1 квант вместо 4-х);
- возможно использование в качестве доноров электронов не только воды, но и других неорганических веществ (тиосульфат, сероводород, др.);
- не всегда фотосинтез сопровождается выделением кислорода.

Структурная организация фотосинтетического аппарата прокариот представлена тремя компонентами:

1. Светособирающие пигменты поглощают свет и передают в реакционные центры.
2. Фотохимические реакционные центры трансформируют энергию.
3. Фотосинтетические электронтранспортные системы обеспечивают перенос электронов, сопряженный с запасанием энергии в АТФ.

Современные фотоавтотрофы используют свет видимой и ближней инфракрасной части спектра. Они содержат магний-порфириновые пигменты, набор которых характерен и постоянен для определенных групп.

Пигменты относятся к двум классам соединений: 1) пигменты с тетрапиррольной структурой (хлорофиллы, фикобилипротеиды); 2) пигменты, основу которых составляют полиизопреноидные цепи (каротиноиды). Способность улавливать свет зависит от системы двойных сопряженных связей, то есть систем с чередующимися двойными и простыми связями.

Известно около 10 видов хлорофиллов. Хлорофилл а обеспечивает поглощение света до 700–740 нм, встречается у цианобактерий, у всех водорослей и у высших растений. Бактериохлорофилл а имеет максимумы поглощения в диапазоне длин волн от 375 до 890 нм. Этот пигмент содержат большинство бактерий – фотосинтетиков. Бактериохлорофилл в найден у пурпурных бактерий, поглощает свет в длине волны до 1100 нм, максимум поглощения приходится на 1020–1040 нм. Бактериохлорофиллы с и d позволяют зеленым серобактериям использовать свет с длиной волны до 840 нм. Гелиобактерии также содержат бактериохлорофилл d.

Фикобилипротеиды – красные и синие пигменты цианобактерий. Хромофорная структура пигментов – фикобилин, состоит из четырех пиррольных колец, развернутых и не содержащих металла. Обнаружены три типа: С-фикоцианин, С-фикозеритрин, С-аллофикоцианин. Фикобилипротеиды обеспечивают поглощение света в области 450–700 нм, а также высокоэффективную передачу (до 90%) поглощенного света на хлорофилл.

Каротиноиды-вспомогательные пигменты, продукты конденсации изопрена. У алифатических каротиноидов цепь развернута, у моно- и бициклических каротиноидов на концах цепи расположены ароматические кольца. Кислородсодержащие каротиноиды относят к группе ксантофиллов. Каротиноиды поглощают свет в синем и зеленом участке спектра, в длине волны 400–550 нм. Функции каротиноидов весьма многообразны:

1. Поглощение коротких волн света;
2. Передача энергии света на хлорофилл с эффективностью 30–90 %;
3. Реакции фототаксиса;
4. Защита хлорофилла в клетке от фотоокисления.

Выделено свыше 20 каротиноидов пурпурных бактерий, наиболее распространены каротины, ксантофиллы, определяющие окраску от желтой до пурпурно-фиолетовой, коричневой и всех оттенков красного.

Метаболизм фотоавтотрофов смог объяснить голландский микробиолог К. ван Ниль, 1931.

### **Классификация прокариот**

1. Систематика прокариот. Группы прокариотных организмов.
2. Проблемы систематики прокариот.
3. Перспективы и успехи геносистематики прокариот.
4. Пути клеточной эволюции и теория симбиогенеза.
5. Классификация прокариот по Определителю Берги (Берджи).
6. Характеристика групп прокариот.

#### **Систематика прокариот. Группы прокариотных организмов**

Систематика (таксономия) – наука о многообразии и взаимосвязях между организмами. Одна из задач систематики – распределение (классификация) множества организмов по группам (таксонам). Для осуществления распределения необходимо достаточно полно охарактеризовать объекты, идентифицировать и поместить их в новый таксон.

Для характеристики организмов используют разнообразные признаки: морфологические, цитологические, культуральные, физиологические, биохимические, иммунологические и др.

Специальный раздел таксономии – номенклатура – имеет дело с правилами присвоения наименований описанным объектам. В систематике бактерий для наименования объекта используют биномиальную номенклатуру К. Линнея (1707–1778), согласно которой биологическому виду присваивают название, состоящее из двух слов: первое определяет принадлежность организма к определенному роду, второе – виду. Названия бактериям присваивают в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры бактерий.

Часто родовое название основано на морфологическом признаке бактерии: стрептококки – это кокки, располагающиеся цепочкой, бациллы-палочки, образующие эндоспоры, стафилококки – кокки в скоплениях типа виноградной грозди. Иногда название рода дано по имени автора-первооткрывателя бактерий: *Salmonella* – от Сальмон, *Shigella* – от имени Шига, *Rickettsia* – Риккетс. Видовое название часто связано с наименова-

нием вызванного микробом заболевания (например, *Shigella dysenteriae* – шигелла дизентерийная, *Vibrio cholerae*–холерный вибрион).

Основной таксономической категорией является вид. Вид – это группа близких между собой организмов, имеющих общее происхождение и на данном этапе эволюции характеризующихся определенными морфологическими, биохимическими и физиологическими признаками, обособленных отбором от других видов и приспособленных к определенной среде обитания.

Способность скрещиваться и давать жизнеспособное потомство у прокариот отсутствует, поэтому данный признак для определения видовой принадлежности к ним не применим. Отнесение прокариотных организмов к одному или разным видам осуществляется в большей степени эмпирическим путем на основе анализа многих признаков, при этом генетическая информация, содержащаяся во внехромосомных генетических элементах, для определения видовой принадлежности не используется.

Виды объединяют в таксоны более высокого порядка – роды, роды – в семейства, далее следуют порядки, классы, отделы, царства. Для высших таксономических категорий пока нет удовлетворительного определения.

В микробиологии употребляются такие термины, как *штамм* и *клон*. Под штаммом понимают бактериальные культуры одного вида, выделенные, например, из разных мест обитания. Различия между штаммами не выходят за пределы вида. Клон – еще более узкое понятие, это культура, выделенная из одной клетки. Под термином «культура» понимают микроорганизмы, выращенные на питательной среде в лабораторных условиях. «Чистая культура» – это культура из особей одного вида. «Смешанная культура» – это смесь неоднородных микроорганизмов.

Существуют 2 типа систематики биологических объектов: филогенетическая, или естественная, в основе которой лежит установление родственных (генетических, эволюционных) связей между организмами, и практическая, или искусственная, которая выявляет степени сходства между организмами для быстрой их идентификации и установления принадлежности к определенным таксонам.

### **Проблемы систематики прокариот**

Проблемы систематики бактерий стали настоящими в связи со стремительно увеличивавшимся объемом знаний.

В 1872 г. Ф. Кон (F. Cohn, 1828–1898) разделил бактерии на группы по морфологическим признакам: кокки, короткие палочки, удлиненные палочки, спирали.

В 1909 г. С. Орла-Йенсен сделал попытку классифицировать бактерии на основе известных к тому времени физиологических признаков.

Важным шагом в развитии систематики прокариот явилось использование признаков, дающих информацию о химическом строении клетки: состав оснований ДНК, ДНК–ДНК и ДНК–РНК-гомологии, аминокислот-

ная последовательность белков, строение рибосом, компонентов клеточной стенки и т.д.

Группа систематиков бактерий использовала иной подход для определения степени сходства между прокариотами – нумерическую систематику. В основе ее лежат идеи, сформулированные в середине XVIII в. французским ботаником М. Адансоном (M. Adanson, 1727–1806): все признаки объекта считаются равноценными; при описании исследуемого объекта используется максимальное количество признаков, которые могут быть изучены и определены; степень сходства устанавливается на основании количества совпадающих признаков и выражается в виде коэффициента сходства.

Классификация, построенная на принципах М. Адансона, – трудоемкий процесс, поэтому свое развитие и практическое применение она получила лишь в последнее время в связи с успехами в области вычислительной техники. Преимущества ее заключаются в формальном устранении элемента субъективности, поскольку все признаки объекта принимаются равноценными. Однако очевидны и ее слабые стороны. Как правило, для оценки сходства прокариот используют порядка 100 признаков, что составляет приблизительно 10% от количества признаков, определяющих бактериальный фенотип. Следовательно, учитывается только незначительная часть признаков классифицируемого объекта.

Нумерическая таксономия может быть полезна при оценке степени сходства между таксонами невысокого ранга (виды, роды), но прямого отношения к созданию филогенетической системы прокариот не имеет.

Наиболее полно задача быстрой идентификации прокариотных организмов решается с помощью Определителя бактерий Берги, выпускаемого периодически Обществом американских бактериологов с привлечением крупных специалистов в области изучения тех или иных групп бактерий. Первое издание определителя было выпущено в 1923 г. группой американских бактериологов под руководством Д.Х. Берги (1860–1937); девятое издание в 4 томах вышло в 1984–1989 годах, десятое издание в двух томах вышло в 1994 году.

В девятом издании Определителя бактерий Берги все обнаруженные организмы, отнесенные в царство Prokaryotae, разделены на 33 группы. Признаки, по которым осуществляется разделение на группы, как правило, относятся к категории легко определяемых и вынесены в названия групп, например: грамотрицательные аэробные палочки и кокки (группа 4), анаэробные грамотрицательные кокки (группа 8), грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры (группа 13), скользящие бактерии, образующие плодовые тела (группа 24). Основная идея классификации «по Берги» – легкость идентификации бактерий. Для идентификации используют совокупность признаков: морфологических (форма тела; наличие или отсутствие жгутиков; капсулы; способность к спорообразованию особен-



ности внутриклеточного строения; окрашивание по Граму), культуральных (признаки, выявляемые при культивировании в лаборатории чистой культуры), физиолого-биохимических (способы получения энергии; потребности в питательных веществах; отношение к факторам внешней среды; нуклеотидный состав и последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК; наличие и характер минорных оснований в ДНК; нуклеотидный состав рибосомальной РНК; последовательность аминокислот в ферментных белках с аналогичными функциями).

Для Определителя бактерий Берги характерен отказ от построения классической иерархической системы классификации. Ценность Определителя в том, что он представляет собой наиболее полную сводку известных бактериальных форм и самое современное пособие для идентификации бактерий.

В этом же руководстве предложена схема деления царства Prokaryotae на высшие таксоны (отделы, классы). В основу деления на отделы положено строение клеточной стенки. Название и краткая характеристика отделов и классов представлены в тексте. Представленная в Определителе бактерий Берги система классификации является строго идентификационной и не решает задачи выявления эволюционных связей между прокариотами. В то же время конечной целью является построение такой системы, в основе которой лежали бы родственные связи между прокариотными организмами. Первая попытка в этом направлении принадлежит С. Орла-Йенсену. С. Орла-Йенсен исходил при этом из предположения, что, поскольку на первобытной Земле отсутствовало органическое вещество, первые бактерии должны были быть автотрофами. В качестве самых примитивных бактерий он рассматривал аэробные бактерии, окисляющие метан. Позднее такие попытки предпринимались крупнейшими микробиологами А. Клейвером, К. ван Нилем, Р. Стейниером.

### **Перспективы и успехи геносистематики прокариот**

Успехи молекулярной биологии позволили установить, что все свойства организма определяются уникальными химическими молекулами — ДНК, поэтому бактерии могут быть классифицированы путем сравнения их геномов. По такому признаку, как генетический материал, оказалось возможным на основании выявления степени сходства делать вывод о степени родства между организмами. Первоначально для таксономических целей сравнивали молярное содержание суммы гуанина и цитозина (ГЦ) в процентах от общего количества оснований ДНК у разных объектов. Более тонкий метод оценки генетического сходства организмов — сравнение нуклеотидных последовательностей ДНК из разных источников методом ДНК–ДНК-гибридизации. Метод наиболее полезен для классификации на уровне вида. В то же время часто несовпадение выводов, сделанных на основании фенотипических признаков и ДНК-гибридизации. В целом значение данных о строении ДНК для систематики прокариот огромно, так как

позволяет перейти от установления степени сходства к выводам о степени родства между организмами.

Выбор рРНК, для решения проблем эволюционной систематики прокариот оказался удачным по ряду причин: эти молекулы обнаружены у всех клеточных форм жизни, что указывает на их древнейшее происхождение; их функции всегда одинаковы; первичная структура в целом характеризуется высокой консервативностью. Особенностью рРНК является нахождение вне сферы действия отбора, поэтому данные молекулы эволюционируют в результате спонтанных мутаций, происходящих с постоянной скоростью, и накопление таких мутаций зависит только от времени. Таким образом, мерой эволюционного расстояния между организмами служит количество нуклеотидных замен в молекулах сравниваемых рРНК.

Известно, что в рибосомах прокариот и эукариот присутствуют 3 типа рРНК, различающихся молекулярной массой и коэффициентом седиментации.

Информационная емкость крупных молекул больше, но их труднее анализировать. Поэтому наиболее удобным оказался анализ молекул рРНК средней величины: 16S (у прокариот) и 18S (у эукариот), состоящих из 1600 и 2500 нуклеотидов соответственно. К настоящему времени последовательности 16S и 18S рРНК изучены более чем у 400 организмов, принадлежащих к разным царствам живой природы. На основании полученных данных рассчитаны коэффициенты сходства сравниваемых организмов, что привело к неожиданным результатам: выявлены не две группы организмов, различающихся прокариотным и эукариотным типом клеточной организации, а три. Одну образуют все эукариоты: высшие растения, животные, дрожжи, водоросли и т.п. В эту группу не вошли органеллы эукариот (митохондрии, хлоропласты). Таким образом, первая группа представлена ядерно-цитоплазматическим компонентом эукариотных клеток. Ко второй группе, получившей название истинных бактерий, или эубактерий, относится подавляющее большинство прокариот. Сюда же попали на основании степени гомологии 16S рРНК митохондрии и хлоропласты эукариотных клеток. Наконец, в третью группу вошли некоторые малоизученные прокариоты, обитающие в экстремальных условиях: метанобразующие бактерии, экстремальные галофилы и термоацидофилы. Эта группа организмов получила название **архебактерий**.

Хотя клетки архебактерий структурно относятся к прокариотному типу, они построены из макромолекул (липидов, полисахаридов, белков), многие из которых являются уникальными и не синтезируются ни эукариотами, ни эубактериями. Архебактерии осуществляют ряд биохимических процессов, не свойственных остальным живым организмам. На основании этого был сделан вывод, что архебактерии, по-видимому, представляют собой одну из самых древних групп живых существ.

## **Пути клеточной эволюции и теория симбиогенеза**

Обнаружение прокариот группы археобактерий поставило заново вопрос о путях клеточной эволюции с момента возникновения некоей гипотетической первичной клетки. Традиционная общая схема клеточной эволюции основана на следующих предположениях: из популяции первичных клеток в результате целого ряда событий, приведших к повышению уровня клеточной организации, под давлением естественного отбора возникла популяция предковых прокариотных клеток, из которых в конечном итоге произошли разные группы прокариот. Единственная их общая черта – прокариотная организация.

Теория эндосимбиогенеза была выдвинута еще в конце XIX века, современный ее этап связан с работами американского биолога Линн Маргелис. Предполагается, что эукариотная клетка возникла в результате эндосимбиоза. Эндосимбионтами, превратившимися впоследствии в митохондрии и хлоропласты, были, существенно различающиеся между собой, прокариотные клетки. Следствием такого взгляда на общий ход эволюции явилось признание двух основных царств живых организмов – Prokaryotae и Eukaryotae. Прокариоты в этом случае представлены двумя подцарствами: эубактерии и археобактерии.

Новая схема клеточной эволюции исходит из признания существующих трех фундаментально различающихся типов живых организмов: эубактерий, археобактерии и эукариот. Согласно этой схеме от общего гипотетического предка, получившего название «прогенота», эволюционировали три различные ветви прокариот: эубактерии, археобактерии и уркариоты. Уркариоты представлены ядерно-цитоплазматическим компонентом эукариотной клетки, включившим в себя в качестве эндосимбионтов представителей разных групп эубактерий, превратившихся в митохондрии и хлоропласты (рис. 2).

Итак, в настоящее время отсутствует сколько-нибудь детализированная эволюционная система прокариот. Особенности прокариот в области морфологической, физиолого-биохимической, генетической организации говорят о неприменимости к ним хорошо разработанных принципов, используемых при построении системы высших организмов. Это значительно усложняет задачу, но не делает ее безнадежной. Уже сейчас в мире прокариот для наиболее изученной части этих организмов – эубактерий – можно проследить основные направления эволюционного развития. Одна из многообещающих идей заключается в том, что в основе прогрессивной эволюции эубактерий лежит совершенствование способов получения ими энергии.

### **Классификация прокариот по определителю Берги (Берджи)**

Для установления принадлежности микроба к данному виду используют разные определители. Наиболее признан Определитель Берги, который издается с 1923 года. Последние издания – 9 и 10, содержат наиболее полное представление о системе микроорганизмов и их разделении на группы.

Царство Procaryotae по Определителю 1984 г. разделено на 4 отдела.

Отдел 1. Gracilicutes. Грациликутные или тонкостеночные. Организмы разной морфологии с грамотрицательными клеточными оболочками. Размножение – бинарное деление, почкование или множественное деление. Спор не образуют. Многие подвижные: жгутики или скольжение. Аэробные и анаэробные, или факультативно анаэробные. Отдел включает 3 класса: нефотосинтезирующие кл. *Scotobacteria*, фотосинтезирующие кл. *Anoxyphobacteria*, кл. *Oxyphobacteria*.

Отдел включает 9 секций, сюда относят группы спирохет, спирилл и род *Bdellovibrio* – паразитирующий в клетках других бактерий, палочки и кокки, риккетсии и хламидии.

Отдел 2. Firmicutes. Организмы с грамположительной клеточной стенкой. Толстостеночные кокки, палочки или нитчатые формы.

Размножаются бинарным делением. Некоторые образуют эндоспоры, у других – споры на гифах или в спорангиях. Передвигаются с помощью жгутиков, большинство неподвижно. Аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы. По морфологии предложено деление на два класса: класс *Firmibacteria* (кокки, палочки, неветвящиеся нити); класс *Thallobacteria* (ветвящиеся формы).

Отдел 3. Tenericutes. Мягкостеночные. Относятся прокариоты, у которых отсутствует клеточная стенка и не синтезируются предшественники пептидогликана. Клетки окружены ЦПМ, плеiomорфны. Размножение – бинарным делением, почкованием, фрагментацией. Окрашивание по Граму – отрицательно.

Характерно образование мелких, вырастающих в огар колоний. Могут быть сапрофитами, паразитами или патогенными формами. Представлены одним классом: *Mollicutes*. В секцию входят микоплазмы. К молликутам относят эндосимбионтов простейших грибов.

Отдел 4. Mendosicutes (*mendosus* – ошибочный). Объединены прокариоты, претендующие на более раннее происхождение, чем формы включенные в I и II отделы. Клетки разной формы – кокки, палочки, нити. Многие – плеiomорфны. Большинство имеют клеточную стенку, но она не содержит типичного пептидогликана, может быть построена только из белковых макромолекул или гетерополисахаридов, по Граму окрашиваются и Г- и Г+; большинство – строгие анаэробы, многие имеют жгутики. Характеризуются экологическим и метаболическим разнообразием, способностью жить в экстремальных условиях.

Царство *Eubacteria* по Определителю Берги 1994 года включает 20 групп микроорганизмов.

Группа 1. Спирохеты.

Группа 2. Грамотрицательные аэробные или микроаэрофильные спиралевидные и извитые бактерии.

Группа 3. Грамотрицательные аэробные палочки и кокки.

Группа 4. Грамотрицательные факультативно анаэробные палочки.

- Группа 5. Диссимилирующие, сульфат и серу редуцирующие бактерии.
- Группа 6. Грамотрицательные анаэробные кокки.
- Группа 7. Риккетсии и хламидии.
- Группа 8. Фототрофные бактерии.
- Группа 9. Хемолитотрофные бактерии.
- Группа 10. Почкующиеся и стебельковые бактерии.
- Группа 11. Фломы с влагалищем или слизистой оболочкой.
- Группа 12. Скользящие бактерии, образующие плодовые тела.
- Группа 13. Грамположительные, образующие эндоспores, палочки и кокки.
- Группа 14. Грамположительные, не образующие эндоспores, палочки и плейоморфные формы.
- Группа 15. Грамположительные палочки.
- Группа 16. Микобактерии.
- Группа 17. Актиномицеты.
- Группа 18. Микоплазмы.
- Группы 19. Анаэробные нефиламентные и филаментные палочки.
- Группа 20. Эндосимбионты.
- Царство Archaeobacteria.
- Группа 1. Метанопродуцирующие бактерии.
- Группа 2. Сульфатредуценты.
- Группа 3. Halobacteriaceae.
- Группа 4. Архебактерии с особой клеточной стенкой.
- Группа 5. Экстремальные термофильные, серометаболизирующие бактерии.

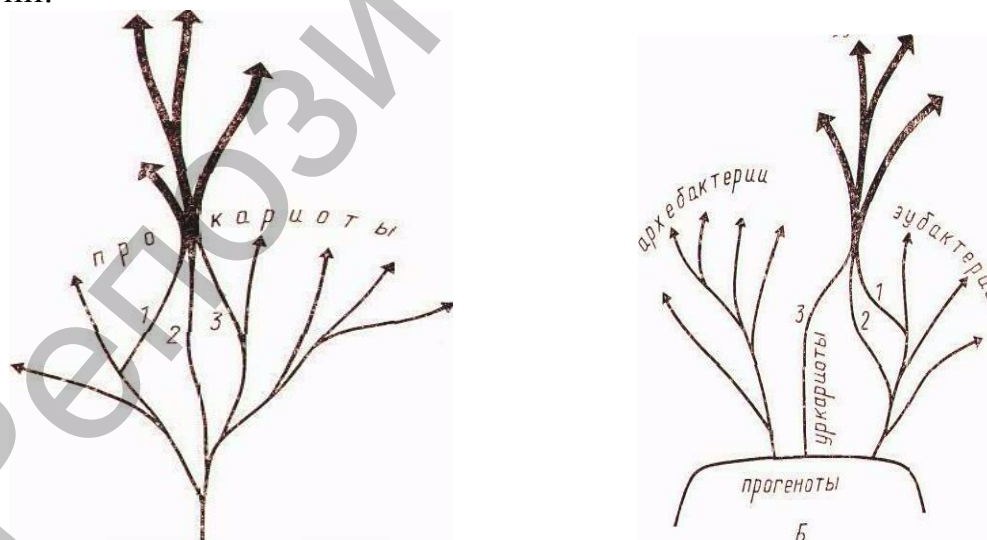


Рис. 2. Пути клеточной эволюции. Тонкими стрелками обозначено эволюционирование разных групп прокариот, в том числе давших начало митохондриям (1), хлоропластам (2), эукариотному ядру и цитоплазме (3). Жирными стрелками обозначено эволюционирование разных групп эукариот

## Классификация бактерий по Определителю Берги (Берджи)

### Группы внутри четырех основных категорий бактерий

Каждая из четырех основных категорий бактерий подразделена на ряд групп. В данной главе представлены таблицы, содержащие краткие описания этих групп.

Таблица 2

#### Группы основной категории I (грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточную стенку)

| Группа | Название                                                                                             | Существенные признаки                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1      | <b>Спирохеты</b>                                                                                     | Грамотрицательные клетки спиралевидной формы, чрезвычайно гибкие, подвижные за счет периплазматического жгутика, а не жгутика, выступающего из клетки во внешнюю среду. Хемоорганотрофы. Анаэробы, микроаэрофилы, факультативные анаэробы или аэробы. Встречаются либо как свободноживущие, либо в ассоциациях с животными, моллюсками, членистоногими или человеком. Некоторые патогенны                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 2      | <b>Аэробные (микроаэрофильные, подвижные, спиралевидные) вибриоидные, грамотрицательные бактерии</b> | Грамотрицательные клетки спиралевидной (с одним или несколькими полными витками спирали) или вибриоидной (имеющей менее одного полного оборота спирали) формы. Подвижные за счет полярно расположенных жгутиков; перемещаются по прямой путем характерного винтового движения. Аэробы или микроаэрофилы; метаболизм дыхательного типа с использованием кислорода в качестве обычного акцептора электронов. Некоторые способны также к анаэробному дыханию с отличными от кислорода акцепторами, такими как нитрат или фумарат. Хемоорганотрофы, но некоторые могут расти как автотрофы, используя в качестве донора электронов $H_2$ . Встречаются в почве, пресной и морской воде, корнях растений, репродуктивных органах, пищеварительном тракте и ротовой полости человека и животного. Некоторые патогенны для животных или человека. Некоторые являются хищниками по отношению к другим микроорганизмам. |

|   |                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3 | <b>Неподвижные или, редко подвижные, грамотрицательные, изогнутые бактерии</b> | <p>Хемоорганотрофные гетеротрофы. Сапрофиты. Группа включает четыре типа организмов:</p> <p>I. Изогнутые или С-образные бактерии, способные образовывать кольца за счет перекрытия концов клетки. Могут встречаться клетки в форме завитков и спиралей. Возможно присутствие газовых вакуолей. Аэробы. Встречаются в почве, пресной и морской воде.</p> <p>II. Вибриоиды или прямые палочки. Образуют газовые вакуоли. Аэротолерантные анаэробы, имеющие строго бродильный тип метаболизма.</p> <p>III. Дугообразные клетки с газовыми вакуолями, образующие ценобии из двух или четырех колец (по типу клеверного листа). Встречаются клетки кренделевидной формы. Встречаются в прудах и озерах, где присутствует сульфид и отсутствует кислород.</p> <p>IV. Тонкие S-образные клетки, образующие за счет расположения бок о бок (число клеток 4 или кратное 4) уплощенные агрегаты сигмовидной формы, иногда подвижные. Встречаются в пресных и солоноватых водах, где присутствует сульфид и отсутствует кислород.</p> <p>Примечание: группа II включает как прямые, так и изогнутые палочки.</p> |
| 4 | <b>Грамотрицательные, аэробные/микроаэрофильные палочки и кокки</b>            | <p>Хемоорганотрофные гетеротрофы, однако некоторые могут расти автотрофно, используя <math>H_2</math> как донор электронов. Не образуют простеки, стебельки, чехлы или газовые вакуоли. Не способны к скользящему движению. Не размножаются почкованием. Растут в атмосфере воздуха. Метаболизм чисто дыхательного типа с использованием <math>O_2</math> как конечного акцептора электронов. Некоторые способны также к анаэробному дыханию с использованием иных акцепторов электронов, чем <math>O_2</math>. Встречаются в почве, пресной или морской среде, корнях растений, либо в репродуктивных органах, кишечном тракте и ротовой полости человека и животных. Некоторые патогенны для животных или человека</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

|    |                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5  | <b>Факультативно анаэробные, грамотрицательные палочки</b>                        | Хемоорганотрофные гетеротрофы, но некоторые могут расти как автотрофы, используя $H_2$ в качестве донора электронов. Не образуют простеки, стебельки, чехлы или газовые вакуоли. Не способны к скользящему движению. Не размножаются почкованием. Способны расти в атмосфере воздуха, имеют метаболизм дыхательного типа; способны также расти гетеротрофно за счет брожения. Встречаются либо как свободноживущие формы, либо в ассоциациях с животными, человеком или растениями. Некоторые патогенны |
| 6  | <b>Грамотрицательные, анаэробные, прямые, изогнутые, и спиралевидные палочки</b>  | Хемоорганотрофные гетеротрофы. Получают энергию за счет анаэробного дыхания или брожения. При анаэробном дыхании не используют в качестве конечного акцептора электронов сульфат, другие окисленные соединения серы или элементную серу.                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 7  | <b>Бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление сульфата или серы</b> | Анаэробы. Хемоорганотрофные гетеротрофы. Осуществляют анаэробное дыхание, используя в качестве конечного акцептора электронов сульфат или другие окисленные соединения серы либо элементную серу. Не образуют эндоспоры                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 8  | <b>Анаэробные грамотрицательные кокки</b>                                         | Хемоорганотрофные гетеротрофы. Метаболизм чисто бродильного типа                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| 9  | <b>Риккетсии и хламидии</b>                                                       | Облигатные внутриклеточные паразиты эукариотических хозяев (позвоночных и членистоногих). Клетки палочковидные, кокковидные или плеоморфные. Многие виды патогенны                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 10 | <b>Аноксигенные фототрофные бактерии</b>                                          | Бактерии, содержащие бактериохлофилл и способные использовать свет в качестве источника энергии. Растут на свету в анаэробных условиях и не выделяют $O_2$ при фотосинтезе. Некоторые способны также расти за счет кислородного дыхания. Не содержат фикобилипротеины                                                                                                                                                                                                                                   |
| 11 | <b>Оксигенные фототрофные бактерии</b>                                            | Бактерии, которые содержат хлорофилл <i>a</i> , используют свет как источник энергии и выделяют $O_2$ подобно зеленым растениям. Подразделяются на два отдела:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |



|    |                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                               | <p>I. Организмы, содержащие хлорофилл <i>a</i> и фикобилипротеины (аллофикоцианин, фикоцианин и иногда фикоэритрин). Носят название <i>цианобактерии</i>.</p> <p>II. Организмы, содержащие хлорофилл <i>a</i> и хлорофилл <i>b</i>, но не фикобилипротеины</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 12 | <b>Анаэробные хе-молитрофные бактерии и близкие организмы</b> | <p>Нефотосинтезирующие организмы подразделяемые следующим образом:</p> <p>I. Нитрофикаторы. Могут использовать как источник энергии для роста восстановленные неорганические соединения азота (аммиак и нитрит).</p> <p>II. Бактерии, окисляющие серу. Могут окислять восстановленные неорганические соединения серы, причем многие используют их в качестве единого источника энергии.</p> <p>III. Облигатные окислители водорода, использующие газообразный водород (<math>H_2</math>) как источник энергии для роста. Органические источники углерода не используют.</p> <p>IV. Бактерии, не имеющие простек и стебельков. Образуют или накапливают оксиды железа и/или марганца на поверхности или внутри клеток.</p> <p>V. Магнитотаксические бактерии, проявляющие таксические реакции на магнитные поля. Клетки содержат обогащенные железом электроноплотные включения (магнетосомы)</p> |
| 13 | <b>Почкующиеся и/или образующие выросты бактерии</b>          | <p>Фотосинтезирующие организмы, подразделяемые следующим образом:</p> <p>I. Бактерии, имеющие <i>простеки</i> (тонкие выросты живого вещества клетки, состоящие из клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и цитоплазмы).</p> <p>А. Размножение асимметричное путем почкования. Почки образуются на конце простеки или на поверхности клетки.</p> <p>Б. Размножение путем бинарного поперечного деления.</p> <p>II. Бактерии, не образующие простеки.</p> <p>А. Почкующиеся бактерии.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |

|    |                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----|----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                                                            | <p>Б. Непочкующиеся бактерии, образующие <i>стебельки</i> (не содержащие цитоплазмы выросты, посредством которых клетка прикрепляется к поверхности).</p> <p>В. Другие бактерии.</p> <p>а. Бактерии, несущие узкие лентовидные структуры, не инструктированные оксидами металлов.</p> <p>б. Бактерии, снабженные <i>стебельками</i> (полые выросты конической формы, различимые в световой микроскоп и обнаруживающие при электронно-микроскопическом исследовании поперечную исчерченность)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 14 | <b>Бактерии, имеющие чехлы</b>                                             | <p>Не фототрофы; аэробы. Не способны к скользящему движению. Характерен рост в виде нитей, клетки которых окружены <i>чехлом</i> (трубка или внеклеточное вещество). При наблюдении во влажном препарате с помощью фазово-контрастной микроскопии трубка обычно выглядит прозрачно, напоминая пластиковую микротрубочку или дудку. Иногда чехол бывает настолько тонким и так плотно прилегает к клеткам, что его нелегко различить при фазово-контрастной микроскопии. Это помогает сделать добавление во влажный препарат 95%-ного этанола. Обнаружить чехол можно и по-другому, внутри нити, если между клетками есть зазоры. Чехлы могут иметь цвет от желтого до темно коричневого за счет отложения в них оксидов железа и марганца. Одиночные клетки могут быть подвижными за счет полярных или субполярных жгутиков или неподвижными</p> |
| 15 | <b>Нефотосинтезирующие скользящие бактерии, не образующие плодовых тел</b> | <p>Нефототрофные клетки в форме палочек или нитей, лишенные жгутиков, но способные скользить по твердой поверхности. Не характеризуются сложным жизненным циклом с роением групп клеток и образованием плодовых тел. У некоторых родов могут присутствовать чехлы. Возможно также образование клеток, называемых миксоспорами (у некоторых родов)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |

|    |                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 16 | <b>Скользкие бактерии, образующие плодовые тела</b> | Хемоорганотрофные, облигатно аэробные бактерии, лишенные жгутика, но способные скользить по твердой поверхности. При недостатке питательных веществ клетки агрегируют с образованием плодовых тел, состоящих из видоизмененной слизи клеток, часто ярко окрашенных и видимых невооруженным глазом. Плодовые тела варьируют по строению от простых комочков до сложных структур, несущих спорангии характерных форм и размеров, сидячие или расположенные одиночно либо в группах на простых или разветвленных стебельках. Клетки внутри плодовых тел представляют собой покоящиеся формы, называемые микроспорами или микроцистами |
|----|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Таблица 3

**Группы основной категории II (грамположительные зубактерии, имеющие клеточные стенки)**

| Группа | Название                       | Существенные признаки                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|--------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 17     | <b>Грамположительные кокки</b> | <p>Хемоорганотрофные, мезофильные, не образующие спор грамположительные кокки, подразделяемые следующим образом:</p> <p>I. Аэробные кокки, встречающиеся в парах, скоплениях или тетрадах. Каталазоположительные. Содержат цитохромы. В клеточных стенках отсутствуют тейхоевые кислоты. Образование кислот из углеводов часто отсутствует или выражено в слабой степени.</p> <p>II. Факультативно анаэробные или микроаэрофильные кокки, в парах, цепочках, кластерах или тетрадах. Присутствие каталазы, цитохромов и тейхоевых кислот в составе клеточной стенки – переменные признаки.</p> <p>III. Строго анаэробные кокки; встречаются в парах, цепочках, тетрадах или пакетах кубической формы. Цитохромы у исследуемых родов не обнаружены. Результаты теста на каталазу обычно отрицательные, хотя в некоторых случаях наблюдается слабая или псевдокатазная активность</p> |

|    |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 18 | <b>Образующие эндоспоры грамположительные палочки и кокки</b>        | Бактерии, образующие устойчивые к нагреванию <i>эндоспоры</i> . Для проверки на присутствие эндоспор лучшим тестом служит нагревание при 70–80° С в течение 10 мин с последующим культивированием в благоприятных условиях. Чаще всего подвижные палочки или нити, однако один род представлен подвижными кокками (в тетрадах или кубических пакетах). В большинстве грамположительные, по крайней мере в молодых культурах, однако у одного рода грамотрицательные. облигатные аэробы, факультативные анаэробы, микроаэрофилы или строгие анаэробы. У одного рода анаэробных бактерий анаэробное дыхание происходит с использованием сульфата                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 19 | <b>Не образующие спор грамположительные палочки правильной формы</b> | Палочковидные клетки (от кокковидных до удлинённых палочек или нитей), грамположительные, не образующие спор, неокрашенные (для одного рода характерна бледно-желтая пигментация), мезофиллы, хемоорганотрофы, растущие только на средах сложного состава. Некоторые патогенны для животных. По физиологическим признакам распадаются на три основные подгруппы:<br>1. Осуществляющие брожение сахаролитические микроаэрофилы. Не обладают гемсодержащей каталазой, цитохромами или менахинонами. Используют кислород только с помощью флавинсодержащих оксидаз и пероксидаз.<br>2. Аэробы или факультативные анаэробы. Обладающие кофакторами и ферментами для дыхания. Способны также сбраживать сахара, с образованием главным образом молочной кислоты, при ограниченном доступе кислорода или в анаэробных условиях.<br>3. облигатные аэробы, никогда не использующие глюкозу как источник углерода или энергии и не осуществляющие сбраживание сахаров до органических кислот. |

|       |                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 20    | Не образующие спор грамположительные палочки неправильной формы | В большинстве палочки неправильной формы. Грамположительные. Растут на воздухе. Не образуют эндоспор. У некоторых могут присутствовать булабовидные формы, разветвленные нитевидные элементы или одновременно палочки либо нитевидные элементы и кокковидные формы. Для некоторых может быть характерен цикл палочки/кокки. Некоторые патогенны для животных или растений |
| 21    | Микобактерии                                                    | Аэробные, неподвижные, не образующие спор, медленно растущие (2–40 сут.), палочковидные бактерии, характеризующиеся <i>кислотоустойчивостью</i> . По Граму окрашиваются слабо. Иногда образуют ветвящиеся нити. Воздушные мицелия не образуют.                                                                                                                            |
| 22–29 | Актиномицеты                                                    | Грамположительные бактерии, образующие разветвленные нити или гифы в виде мицелия, стабильного или распадающегося на палочковидные либо кокковидные элементы. Подвижность, если имеется, за счет жгутиков                                                                                                                                                                 |

Таблица 4

**Группа основной категории III (зубактерии, лишенные клеточной стенки: микоплазмы, или молликуты)**

| Группа | Название   | Существенные признаки                                                                                                                                                                                                             |
|--------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 30     | Микоплазмы | Плеоморфные клетки, лишенные клеточной стенки. На агаре образуют колонии характерного вида. Некоторые нуждаются в стеролах для роста. Могут обнаруживать скользящее движение. От факультативных анаэробов до облигатных анаэробов |

Таблица 5

**Группа основной категории IV (Archaeobacteria)**

| <b>Группа</b> | <b>Название</b>                                                                    | <b>Существенные признаки</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>31</b>     | <b>Метаногены</b>                                                                  | Строгие анаэробы, способные образовывать метан как основной конечный продукт метаболизма. Содержат кофермент М, фактор 420, фактор 430 и метаноптерин. РНК-полимеразы относятся к типу АВ, В                                                                                                                          |
| <b>32</b>     | <b>Сульфатредуцирующие археи</b>                                                   | Строгие анаэробы, способные образовывать $H_2S$ из сульфата в процессе диссимиляционной сульфатредукции. Кроме того, в следовых количествах образуют метан. Содержат фактор 420 и метаноптерин                                                                                                                        |
| <b>33</b>     | <b>Экстремально галофильные археобактерии (галобактерии)</b>                       | Грамотрицательные или грамположительные, аэробы или факультативные анаэробы, хемоорганотрофы. Клетки палочковидные, а также имеющие форму от правильной до выражено неправильной. Некоторые виды содержат фотоактивные красно-пурпурные пигменты                                                                      |
| <b>34</b>     | <b>Археобактерии, лишенные клеточной стенки</b>                                    | Термоацидофилы, аэробы. Клетки кокковидные, лишенные клеточной стенки. Цитоплазматическая мембрана содержит богатый маннозой гликопротеин и липогликан. РНК-полимераза относится к типу ВАС                                                                                                                           |
| <b>35</b>     | <b>Экстремальные термофилы и гипертермофилы, метаболизирующие <math>S^0</math></b> | Облигатные термофилы, аэробы, факультативные анаэробы или строгие анаэробы. Грамотрицательные палочки, нити или кокки. Оптимальная для роста температура между 70 и 105 <sup>0</sup> С. Ацидофилы и нейтрофилы. Автотрофы или гетеротрофы. Большинство видов метаболизирует серу. РНК-полимераза относится к типу ВАС |

## Характеристика групп бактерий

### Группа – *Хламидобактерии*

К этой группе относятся палочковидные бактерии, образующие цепочки. На поверхности цепочек формируются слизистые чехлы, состоящие из сложных гетерополисахаридов. Нередко чехлы пропитываются гидратами оксидов железа или марганца (роды *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Clonothrix*). Нити хламидобактерии свободно плавают в воде либо прикрепляются к растениям или подводным предметам с помощью специальных прикрепительных дисков. Размножаются хламидобактерии простым поперечным делением клеток внутри чехла. Вновь образованные клетки выходят из чехла и формируют новые цепочки.

По типу питания хламидобактерии – хемоорганотрофы, облигатные аэробы. Большинство бактерий этой группы являются типичными обитателями водоемов, содержащих сточные воды. Например, из сточной воды целлюлозобумажных и молочных комбинатов всегда выделяются бактерии рода *Sphaerotilus*, в массах активного ила содержатся бактерии рода *Streptothrix*.

### Группа – *Почкующиеся и стебельковые бактерии*

Данная группа бактерий изучена относительно слабо. К этой группе отнесены стебельковые бактерии, образующие придатки, стебельки, и почкующиеся бактерии, формирующие нитевидные клеточные выросты – простеки. У ряда почкующихся бактерий (*Hyphomicrobium*, *Hyphomonas*, *Pedomicrobium*) простеки выполняют репродуктивную функцию и новые клетки образуются путем почкования. Почкующиеся бактерии широко распространены в различных типах почв.

У стебельковых бактерий простеки не имеют отношения к репродуктивной функции. Размножаются стебельковые бактерии путем асимметричного поперечного деления клетки. Стебельковые бактерии являются типичными обитателями морских и пресных вод.

Все почкующиеся и стебельковые бактерии – хемоорганотрофы, большинство – облигатные аэробы и лишь некоторые – факультативные анаэробы или микроаэрофилы.

В эту группу включены и микроорганизмы родов *Metallogenium*, *Caulococcus*, *Gallionella*, не имеющие клеточной стенки, с неясным систематическим положением. Исследованиями последних лет показано, что они являются сапрофитными микоплазмами.

### Группа – *Спирохеты*

Бактерии данной группы представлены порядком *Spirochaetales*, включающим одно семейство *Spirochaetaceae*.

Спирохеты – тонкие, гибкие, спирально извитые одноклеточные бактерии длиной от 3 до 500 мкм, подвижные. Эндоспор не образуют. Размножаются поперечным делением клетки. Среди спирохет имеются аэробные, факультативно и облигатно анаэробные формы. По типу питания –

хемоорганотрофы. Сапрофиты и паразиты. Среди родов *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira* преобладают паразиты, многие из которых патогенны для человека. Так, бледная спирохета (*Treponema pallidum*) является возбудителем сифилиса и поражает исключительно человека. Сифилис передается преимущественно половым путем при непосредственном контакте и сравнительно редко бытовым, через предметы – сигареты, помаду, посуду.

В последние годы во всех странах мира отмечен рост заболеваемости венерическими болезнями. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире сифилисом заболевают около 50 млн. людей; в Европе каждый год регистрируется более 50 тысяч больных. Заражение сифилисом в 80–90% случаев происходит при случайных внебрачных половых связях в состоянии алкогольного опьянения.

#### Группа – *Спиралевидные и изогнутые бактерии*

Данная группа бактерий представлена семейством *Spirillaceae*. Клетка спирилл имеет форму изогнутой палочки или спирали, длиной от 0,5 до 60 мкм, несет один или несколько полярно расположенных жгутиков. Семейство включает аэробные и анаэробные бактерии, а также микроаэрофилы. Хемоорганотрофы, различающиеся по своим потребностям в питательном субстрате. Среди спирилл имеются сапрофиты, обитающие в загрязненной пресной и морской воде на массах разложившегося органического опада, и паразиты, в том числе виды, патогенные для человека. Например, бактерии рода *Campylobacter* вызывают у человека энтерит.

К данной группе бактерий относится весьма интересный микроб *Vibrio bacteriophorus*, способный паразитировать внутри клеток многих бактерий.

#### Группа – *Грамотрицательные аэробные палочки и кокки*

Это весьма обширная группа бактерий, включающая 8 семейств.

Семейство *Pseudomonadaceae* представлено палочковидными бактериями размером 0,5–1,0x1,5–4 мкм, передвигающимися с помощью полярно расположенных жгутиков.

Типичные представители семейства, объединенные в род *Pseudomonas*, облигатные аэробы, хемоорганотрофы. Многие виды принимают активное участие в процессах минерализации органического опада. Они повсеместно распространены в природе, в почве, в пресной и морской воде, в илах.

Семейство *Azotobacteraceae* включает свободноживущие облигатноаэробные азотфиксирующие бактерии, имеющие крупные клетки разной формы от палочковидных до овальных. По типу питания – хемоорганотрофы. Обитают в почве, воде и на поверхности листьев растений. Типичным представителем семейства является род *Azotobacter* (см. гл. VIII).

Семейство *Rhizobiaceae* представлено палочковидными плеоморфными формами бактерий, способными образовывать клубеньки на корнях бобовых культур (род *Rhizobium*) или галловые разрастания на



стеблях различных растений (род *Agrobacterium*). Большинство видов бактерий, относящихся к роду *Agrobacterium*, – фитопатогенны.

К семейству *Methylomonadaceae* относятся палочковидные и кокковидные бактерии, использующие в качестве источника углерода и энергии исключительно одноуглеродные органические соединения, такие, как метан или метанол. По типу питания – хемоорганотрофы. Облигатные аэробы.

Группа – ***Грамотрицательные факультативно анаэробные палочки***

Группа объединяет три семейства. Семейство *Enterobacteriaceae* представлено небольшими палочковидными формами размером 0,4–0,8 x 1–5 мкм, подвижными и неподвижными, капсульными и бескапсульными.

По типу питания – хемоорганотрофы. Аэробы или факультативные анаэробы. Типичным представителем семейства является кишечная палочка (*Escherichia coli*) – условно патогенный микроб, постоянный обитатель кишечника человека и позвоночных животных.

В состав семейства входят патогенные бактерии – сальмонеллы (род *Salmonella*) – возбудители брюшного тифа, паратифа и сальмонеллезов (пищевых токсикоинфекций) и шигеллы (род *Shigella*), вызывающие дизентерию.

По данным ВОЗ на долю острых кишечных инфекций приходится до 30% всех инфекционных заболеваний (без учета гриппа). На территории СНГ брюшной тиф, паратифы и дизентерия регистрируются в виде единичных случаев. Источником заражения при кишечных инфекциях является больной человек или животное, либо бактерионосители. Факторами передачи возбудителей служат загрязненная фекалиями вода, пищевые продукты, грязные руки, посуда, мухи.

К семейству *Vibrionaceae* относятся прямые или слегка изогнутые палочки, обычно подвижные.

Факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы. Представители семейства встречаются в пресной и соленой воде. Из патогенных бактерий в состав семейства входят возбудители холеры *Vibrio cholerae* и *Vibrio eltor*.

Холера – острое инфекционное заболевание человека, характеризующееся тяжелым гастроэнтеритом, резким обезвоживанием организма и сильной интоксикацией. Единственным источником инфекции является больной человек или бактерионоситель. За последние два столетия по миру прошли 7 пандемий холеры, охватившие многие страны и континенты. В 1970 г. случаи холеры были зарегистрированы в некоторых южных городах нашей страны: Астрахани, Керчи, Одессе.

Группа – ***Грамотрицательные анаэробные бактерии***

Сравнительно немногочисленная группа, представленная семейством *Bacteroidaceae*. Бактерии этого семейства имеют вид одноклеточных или плеоморфных палочек, подвижных и неподвижных.

По типу питания – хемоорганотрофы. Облигатные анаэробы. Ведут процессы сбраживания органических веществ (пептона, глюкозы) с обра-

зованием смеси органических кислот. Три основных рода данного семейства продуцируют: род *Bacteroides* – янтарную, уксусную, муравьиную, молочную и пропионовую кислоты; род *Fusobacterium* – масляную кислоту; род *Leptotrichia* – молочную кислоту.

Бактерии этого семейства обитают в пищеварительном тракте человека и животных, реже выделяются из сточной воды. Некоторые виды патогенны, вызывают различные гнойные поражения кожи.

#### Группа – **Грамотрицательные кокки и коккобациллы**

Группа включает одно семейство *Neisseriaceae*, представленное четырьмя родами, из которых три рода (*Neisseria*, *Branhamella* и *Moraxella*) – паразиты и один род – (*Acinetobacter*) – сапрофит.

Клетки кокковидной формы, расположены парами, короткими цепочками либо скоплениями. На определенных этапах развития клетки имеют капсулы и фимбрии.

По типу питания – хемоорганотрофы. Аэробы.

Основное значение в патологии человека имеют *Neisseria meningitidis*, вызывающая менингококковую инфекцию, и *Neisseria gonorrhoeae* – возбудитель гонореи.

Менингококки обычно паразитируют на слизистой оболочке носоглотки, что сопровождается развитием острого назофарингита. При проникновении менингококков в мозговые оболочки развивается менингит. Менингококковой инфекцией болеет только человек. Передача возбудителя происходит воздушно-капельным путем.

Гонококки являются возбудителями острого гнойного воспаления мочеполовых путей – гонореи, а также могут поражать конъюнктиву глаз новорожденных, вызывая бленнорею. Болеет гонореей исключительно человек. Инфекция передается в основном половым путем и редко бытовым. По данным ВОЗ ежегодно в мире гонореей заболевают более 150 млн. людей, причем более 50% больных составляют лица моложе 25 лет.

Ликвидация социально-экономических причин способствует профилактике венерических заболеваний. Общественная профилактика венерических болезней в нашей стране заключается в раннем выявлении источников заражения и контроле за полнотой и качеством лечения больных.

#### Группа – **Грамотрицательные анаэробные кокки**

В эту группу входит одно семейство *Veillonellaceae*. Бактерии данного семейства представлены кокковыми формами размером от 0,3 до 2,5 мкм, располагающимися попарно либо цепочками и скоплениями.

Хемоорганотрофы с высокими потребностями в питательном субстрате. Анаэробы. Сбраживают субстрат с выделением газов.

Обитают в организмах теплокровных животных. Легко выделяются из ротовой полости, желудочно-кишечного тракта и легких человека и позвоночных животных, но патогенеза не вызывают.

### Группа – **Грамотрицательные хемолитотрофные бактерии**

Группа объединяет бактерии, получающие энергию за счет процессов аэробного окисления восстановленных неорганических соединений азота, серы, железа, марганца. В зависимости от природы окисляемого неорганического соединения в составе группы выделяют:

1. Организмы, окисляющие аммиак или нитриты, представлены семейством Nitrobacteraceae. Бактерии этого семейства широко распространены в почве, пресной и морской воде. Им принадлежит важная роль в процессах круговорота азота в природе.

2. Организмы, метаболизирующие серу и серосодержащие вещества, объединяют роды с неясным систематическим положением (Thiobacillus, Sulfolobus, Thiospira, Thiobactenum и др.). Бактерии вышеназванных родов активно участвуют в круговороте серы. Обитают в почве, морской и пресной воде. Легко выделяются из серных ключей, сточных вод и серных месторождений (см. гл. VIII).

3. Организмы, накапливающие оксиды железа и (или) марганца, представлены семейством Siderocapsaceae. Морфологически сферические, эллипсоидальные или палочковидные формы. Способны накапливать железо и (или) марганец на поверхности капсул, в капсулах или на внеклеточном материале. Встречаются в железосодержащих водах.

### Группа – **Метанобразующие бактерии**

Это высокоспециализированная группа бактерий, объединенных в одно семейство Methanobacteriaceae. Метанобразующие бактерии морфологически представлены кокками и палочками, подвижными и неподвижными. Облигатные анаэробы. Энергию для процессов жизнедеятельности получают путем сбраживания метанола и ацетата с образованием метана и CO<sub>2</sub> либо путем восстановления СОг до метана с использованием электронов, освобожденных при окислении водорода.

Бактерии данного семейства широко распространены в природе. Они выделяются из осадков природных водоемов (болот), из различных очистных сооружений, где идет анаэробное разложение осадка сточных вод, а также из рубца жвачных животных.

### Группа – **Грамположительные кокки**

Бактерии этой группы подразделяются на две подгруппы. В первую подгруппу входят аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, объединенные в семейства Micrococcaceae и Streptococcaceae. Во вторую подгруппу включены облигатные анаэробы, представленные семейством Peptococcaceae.

К семейству Micrococcaceae относятся кокки размером 0,5–3,5 мкм, делящиеся более чем в одной плоскости, и образующие неправильные скопления.

Хемоорганотрофы. Аэробы или факультативные анаэробы. В составе семейства имеются типичные паразиты теплокровных животных. Характерным примером является золотистый стафилококк (Staphylococcus

aureus), вызывающий гноеродные процессы на коже, в подкожной клетчатке и во внутренних органах.

Семейство Streptococcaceae объединяет сферические или овальные формы, расположенные парами, цепочками разной длины либо тетрадами.

Хемоорганотрофы. Факультативные анаэробы. Тип метаболизма бродильный. По характеру деления клеток, взаимному их расположению и конечным продуктам брожения семейство подразделяется на пять родов: Streptococcus, Pediococcus, Aerococcus, **Leuconostoc** и Gernella. Бактерии этого семейства легко выделяются из воздуха, молока и молочных продуктов, мясных рассолов, из бродящих растительных материалов, испорченного пива, а также из кишечной полости и верхних дыхательных путей человека. Некоторые виды многочисленного рода Streptococcus (21 вид) патогенны для человека.

Семейство Peptococcaceae включает кокки размером 0,5–2,5 мкм, располагающиеся одиночно, парами, тетрадами, иногда кубическими пакетами.

Хемоорганотрофы. Облигатные анаэробы. Обитают в ротовой полости, кишечнике и дыхательных путях человека и животных.

#### Группа – **Палочки и кокки, образующие эндоспоры**

Многочисленные бактерии данной группы объединены в одно семейство Bacillaceae. Характерной особенностью семейства является способность к образованию эндоспор. Семейство включает пять родов. Наиболее хорошо изучены бактерии родов Bacillus и Clostridium.

Род Bacillus представлен палочковидными клетками размером 0,3–2,2 x 1,2–7,0 мкм. Большинство из них подвижны. Образуют термоустойчивые эндоспоры.

Хемоорганотрофы. Аэробы или факультативные анаэробы. Подавляющая масса видов – сапрофиты. Однако в составе рода имеются и паразиты. Например, Bacillus anthracis – возбудитель сибирской язвы теплокровных животных и человека. Естественной средой обитания этого микроба является почва, в которой споры его могут сохраняться десятки и сотни лет. Болеют сибирской язвой преимущественно травоядные животные, крупный и мелкий рогатый скот.

Источником заражения человека являются рогатый скот, инфицированное мясо, реже кровососущие насекомые.

В настоящее время сибирская язва регистрируется во многих странах мира, но в виде спорадических случаев.

Род Clostridium объединяет палочковидные спорообразующие бактерии. Споры располагаются терминально или субтерминально. Форма спор от овальной до сферической.

Хемоорганотрофы. Облигатные анаэробы. Сбраживают сахара, многочисленные спирты, аминокислоты и другие органические соединения обычно по типу маслянокислого брожения. Некоторые виды способны фиксировать атмосферный азот.

Большинство видов рода *Clostridium* – сапрофиты. Обитают в почве, в придонных осадках водоемов, а также в пищеварительном тракте человека и позвоночных животных. В составе рода имеются и опасные паразиты – возбудители столбняка (*Cl. tetani*), анаэробной инфекции (*Cl. perfringens*) и ботулизма (*Cl. botulinum*).

В состоянии спор все патогенные клостридии сохраняются в почве и воде десятки лет.

Заболевание столбняком связано с травматизмом в результате различного рода ранений. Летальность от столбняка составляет от 35 до 70%.

Клостридии ботулизма образуют сильнейший нейротоксин. Для того чтобы убить все население нашей планеты, достаточно 5–10 мг этого токсина. Причиной отравления нейротоксином служит употребление в пищу некачественных мясных продуктов, овощных и рыбных консервов, консервированных грибов. Летальность от ботулизма составляет 40–60%.

Профилактика заболевания заключается в строгом санитарном контроле за производством, хранением и реализацией пищевых продуктов, особенно консервов из мяса, рыбы, овощей и грибов.

Группа – ***Грамположительные палочковидные бактерии, не образующие спор***

Группа представлена одним семейством *Lactobacillaceae*, включающим 4 рода, из которых наиболее хорошо изучен род *Lactobacillus*.

К роду *Lactobacillus* относятся палочки от длинных и тонких до коротких типа коккобацилл, располагающихся одиночно либо цепочками.

Анаэробы или факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы. Большинство видов для роста нуждаются в различных углеводах, аминокислотах, пептидах, производных нуклеиновых кислот, витаминах, солях, жирных кислотах или их эфирах. Кислотоустойчивы, оптимум pH 5,5–5,8. Представители рода широко распространены и легко выделяются из молочных, зерновых и мясных продуктов, из пива, вина, фруктовых соков, заквасок теста, из солений и маринадов. Обитают в ротовой полости и в кишечном тракте теплокровных животных и человека.

Группа – ***Актиномицеты и родственные организмы***

Данная группа микроорганизмов весьма многочисленна. Она включает коринебактерии, семейство *Propionibacteriaceae* и порядок *Actinomycetales*.

Объединение нескольких родов коринебактерии соответствует рангу семейства, не имеющего пока таксономического статуса. Для коринебактерии характерна морфологическая изменчивость. Палочковидные клетки нередко образуют булавовидные вздутия по концам, слабо ветвятся или превращаются в кокковидные формы.

Многочисленные виды коринебактерии подразделены на три секции:

1. Паразиты и патогены человека и животных.
2. Коринебактерии, патогенные для растений.

### 3. Непатогенные коринебактерии.

Семейство *Propionibacteriaceae* представлено плеоморфными, дифтерийными или булавовидными палочками. Клетки располагаются одиночно, парами, в виде букв V или Y, либо короткими цепочками или группами в виде «китайских иероглифов».

Хемоорганотрофы. Анаэробы или аэротолеранты (устойчивые к кислороду). Обитают на коже, в дыхательных путях и пищеварительном тракте человека и позвоночных животных, а также в молочных продуктах.

Организмы, относящиеся к порядку *Actinomycetales*, несмотря на характерный мицелиальный рост некоторых форм, принято относить к бактериям, а не к грибам, принимая во внимание следующие критерии: отсутствие ядерной мембраны; малый диаметр гиф (0,5–2,0 мкм); специфичность химизма клеточной стенки, родственную типичным прокариотам; чувствительность к лизоциму; наличие у некоторых форм жгутиков бактериального типа и др.

Порядок *Actinomycetales* включает бактерии, имеющие тенденцию к образованию ветвящихся гиф либо формирующие развитый мицелий. Так, бактерии семейства *Mycobacteriaceae* представлены слабо ветвящимися гифами, нередко фрагментирующимися на кокковидные или удлиненные формы. Представители семейства *Streptomycetaceae* имеют типичный мицелий, на воздушных гифах которого образуются многочисленные споры. Все представители порядка – облигатные аэробы, за исключением семейства *Actinomycetaceae*. По типу питания – хемоорганотрофы. Обитают в почве и, реже, в пресной воде.

В основе подразделения порядка *Actinomycetales* на 8 семейств лежат следующие признаки: морфология клетки, характер метаболизма, химизм клеточной стенки, нуклеотидный состав ДНК, гомология ДНК и т.д.

В составе некоторых семейств имеются бактерии, патогенные для человека. Так, к патогенным микобактериям относятся возбудители туберкулеза и лепры (проказы) – хронических заболеваний человека, сопровождающихся некрозом (разрушением) тканей.

Туберкулез – широко распространенное инфекционное заболевание человека, млекопитающих, птиц и рыб. Возбудитель туберкулеза – *Mycobacterium tuberculosis*. Заражение человека происходит воздушно-капельным или воздушно-пылевым путем. На заболеваемость туберкулезом значительное влияние оказывают условия жизни.

По данным ВОЗ высокая заболеваемость туберкулезом регистрируется в развивающихся странах, где туберкулез входит в десятку основных инфекционных заболеваний.

В нашей стране для профилактики туберкулеза проводится поголовная вакцинация новорожденных противотуберкулезной вакциной БЦЖ. Эта эффективная живая вакцина получена французскими учеными К. Кальметтом и К. Гереном.

Возбудитель лепры *Mycobacterium leprae* поражает исключительно человека. Инкубационный период заболевания длится годами (от 3–5 до 20–35 лет). Болезнь протекает хронически, сопровождается некрозом не только тканей, но и органов. По данным ВОЗ во всех странах мира насчитывается более 10 млн. лепрозных больных. Лечение больных проводится в специальных стационарах – лепрозориях.

Среди актиномицетов некоторые виды являются симбионтами растений. Поселяясь в корневых клубеньках, они фиксируют молекулярный азот.

Некоторые виды рода *Nocardia* патогенны. Они вызывают нокардиозы человека и теплокровных животных – хронические заболевания легких, кожи, лимфатических узлов, оболочек мозга, почек, проявляющиеся нагноением, образованием абсцессов и множественных свищей. Заражение происходит воздушно-пылевым путем, чаще в результате проникновения актиномицетов в поврежденные кожные покровы.

Многие актиномицеты служат продуцентами антибиотических веществ.

#### Группа – *Риккетсии и хламидии*

Данная группа микроорганизмов представлена двумя порядками: *Rickettsiales* и *Chlamydiales*.

Риккетсии – плеоморфные бактерии, имеющие форму кокков, палочек размером 0,2–0,6 x 0,4–2,0 мкм, и, реже, нитей длиной 40 мкм и более. Большинство риккетсии неподвижны. По ультраструктуре они сходны с грамотрицательными бактериями. Риккетсии обладают определенной активностью энергетических и биосинтетических процессов. По типу дыхания аэробы. Риккетсии способны осуществлять биосинтез белков, липидов, а также некоторых компонентов, которые в клетке хозяина не синтезируются, таких, как мурамовая, диаминопимелиновая, фолиевая кислоты, L-лизин, D-аланин и т.д. Кокковидные и палочковидные риккетсии размножаются поперечным делением клетки. Для нитевидных форм характерно дробление с образованием кокков и палочек.

Большинство видов риккетсии, подобно вирусам, на питательных средах не культивируются. Размножение их происходит обычно в цитоплазме и реже в ядре клетки хозяина. Для культивирования риккетсии используют куриные эмбрионы, культуры тканей и организмы грызунов и зайцеобразных (мышей, морских свинок, кроликов) и кровососущих членистоногих (вшей, клещей). В последнее время установлено, что некоторые риккетсии способны расти на искусственных питательных средах, например роды, *Bartonella* и *Grahamella*.

Риккетсии часто встречаются в организмах кровососущих членистоногих (вшей, клещей, блох, клопов), а также диких и домашних животных. Порядок *Rickettsiales* по признакам специфичности существования в организме хозяина подразделяется на три семейства: *Rickettsiaceae*, *Bartonella-*

сеае, Anaplasmataceae. В состав семейства Rickettsiaceae входят патогенные риккетсии, вызывающие острые инфекционные заболевания (риккетсиозы) человека и позвоночных животных: эпидемический сыпной тиф, клещевой сыпной тиф, а также различные лихорадки (марсельскую, волынскую, цуцугамуши, ку-лихорадку и др.).

Возбудителя сыпного тифа *Rickettsia prowazekii* в 1909–1913 гг. выделили Г. Риккетс и С. Провачек из крови больных людей и кишечника вшей. Источником заражения сыпным тифом является больной человек, переносчиком возбудителя – платяная вошь. Заражение сыпняком происходит при втирании риккетсии с фекалиями вшей в ранки и ссадины кожи при расчесах. Вспышки сыпняка регистрируются в периоды неблагоприятного санитарно-гигиенического состояния населения, когда создается скученность людей и возникает эпидемиологическая цепь человек – вошь – человек. Летальность от сыпного тифа составляет от 6 до 14%.

Риккетсиозы, вызываемые возбудителями различных лихорадок, характеризуются, как правило, природной очаговостью. Так, марсельская лихорадка регистрируется в бассейнах Средиземного, Черного и Каспийского морей, резервуаром риккетсии является собачий клещ. Лихорадка цуцугамуши распространена в странах Восточной и Юго-Восточной Азии, Австралии, резервуаром и источником инфекции являются клещи-краснотелки. Ку-лихорадка встречается во многих странах мира, с 1948 г. регистрируется в СНГ, переносчиком возбудителя являются иксодовые клещи. Летальность от риккетсиозов различна и составляет от 10 до 90%.

Порядок Chlamydiales включает одно семейство Chlamydiaceae, представленное одним родом Chlamydia. Хламидии – облигатные внутриклеточные паразиты человека и позвоночных животных, имеющие весьма сложный цикл развития. Облигатный внутриклеточный паразитизм хламидии наложил отпечаток на характер их метаболизма. Они являются энергетическими паразитами, так как не способны синтезировать автономную АТФ. У человека хламидии вызывают тяжелые заболевания – трахому и орнитоз.

#### Группа – *Микоплазмы*

Группа микоплазм представлена организмами, лишенными клеточной стенки и неспособными синтезировать такие компоненты, как мурамую и диаминопимелиновую кислоты. Отсутствие клеточной стенки обуславливает нечувствительность микоплазм к антибиотикам группы пенициллина, ингибирующим синтез веществ клеточной стенки. Вышеуказанные существенные признаки позволили возвести микоплазмы в ранг класса Mollicutes, в состав которого входит один порядок Mycoplasmatales.

Отсутствие клеточной стенки определяет ярко выраженный плеоморфизм микоплазм – от мелких сферических, эллипсоидных, дисковидных клеток до нитевидных, ветвящихся мицелиальных форм размером 0,1–0,2 x 10–15 мкм. Клетка микоплазм покрыта трехслойной цитоплазматиче-



ской мембраной толщиной 7,5–10 нм. Основным липидным компонентом мембраны являются стеринны. В цитоплазме клетки располагаются нуклеоид и масса рибосом.

Геном микоплазм представлен кольцевой молекулой ДНК. Содержание гуанина + цитозина (Г + Ц) в молекуле ДНК низкое и составляет 23,0–40 М%. Молекулярная масса генома микоплазм предельно мала и равняется приблизительно  $4,8 \cdot 10^8$ . Некоторые виды микоплазм на поверхности клетки имеют капсулу.

Микоплазмы характеризуются поразительным многообразием метаболических процессов. Они способны получать энергию за счет процессов брожения и окисления органических веществ, а также за счет окисления неорганических соединений железа и марганца. Большинство микоплазм – хемоорганотрофы. Разные виды их способны расти на искусственных средах разной степени сложности – от простых минеральных до сложных органических. Культивирование микоплазм успешно осуществляется в бинарных культурах с бактериями, в которых они растут как сателлиты на колониях бактерий. Подобно вирусам микоплазмы отлично растут в культуре тканей, из которой они выделяются с большим трудом и затем плохо адаптируются к искусственной питательной среде. За последние годы накопился обширный материал, свидетельствующий о широком распространении микоплазм в природе. Среди них имеются типичные сапрофиты и многочисленные паразиты. Микоплазмы выделяются из почвы, сточных вод, каменного угля, горячих источников, а также организмов человека, позвоночных животных и растений. Известно, что многие виды микоплазм являются симбионтами бактерий, грибов, растений, птиц и млекопитающих. В большинстве случаев отношения симбиоза проявляются как типичный паразитизм и, реже, как комменсализм. Достоверно патогенностью для человека обладает один вид микоплазм – *Mycoplasma pneumoniae*, вызывающий острое респираторное заболевание (ОРЗ). К условно патогенным микоплазмам относится *Mycoplasma hominis*.

Разнообразие физиологических и биохимических особенностей микоплазм наряду с простотой их организации и минимальными размерами клетки делают эту группу весьма интересной с эволюционной точки зрения. Возможно, микоплазмы являются пределом минимального живого организма, способного к самостоятельной репродукции. По теоретическим расчетам минимальный организм сферической формы должен иметь диаметр 0,15–0,20 мкм, а нитевидной формы – размером 20 нм x 13 мкм. Именно такие размеры мы и встречаем у различных микоплазм.

### Архебактерии

Метаногены – строгие анаэробы, образуют метан как конечный продукт. Субстраты – разные органические соединения, водород и углекислый

газ. Серу восстанавливают до сероводорода, клетки флуоресцируют при длине волны 420 нм голубовато-зеленым цветом.

Сульфатвосстанавливающие археобактерии – строгие анаэробы, образуют сероводород из сульфатов и серной кислоты 420 и метанопротеин, экстремальные термофилы – растут при 92 градусах.

Галофильные археобактерии – ХОГТы, разной формы, требуют высокую концентрацию солей (до 1,5 М и выше). Некоторые способны к фотосинтезу, так как содержат бактериородопсин. Фотоавтотрофность была обнаружена в начале 70-х годов Д. Остерхельтом и В. Стокениусом, и механизм фотосинтеза получил название «бактериородопсиновой протонной помпы».

В последнее время к археобактериям проявляют все большее внимание, и их классификация претерпевает большое развитие. Виды археобактерий найдены почти повсеместно и их роль изучается.

### **Трансформация основных биогенных элементов микроорганизмами**

1. **Роль микроорганизмов в круговороте веществ.**
2. **Трансформация углеродсодержащих веществ.**
3. **Трансформация целлюлозы.**
4. **Трансформация гемицеллюлозы, лигнина.**
5. **Трансформация пектина.**
6. **Трансформация углеводов.**
7. **Трансформация азотсодержащих веществ.**
8. **Биологическая фиксация азота.**

### **Роль микроорганизмов в круговороте веществ**

Микроорганизмы играют важнейшую роль в существовании биосферы Земли. Выполняя функции редуцентов в цепях питания, микроорганизмы разлагают различные органические вещества, превращая их в минеральные вещества. Конечными продуктами минерализации являются углекислый газ и вода, другие газообразные продукты. Происходит не только деструкция органических веществ, но и регуляция газового состава атмосферы.

Ведущая роль прокариот определяется огромной численностью микроорганизмов, их распространением, физиологической универсальностью.

### **Процессы трансформации углеродсодержащих веществ**

Углерод – основной строительный элемент, входящий в состав всех органических соединений. Процессы трансформации углеродсодержащих веществ объединяют в единый цикл все живые организмы планеты. В цикле трансформации углеродсодержащих веществ можно выделить два основных звена. Первым звеном является фиксация углекислого газа атмосферы и восстановление его до органических соединений в процессах хе-

мосинтеза и фотосинтеза. Главенствующая роль в образовании органических соединений в процессе фотосинтеза принадлежит растениям, хотя синне-зеленые водоросли и фотосинтезирующие бактерии тоже вносят свой вклад в образование органических веществ.

Образовавшиеся органические вещества подвергаются сложнейшей переработке в организмах животных, растений и прокариот, после отмирания которых органический опад поступает в почву.

Второе, заключительное звено цикла углерода представлено разнообразными процессами минерализации органических соединений, осуществляемыми различными физиологическими группами микроорганизмов. В результате этих процессов происходит возврат углекислого газа в атмосферу, что и определяет содержание этого газа в ней на одном, хотя и минимальном уровне (0,33%).

Параллельно процессам трансформации углеродсодержащих веществ осуществляется и цикл трансформации кислорода. Так, процесс фотосинтеза растений и некоторых бактерий всегда сопровождается выделением кислорода в атмосферу, а процессы аэробной минерализации органических веществ, наоборот, протекают с поглощением кислорода из атмосферы и включением его в состав различных соединений.

Средняя годовая продукция органического вещества на планете составляет  $33 \times 10^{11}$  кг. Основная масса этого вещества представлена различными органическими соединениями растительного происхождения. Это растворимые в воде вещества (сахара, органические кислоты, спирты), слаборастворимые (гемицеллюлоза), нерастворимые (крахмал, пектин, целлюлоза, воска, жиры, смолы, углеводороды) и особо трудноразлагаемое вещество – лигнин. По массе из вышеперечисленных веществ в растениях преобладают целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин.

Различный химический состав растительного опада и соответственно стойкость его к действию ферментов микробной клетки обуславливают постепенное разложение отдельных компонентов. Наиболее легко и быстро из веществ растительного опада разлагаются растворимые в воде соединения и прежде всего моно- и дисахариды. В аэробных условиях они окисляются в процессе дыхания микроорганизмов до углекислого газа и воды, а в анаэробных условиях сбраживаются с образованием органических кислот, спиртов и газов.

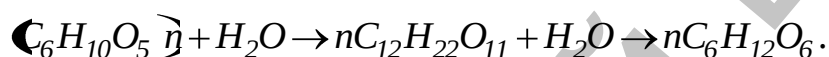
### **Трансформация углеродсодержащих веществ**

**Разложение целлюлозы.** Целлюлоза является самым распространенным органическим соединением в природе. В ее состав входит более 50% всего органического углерода. Синтезируют целлюлозу в основном высшие растения, в организме которых она составляет от 40 до 70%. Из низших организмов к синтезу целлюлозы способны некоторые грибы, а среди прокариот отдельные виды уксуснокислых бактерий (*Acetobacter xylinum*).

Разложение целлюлозы играет первенствующую роль в круговороте углерода, так как именно этот процесс обеспечивает возврат основной массы  $\text{CO}_2$  в атмосферу. С разложением целлюлозы в почве связано образование гумусовых веществ и формирование почвенной структуры.

По химизму целлюлоза представляет собой высокомолекулярный линейный гомополисахарид, состоящий из глюкозных остатков. В одной молекуле целлюлозы может содержаться от 300 до 3000 и более молекул  $\beta$ -D-глюкозы. Молекулы целлюлозы плотно соединены в пучки микрофибрилл, формирующих волокно.

Разложение целлюлозы происходит путем ферментативного гидролизиса несколько стадий. Первоначально под действием фермента целлюлазы нерастворимая в воде целлюлоза превращается в целлобиозу. Далее целлобиоза ферментом В-гликозидазой расщепляется до глюкозы:



Глюкоза в аэробных условиях окисляется до углекислого газа и воды, а в анаэробных условиях сбраживается с образованием органических кислот (уксусная, янтарная, масляная, молочная, муравьиная), этилового спирта и газов (углекислого и водорода). Состав конечных продуктов определяется видом микроорганизма, ведущего процесс брожения.

В аэробных условиях разложение целлюлозы ведут микроорганизмы разных таксономических групп. В кислых лесных почвах ведущая роль в разложении целлюлозы лесной подстилки принадлежит грибам, относящимся к родам *Trichoderma*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium* и др. В степных и луговых почвах разложение целлюлозы в первую очередь осуществляют миксобактерии родов *Archangium* и *Polyangium*, цитофаги родов *Cytophaga* и *Sporocytophaga*, а также бактерии, входящие в состав родов *Vibrio*, *Achromobacter*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. Помимо различных бактерий и грибов, в процессе аэробного разложения целлюлозы принимают участие актиномицеты, из которых наиболее активны представители родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium*.

Анаэробное разложение целлюлозы ведут исключительно бактерии, подавляющее большинство их относится к обширному роду *Clostridium*. Типичным представителем анаэробных целлюлозоразрушающих бактерий является *Cl. Omelianskii*, выделенные и изученный в 1902 г. В.Л. Омелянским. Этот микроб имеет вид тонкой длинной палочки, в молодой культуре подвижен, при старении образует споры на одном из полюсов клетки, принимая характерную форму барабанной палочки. *Cl. Omelianskii* – мезофил, оптимальная температура роста составляет 30–40 градусов. Среди анаэробных целлюлозоразрушающих бактерий имеются и термофильные виды, наилучшим образом развивающиеся при температуре 60–65 градусов. К термофилам относится *Cl. Thermocellum*, выделяющийся из прелого зерна и силоса, а также из разогревающихся масс навоза и компостов.

Бактерии, разрушающие целлюлозу, населяют пищеварительный тракт травоядных животных. Так, в рубце жвачных животных активное участие в разложении целлюлозы принимают бактерии *Ruminococcus flavefaciens* и *Cl. cellobioparum*.

Разнообразие микроорганизмов, участвующих в разложении целлюлозы, определяет масштабность этого естественного процесса, протекающего в самых различных условиях среды, при разной температуре и влажности, в аэробных и анаэробных условиях, при щелочном и кислом значении pH.

**Разложение гемицеллюлозы.** В природе гемицеллюлоза по количеству занимает второе место после целлюлозы. Она входит в состав межклеточного вещества растительных тканей и является опорным компонентом древесины. В древесине лиственных пород гемицеллюлоза составляет до 25%, в древесине хвойных – 12%. Гемицеллюлозу способны синтезировать и некоторые низшие организмы. У дрожжей и грибов гемицеллюлоза входит в состав внеклеточных полисахаридов.

С химической точки зрения гемицеллюлозы являются сложными полисахаридами, молекулы которых содержат пентозы (ксилозы, арабинозы), гексозы (глюкозы, маннозы, галактозы), а также уроновые кислоты (глюкуроновая кислота).

В природе в разложении гемицеллюлоз принимают участие многие микроорганизмы, синтезирующие ферменты ксиланазы. Ксиланазы обнаружены у дрожжей (*Trichosporon*), грибов (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fomes*, *Polyporus* и др.), у большинства целлюлозоразрушающих бактерий (*Clostridium*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Bacillus*). Ферменты ксиланазы катализируют расщепление полисахаридной молекулы гемицеллюлозы до сахаров, которые окисляются или сбраживаются до конечных продуктов. Гемицеллюлозы разных растительных организмов в значительной мере различаются по своему химическому составу, а поэтому разложение их в почве протекает с различной скоростью и во многом зависит от условий окружающей среды (температуры, влажности, pH, аэрации и т.д.).

#### **Разложение крахмала**

Крахмал – главное запасное вещество растений. Состоит из двух глюканов – амилазы и амилопектина. Известно 3 типа ферментативных реакций распада глюканов. Это реакции фосфоролиза, гидролиза, трансгликозилирования.

1. Ферменты фосфорилазы освобождают из глюканов глюкозо-1-фосфат, реакции могут проходить в местах свободных концов цепей амилазы.

2. Экзоферменты амилазы расжижают крахмал, образуя мальтозу, остатки глюкозы, расщепляют декстрины.

3. Трансгликозилазы действуют на крахмал, образуя кольцевые структуры из 6–8 остатков глюкозы.

**Разложение лигнина.** Лигнин по количеству в природе занимает третье место после целлюлозы и гемицеллюлозы. Он синтезируется только высшими растениями и является основным компонентом вторичных слоев клеточной оболочки. В молодых травянистых растениях содержание лигнина относительно невысокое и составляет всего 3–6%. По мере старения растений содержание его существенно возрастает. Особенно много лигнина находится в древесине лиственных (20–30%) и хвойных (50%) пород. Лигнин, заполняя пространство между волокнами целлюлозы, вызывает одревеснение клеточных стенок и придает им особую прочность.

Химический состав лигнина до сих пор окончательно не установлен. Известно, что у разных растений он неоднороден. Сложная структура лигнина определяется большим числом полимеризованных мономерных блоков, представляющих собой производные фенилпропана. Считается, что основным мономером скелета лигнина является конифериловый спирт. Лигнин нерастворим ни в воде, ни в органических растворителях.

В природе разложение лигнина происходит параллельно разрушению целлюлозы и гемицеллюлозы и осуществляется сложным комплексом высших базидиомицетных грибов, а также грамотрицательных бактерий родов *Pseudomonas* и *Arthrobacter*. Деструкторы лигнина синтезируют внеклеточные ферменты – полифенолоксидазы, катализирующие деполимеризацию молекул лигнина на простые ароматические вещества, такие, как ванилин, ванилиновая кислота или другие ароматические соединения. Разложение лигнина в почве происходит очень медленно, что приводит к накоплению лигнина и продуктов его разложения, которые служат основой для образования гумусовых веществ.

**Разложение пектина.** Пектин является основным компонентом срединных пластинок, соединяющих растительные клетки в ткани и придающих им плотность. Особенно большое количество пектинов содержится в плодах растений. Например, в антоновских яблоках пектины составляют до 30%.

С химической точки зрения пектины представляют собой неразветвленные полимеры галактуроновой кислоты. В растительных тканях имеются три типа пектиновых веществ: протопектин – нерастворимое в воде соединение, пектин – растворимый в воде полимер галактуроновой кислоты, содержащий метилэфирные связи, и пектиновая кислота – растворимый в воде полимер галактуроновой кислоты, лишенный метилэфирных связей.

На три вышеперечисленные формы пектинов действуют три группы экзоферментов, выделяемых микроорганизмами.

Протопектиназы катализируют разложение нерастворимого в воде протопектина с образованием растворимого пектина.

Пектинэстеразы гидролизуют метилэфирные связи в молекуле пектина, в результате чего образуются пектиновые кислоты и метиловый спирт.

Полигалактуроназы разрушают полимерную молекулу пектина или пектиновой кислоты на отдельные молекулы D-галактуроновой кислоты и целый ряд других соединений.



Мономерные сахара в аэробных условиях окисляются микроорганизмами до углекислого газа и воды, а в анаэробных условиях сбраживаются по типу маслянокислого брожения. Конечными продуктами брожения являются масляная, уксусная кислоты и углекислый газ и водород.

В природе в процессе разложения пектиновых веществ принимают участие многие микроорганизмы – различные бактерии, плесневые и дрожжевые грибы. В аэробных условиях пектины разрушаются главным образом грибами родов *Cladosporium*, *Herbarum*, *Alternaria*, *Rhodotorula*, а также спорообразующими бактериями рода *Bacillus* (*Bac. Polymyxa*, *Bac. macerans*), в анаэробных условиях – бактериями рода *Clostridium*.

Процесс разрушения пектиновых веществ лежит в основе промышленного получения волокна льна, конопли, кенафа, джута и других волокнистых растений.

**Трансформация углеводов.** В углеводородах биогенного и абиогенного происхождения концентрируется значительная часть углерода, а поэтому процессы трансформации углеводов имеют принципиальное значение в круговороте этого важнейшего элемента. Несмотря на высокую химическую устойчивость углеводов все они, даже такие сложные, как нефть, каучук, парафин и др., могут быть использованы и трансформированы в процессах метаболизма определенными группами микроорганизмов.

Углеводороды представлены соединениями различной химической природы. Наибольшей устойчивостью обладают ароматические углеводороды – моноциклические (бензол, толуол, ксилол) и полициклические (нафталин, фенантрен, антрацен). Разложение их протекает в аэробных условиях, так как для разрыва ароматического кольца необходим кислород. Под действием индуцибельных ферментов – оксигеназ в ароматическое кольцо включаются один или два атома кислорода, что приводит к образованию гидроксильных групп при одном или двух атомах углерода. Между этими двумя гидроксильными атомами углерода и происходит обычно разрыв ароматического кольца (орторасщепление). Иногда разрыв ароматического кольца осуществляется между гидроксильным атомом углерода и соседним с ним негидроксильным (метарасщепление). Конечными продуктами при полном окислении ароматических углеводородов являются углекислый газ и вода. Промежуточными продуктами этого процесса нередко обнаруживаются спирты, органические кислоты, эфиры и другие соединения. Способностью разлагать ароматические углево-

дороды обладают многие микроорганизмы – некоторые аэробные бактерии родов *Pseudomonas* и *Arthrobacter*, нокардии (*Nocardia corallina*), а также грибы и дрожжи.

Алифатические углеводороды, особенно соединения с длинной углеродной цепью, содержащие до 16–34 атомов углерода, значительно легче разлагаются микроорганизмами. Процесс разложения алифатических углеводородов начинается с окисления концевого атома углерода при участии ферментов оксигеназ и далее протекает по типу окисления жирных кислот. При недостатке кислорода разложение алифатических углеводородов сопровождается накоплением промежуточных продуктов – жирных кислот, начиная с пропионовой кислоты. Разложение алифатических углеводородов в природе осуществляется многими микроорганизмами. Особо активно этот процесс ведут коринебактерии (род *Corynebacterium*), нокардии, псевдомонады и дрожжи родов *Candida*, *Debaryomyces*, *Schwanniomyces*. В круговороте углерода микробиологической трансформации подвергаются и газообразные углеводороды (метан, этан, пропан, бутан). Микроорганизмы, потребляющие газообразные углеводороды в качестве источника углерода, получили название **метилотрофов**. **Последние научные достижения подтвердили экологические аспекты деятельности метилотрофов.**

Следует заметить, что часть углерода, имеющегося на нашей планете, почти не принимает участия в круговороте. Это так называемый условно захороненный углерод гумуса почвы, горючих сланцев, известняка, торфа, нефти, газа и каменного угля.

Однако гумус почвы, сформировавшийся тысячелетиями, хотя и очень медленно, но все же разрушается микроорганизмами и вовлекается в круговорот. Нефть, торф и газ, извлеченные из недр земли, также становятся доступными для разложения микроорганизмами. В ходе хозяйственной деятельности человека при сжигании горючих ископаемых в топках происходит быстрая минерализация соединений углерода, сопровождающаяся выделением углекислого газа, вступающего в круговорот. Углерод горючих сланцев и известняков, подвергающихся процессам выветривания и почвообразования, также постепенно вовлекается в общий круговорот.

### **Трансформация азотсодержащих веществ**

Важнейшим минеральным элементом является азот. Ведущая роль в процессах трансформации азотсодержащих соединений принадлежит микроорганизмам. Цикл трансформации азотсодержащих веществ осуществляется рядом взаимосвязанных процессов.

*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 происхождения.

*Нитрификация* – процесс окисления аммиака до нитритов и нитратов. Осуществляют этот процесс нитрифицирующие бактерии в строго аэробных условиях.

*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.

*Биологическая фиксация молекулярного азота* включает процессы фиксации молекулярного азота атмосферы свободноживущими и симбиотическими формами микроорганизмов путем биологического восстановления до аммиака.

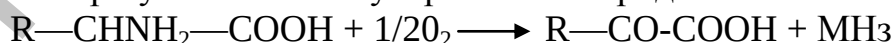
Биологическая азотфиксация является самым значительным путем пополнения запасов азота в почве. Подсчитано, что глобальная азотфиксация в водных системах ежегодно достигает 190 млн. тонн азота, а на суше она составляет 130 млн. тонн, в то время как мировое производство азотных удобрений пока не превышает 60–70 млн. тонн.

**Аммонификация.** Разнообразные органические азотсодержащие соединения составляют до 99% всего запаса азота. Первое место среди них занимают белки, на долю которых приходится не менее 50% от органических азотсодержащих соединений.

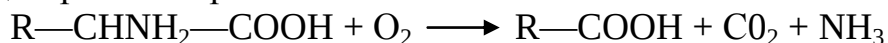
Процесс аммонификации белков заключается в деятельности аммонифицирующих бактерий, которые выделяют в среду протеолитические экзoferменты, катализирующие расщепление пептидных связей в молекулах белков с образованием более мелких осколков полипептидов и олигопептидов. Последние относительно легко проникают через цитоплазматическую мембрану в бактериальную клетку, где расщепляются внутриклеточными ферментами пептидазами до аминокислот. Образующиеся аминокислоты непосредственно включаются в биосинтетические процессы микробной клетки либо служат одним из основных субстратов для процессов катаболизма.

Разрушение аминокислот начинается с их дезаминирования, т.е. с отщепления аминогруппы от молекулы аминокислоты, что приводит к выделению аммиака. Процесс дезаминирования аминокислот происходит различными путями.

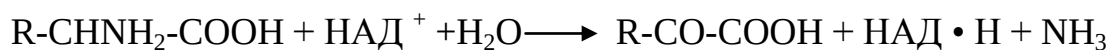
Наиболее часто наблюдается окислительное дезаминирование аминокислот при участии молекулярного кислорода:



Нередко окислительное дезаминирование аминокислот сопровождается декарбоксилированием:



Многие аминокислоты подвергаются гидролитическому (в присутствии воды) дезаминированию с помощью НАД-зависимых дегидрогеназ:



Дальнейшая судьба углеродсодержащих продуктов процесса дезаминирования аминокислот может быть различна. Некоторые из них, такие, как пировиноградная, а-кетоглутаровая, щавелево-уксусная кислоты непосредственно включаются в процессы клеточного метаболизма, остальные (большинство органических кислот) подвергаются последующей трансформации.

В аэробных условиях процесс дезаминирования аминокислот идет, как правило, энергично и завершается окислением углеродного остатка до конечных продуктов – углекислого газа, воды и сульфатов.

В анаэробных условиях некоторые аминокислоты подвергаются декарбоксилрованию с образованием  $\text{CO}_2$  и первичных аминов. К числу последних относятся высокотоксичные соединения кадаверин, путресцин и агматин, известные под названием трупных ядов.

Анаэробное сбраживание аминокислот сопровождается накоплением в среде специфических веществ с резким неприятным запахом – аммиака, сероводорода, индола и скатола. Поэтому в быту процесс анаэробной аммонификации белков получил название гниения.

В процессе аммонификации белков принимают участие различные группы микроорганизмов, постепенно сменяющие друг друга. В аэробных условиях аммонификацию белков начинают неспорообразующие бактерии, относящиеся к родам *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, а также микобактерии (*Mycobacterium*) и плесневые грибы. На смену им приходят различные виды бацилл (*Bacillus subtilis*, *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides* и др.). На завершающих этапах в процесс аэробной аммонификации включаются актиномицеты. В анаэробных условиях процесс аммонификации ведут бактерии рода *Clostridium* (*Cl. cadaveris*, *Cl. paraputrificum* и др.). Аммонификация сложных белков включает первоначальное расщепление молекул на основные компоненты – белок и простетическую группу. Дальнейшая аммонификация белков осуществляется по обычной схеме.

Сложными полимерными соединениями являются нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК. Аммонификация нуклеиновых кислот начинается с гидролитического расщепления их на мононуклеотиды при участии ферментов рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы. Далее от мононуклеотида отщепляется сначала остаток фосфорной кислоты, затем сахар. Образовавшиеся азотсодержащие основания разлагаются до мочевины и аминокислот, а последние в конечном итоге до аммиака и органических кислот. Отщепленные от мононуклеотидов сахара в аэробных условиях окисляются до конечных продуктов углекислого газа и воды, а в анаэробных условиях подвергаются медленному сбраживанию.

Дезаминированию могут подвергаться и органические азотсодержащие вещества небелковой природы, такие, как мочевина, мочевая и гиппуровая кислоты, входящие в состав мочи человека и животных. Мочевина является

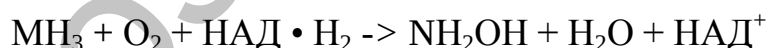
одним из продуктов жизнедеятельности грибов и образуется при гидролитическом распаде аргинина. Многие микроорганизмы способны использовать мочевины в качестве источника азота для синтеза собственных белков.

Под действием фермента уреазы, выделяемой микроорганизмами, происходит гидролиз мочевины с образованием углекислого аммония, который почти тотчас же разлагается на составные компоненты – аммиак, углекислый газ и воду.

Бактерии, разлагающие мочевины, получили название *уробактерий*. К ним относятся *Sporosarcina ureae*, *Micrococcus ureae* и *Bacillus pasteurii*. Специфической чертой уробактерий является их способность развиваться в щелочной среде. Мочевая и гиппуровая кислоты также разрушаются рядом микроорганизмов в процессе реакций их энергетического метаболизма.

**Нитрификация.** Аммиак, образующийся в процессе аммонификации в почве и воде, сравнительно быстро окисляется нитрифицирующими бактериями до нитритов и нитратов. О микробиологической природе процесса нитрификации впервые высказал предположение Л. Пастер. Позднее, в 1890–1892 гг., С.Н. Виноградский выделил нитрифицирующие бактерии в чистую культуру и показал, что процесс нитрификации протекает в две фазы. Первую фазу нитрификации – окисление аммиака или солей аммония до нитритов – ведут нитрозные бактерии, относящиеся к родам *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*, *Nitrospira*.

Из нитрозных бактерий наиболее подробно изучен вид *Nitrosomonas europaea*. Клетки его имеют форму коротких палочек, размером 1,0–1,5 мкм; подвижные или неподвижные, одиночные либо в коротких цепочках. В настоящее время предполагается, что первая фаза нитрификации включает несколько этапов. Очевидно, на первом этапе аммиак окисляется до гидроксиламина при участии фермента монооксигеназы, катализирующей присоединение к молекуле аммиака одного атома кислорода:



Далее гидроксиламин под действием фермента гидроксиламинокси-доредуктазы окисляется до нитрита через промежуточный продукт – нитроксил.

Энергия, освобожденная в реакциях окисления и аккумулированная клеткой в АТФ, расходуется для фиксации  $\text{CO}_2$  и других биосинтетических процессов. Вторую фазу нитрификации – окисление нитритов в нитраты – осуществляют нитратные бактерии родов *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*. Лучше других нитратных бактерий изучен *Nitrobacter winogradskyi*, клетки которого имеют грушевидную форму. Размножается почкованием, дочерняя клетка, имеющая один латерально расположенный жгутик, обычно подвижна.

Все нитрифицирующие бактерии – облигатные аэробы. Большинство из них хемолитоавтотрофы. Присутствие органических веществ в среде, в

концентрациях, обычных для гетеротрофов, ингибирует рост нитрифицирующих бактерий. Наилучшим образом нитрифицирующие бактерии развиваются при температуре 25–30 °С и рН 7,5–8,0. Они обитают во всех типах почв, в морской и пресной воде озер, морей и океанов.

Нитрификация – второе важное звено в цикле трансформации азотсодержащих веществ. Нитраты служат одной из форм минерального азота, необходимого для питания растений. Накопление нитритов и нитратов в почве вызывает подкисление почвенного раствора, что положительно сказывается на повышении растворимости некоторых соединений фосфора и железа и способствует лучшему усвоению их растениями.

**Денитрификация.** Нитраты в почве расходуются весьма интенсивно. Часть их потребляется в процессе питания растений и самих микроорганизмов, часть вымывается из почвы, а некоторое количество нитратов восстанавливается до газообразной формы азота в процессе денитрификации.

Следует различать денитрификацию *прямую* и *косвенную*. Под прямой денитрификацией принято понимать биологическое восстановление нитратов и нитритов, осуществляемое микроорганизмами. Косвенная денитрификация – это чисто химический процесс взаимодействия нитритов с аминокислотами, в результате которого образуется молекулярный азот. Косвенная денитрификация характерна для кислых почв при рН среды ниже 5,5.

В природе более распространена прямая денитрификация. Она подразделяется на *ассимиляционную* и *диссимиляционную*. При ассимиляционной денитрификации нитраты потребляются в качестве источника азота и восстанавливаются до аммиака, который расходуется клеткой в процессе биосинтеза. К ассимиляционной денитрификации способны растения и многие бактерии. В процессе диссимиляционной денитрификации нитраты и нитриты выступают в роли акцепторов электронов в реакциях катаболизма денитрифицирующих бактерий. Диссимиляционную денитрификацию ведут хемоорганогетеротрофные бактерии, относящиеся к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Corynebacterium* и др.

В зависимости от вида микроорганизма, ведущего процесс, конечными продуктами восстановления нитратов являются молекулярный азот, оксид азота (I) или оксид азота (II).

Клетки денитрифицирующих бактерий имеют достаточно совершенную дыхательную цепь, позволяющую им вести процессы катаболизма как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Одними из важных ферментов денитрифицирующих бактерий являются нитратредуктазы, катализирующие перенос электронов на азот нитратов. Синтез нитратредуктаз в клетке происходит только в анаэробных условиях при наличии нитратов в среде.

В природе денитрифицирующие бактерии, а соответственно и процессы денитрификации, широко распространены. Денитрифицирующие бактерии обитают в пресных и соленых водоемах, в различных типах почв.

Из всех видов денитрификации основной ущерб сельскому хозяйству наносит диссимиляционная денитрификация, так как именно она в основном и приводит к снижению запасов азота в почве и в водоемах. Подсчитано, что потери азотных удобрений, вносимых в почву, в результате денитрификации нередко составляют от 5 до 10%. Особо активно денитрификация протекает на тяжелых, сильно переувлажненных почвах. Для борьбы с денитрификацией рекомендуется рыхление почвы в целях создания аэробных условий жизни денитрифицирующим бактериям.

**Биологическая фиксация молекулярного азота.** Интерес к проблеме биологической фиксации молекулярного азота атмосферы обусловлен существенной ролью биологического азота в азотном балансе биосферы. Решение этой проблемы перспективно в плане получения дешевого и совершенно безвредного для здоровья человека и окружающей среды биологического азота для обеспечения нужд сельского хозяйства.

Запасы минерального азота в почве невелики и в среднем составляют 150 кг на 1 га пахотного слоя. Запасы молекулярного азота в атмосфере практически неисчерпаемы. Над каждым гектаром почвы содержится такой запас азота, который мог бы обеспечить высокие урожаи растений в течение миллионов лет. Однако молекулярный азот не может быть использован ни растительными, ни животными организмами. Азотфиксация – это уникальный процесс, характерный только для прокариотной клетки. Среди царства прокариот способны фиксировать молекулярный азот различные аэробные и анаэробные бактерии и некоторые актиномицеты. Все азотфиксирующие микроорганизмы условно можно подразделить на две группы: свободноживущие в почве и симбиотические, вступающие в симбиоз с высшими растениями. Согласно подсчетам ежегодно культурные растения земного шара выносят из почвы около 100 млн. т азота, в то время как вносимые в почву минеральные удобрения составляют лишь 32 млн. т. Остальной дефицит азота в почве восполняется за счет биологической азотфиксации. В земледелии нашей страны при возрастающих поставках минеральных удобрений велика роль биологического азота. Подсчитано, что свободноживущие азотфиксирующие микроорганизмы фиксируют по 15–18 кг азота на 1 га.

Молекулярный азот весьма инертное соединение. Тройная связь, связывающая атомы азота, требует для разрыва огромной энергии. Осуществить разрыв связи могут микроорганизмы, содержащие ферментативный нитрогеназный комплекс. Первый компонент – молибдоферродоксин, вещество белковой природы. Второй компонент – азоферродоксин. Фермент функционирует при наличии АТФ, ионов магния, восстановителя ферродоксина.

Восстановление молекулярного азота идет поэтапно, через стадии образования диимина, гидразина, и в конечном итоге, аммиака.

Для восстановления одной молекулы азота затрачивается 12 молекул АТФ, поступающих из метаболизма клетки бактерии или растения-

симбионта. Аммиак вступает в реакции с органическими кетокислотами, образуя аминокислоты, идущие на построение белков бактерий и растений.

### **Метаболизм прокариот**

- 1. Метаболизм прокариот. Анаболизм. Катаболизм.**
- 2. Ферменты прокариот. Свойства и типы ферментов.**
- 3. Катаболизм. Получение энергии клетками прокариот.**
- 4. Цепь переноса электронов (ЦПЭ).**
- 5. Брожение, пути превращения глюкозы в ПВК.**
- 6. Типы брожения и их характеристики.**
- 7. Аэробное окисление субстратов, цикл Кребса.**
- 8. Анаэробное окисление: нитратное и сульфатное дыхание у прокариот.**
- 9. Анаболизм прокариот. Биосинтез углеводов.**
- 10. Биосинтез аминокислот.**
- 11. Биосинтез нуклеотидов.**
- 12. Биосинтез липидов.**

### **Метаболизм прокариот. Анаболизм. Катаболизм**

Образ жизни прокариот состоит в постоянном воспроизводстве биомассы клетки.

Совокупность процессов, обеспечивающих воспроизводство биомассы, называют обменом веществ или метаболизмом.

Клеточный метаболизм складывается из 2-х потоков реакций, разных направлений: катаболизма или энергетического обмена и анаболизма или конструктивного обмена. Энергетический метаболизм или катаболизм, включает совокупность реакций, протекающих с мобилизацией энергии и ее преобразованием.

Конструктивный метаболизм или анаболизм это совокупность реакций синтеза, в результате которых строится вещество клеток, связан с потреблением энергии.

Метаболические пути разделены на 3 этапа.

Начальный этап или периферический обмен, когда на молекулы субстратов воздействуют периферические ферменты.

Промежуточный этап характеризуется образованием промежуточных веществ.

Конечный этап определяется конечными продуктами. В конструктивном метаболизме вещества идут на построение клетки. Энергетический метаболизм обеспечивает клетку энергией.

Метаболизм прокариот очень разнообразен, так как микроорганизмами используются разные источники энергии, разные субстраты, разные периферические ферменты.

Для обоих типов метаболизма возможно использование сходных веществ – амфиболитов, сходных реакций – амфиболических реакций.

## **Ферменты прокариот. Свойства ферментов. Типы ферментов**

Из клеток прокариотных организмов выделены ферменты, относящиеся согласно международной классификации ко всем известным классам: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы.

Состав ферментов определяется геномом клетки и является относительно постоянным. Помимо эндоферментов, функционирующих внутри клетки, у прокариот имеются экзоферменты, выделяемые ими в окружающую среду. Например, к экзоферментам относятся гидролазы, разрушающие крупномолекулярные соединения субстрата и играющие исключительно важную роль в питании прокариот.

По времени образования **ферменты прокариотной клетки можно** подразделить на 2 группы.

*Конститутивные* ферменты, синтез которых идет с постоянной скоростью независимо от веществ субстрата; в клетке они находятся в более или менее постоянной концентрации. Примером конститутивных ферментов могут служить гликолитические ферменты.

*Индукцибельные* ферменты, скорость синтеза которых в клетке резко возрастает в ответ на появление в среде субстрата-индуктора. К индуцибельным ферментам относится большинство гидролаз.

Активность ферментов, а соответственно и скорость катализируемых ими реакций, зависят от действия физических и химических факторов. Физические факторы (температура, давление, свет, магнитное поле, электрические импульсы и др.) оказывают на ферменты менее специфическое действие, чем химические.

Кислоты, щелочи, ионы металлов, как правило, резко изменяют активность ферментов, вступая в соединение с их активным центром или с отдельными участками на поверхности молекулы фермента.

Ключевые позиции в процессах метаболизма занимают *аллостерические* (ключевые) ферменты. Последние реагируют на потребности клетки в конечных продуктах метаболизма. Избыточное количество конечного продукта тотчас же ингибирует активность первого фермента в системе собственного биосинтетического пути.

Таким образом, маленькая по размерам прокариотная клетка проявляет максимальную экономичность, синтезируя только те ферменты, которые необходимы ей в данных условиях. Поэтому количество одного и того же фермента в клетке в разное время может быть минимальным – не более одной-двух молекул и максимальным – несколько процентов от массы клетки.

Для ферментов свойственны такие важнейшие свойства, как субстратная специфичность и специфичность действия.

Субстратная специфичность – это способность катализировать превращения лишь немногих сходных субстратов.

Специфичность действия – это способность катализировать лишь определенную реакцию.

Активность ферментов определяют сложные механизмы регуляции.

Определение некоторых важных ферментов лежит в основе идентификации микроорганизмов. Активность оксидоредуктаз имеет важное значение при идентификации микроорганизмов групп семейства энтеробактерий.

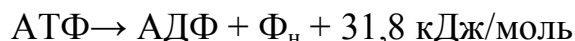
### **Катаболизм прокариот**

Жизнь прокариот, как и любых других организмов, определяется наличием энергии. Из всех внешних источников энергии для живых организмов доступны только два вида: электромагнитная и химическая энергия окисления восстановленных соединений. Растительные организмы для жизнедеятельности используют как электромагнитную энергию, так и химическую энергию дыхания. Животные получают энергию исключительно в процессе дыхания.

Для прокариот характерны весьма различные способы получения энергии. Так, наиболее древняя группа анаэробных прокариот довольствуется химической энергией процессов брожения. Большинство прокариот получают энергию в реакциях аэробного окисления самых различных органических соединений. Однако среди них имеются анаэробы, способные переходить от аэробного окисления органических веществ субстрата к анаэробному нитратному или сульфатному дыханию. Высокоспециализированные группы хемолитотрофных микроорганизмов используют химическую энергию реакции аэробного окисления неорганических веществ ( $\text{H}_2$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  и др.). Наконец, сине-зеленые водоросли и фотосинтезирующие бактерии утилизируют как электромагнитную энергию, так и химическую энергию реакций окисления различных органических и неорганических восстановленных соединений.

Энергия, получаемая прокариотами, аккумулируется клеткой в высокоэнергетических соединениях с фосфатной связью: производные фосфорной кислоты – аденозинтрифосфат (АТФ), уридинтрифосфат (УТФ) и др., а также с тиоэфирной связью: производные карбоновых кислот – ацетил-коэнзим А (ацетил- $\text{CoA}$ ). Ключевым соединением в реакциях переноса энергии в процессах метаболизма является аденозинтрифосфат (АТФ).

При отщеплении одного из остатков фосфорной кислоты от молекулы АТФ с образованием АДФ освобождается значительное количество энергии:



И наоборот, присоединение фосфорной кислоты к АДФ в реакциях фосфорилирования с образованием АТФ сопровождается аккумуляцией энергии.

**Цепь переноса электронов. ЦПЭ. Ферменты цепи переноса электронов.** Отщепление и перенос водорода или электронов от окисляемого



субстрата на конечный акцептор осуществляется через последовательную цепь дыхательных ферментов, получивших название *цепи переноса электронов* (ЦПЭ) или *дыхательной цепи*.

В клетках аэробных и анаэробных прокариот наиболее обширную группу дыхательных ферментов составляют дегидрогеназы, катализирующие дегидрирование субстратов. Коферментами дегидрогеназ выступают пиридиннуклеотиды – никотинамидадениннуклеотид (НАД) и флавопротеиды (ФП) – флавинадениндинуклеотид (ФАД) и флавиномононуклеотид (ФМН).

Вторую группу дыхательных ферментов составляют цитохромы *b*, *c*, *a* и *a<sub>3</sub>*, коферменты которых представлены железопорфиринами. Звено цитохромов осуществляет перенос электронов по дыхательной цепи от дегидрогеназ на конечный акцептор – молекулярный кислород либо на нитраты или сульфаты.

Помимо вышеуказанных групп дыхательных ферментов в мембранной системе прокариот обнаружены хиноны типа убихинона и менахинона.

Расположение ферментов в дыхательной цепи определяется их окислительно-восстановительным потенциалом. Чем ниже окислительно-восстановительный потенциал фермента, тем в большей степени он является восстановителем и тем ближе он расположен к субстрату. Порядок расположения ферментов в цепи переноса электронов приблизительно таков: НАД – дегидрогеназы → ФАД – или ФМН – дегидрогеназы → убихинон → цитохромы *d* → *c* → *a* → *a<sub>3</sub>*.

В полной дыхательной цепи при переносе водорода и электронов между НАД-дегидрогеназой и конечным акцептором образуются три молекулы АТФ.

Разные группы прокариотных организмов характеризуются разным уровнем организации дыхательной цепи. Так, в клетках первично анаэробных хемоорганотрофных микроорганизмов, ведущих процессы брожения, обнаружены только НАД-зависимые дегидрогеназы. Наиболее полно дыхательная цепь сформирована у фотосинтезирующих прокариот. Все анаэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы имеют более или менее полную систему ферментов электронного транспорта. Однако у разных физиологических групп микроорганизмов дыхательные цепи отличаются по составу промежуточных ферментов – переносчиков и терминальным цитохромом (цитохромоксидаза или редуктаза).

### **Брожение. Пути превращения глюкозы в ПВК. Общая характеристика процессов брожения**

Брожение – эволюционно наиболее древний и примитивный способ получения энергии, характерный для некоторых групп прокариот. Основные типы брожения – спиртовое, молочнокислое и масляное – открыты Л. Пастером в 1861 г., хотя продукты брожения 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.

В качестве исходного субстрата в процессах брожения микроорганизмы используют самые разнообразные органические вещества – углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины. Конечным продуктом брожения обычно являются органические кислоты (молочная, уксусная, янтарная и др.), спирты (этиленовый, пропиловый, бутиловый), ацетон,  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ . По выходу основного конечного продукта выделяют различные типы брожения: молочнокислое, спиртовое, маслянокислое, пропионовокислое и др.

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

Первая, окислительная стадия заключается в серии последовательных реакций, ведущих к образованию пировиноградной кислоты из углерода. У разных групп микроорганизмов установлены три пути превращения глюкозы в пировиноградную кислоту – (ПВК). Первый, наиболее распространенный путь, получил название *гликолиза* или схемы Эмбдена – Мейергофа – Парнаса (ЭМП). Второй путь характерен только для некоторых бактерий и известен как схема Энтнера – Дудорова. Третий, пентозофосфатный путь также показан для многих бактерий.

Гликолиз начинается с реакции фосфорилирования глюкозы, в результате образуется глюкозо-6-фосфат. Последний изомеризируется во фруктозо-6-фосфат, который подвергается вторичному фосфорилированию в положении – 1. Образовавшийся фруктозо-1,6-дифосфат расщепляется ферментом фруктозо-1,6-дифосфатальдолоазой на две триозы: фосфодиоксиацетон и 3-фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА).

На вышеуказанные подготовительные реакции превращения глюкозы в две молекулы 3-ФГА затрачивается энергия двух молекул АТФ.

Важным этапом гликолиза является окисление 3-фосфоглицеринового альдегида до 1,3-дифосфоглицериновой кислоты (1,3-ФГК).

Дегидрирование 3-ФГА и является окислительной реакцией дающей энергию. В последующей реакции происходит перенос остатка 3-ФГА вместе с макроэргической связью на фосфорную кислоту, что приводит к образованию 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и исходной формы фермента.

1,3-дифосфоглицериновая кислота – высокоэнергетическое соединение, содержащее макроэргическую фосфатную связь у первого углеродного атома, - реагент с АДФ, отдавая высокоэнергетическую фосфатную группу, в результате чего синтезируется молекула АТФ. Энергия, освобожденная при окислении 3-ФГА, путем субстратного фосфорилирования оказывается аккумулирована в молекуле АТФ. Далее изомеризуется в 2-фосфоглицериновую кислоту (2-ФГК).

Молекула ФЕП – второе высокоэнергетическое соединение, которое с помощью фермента пируваткиназы передаёт фосфатную группу на АДФ. Так в результате второго субстратного фосфолирования образуется еще одна молекула АТФ. Далее ФЕП самостоятельно превращается в более устойчивую форму – пировиноградную кислоту. На стадии образования пировиноградной кислоты заканчивается гликолитический цикл превращения углеводов.

В реакциях гликолиза из одной молекулы глюкозы образуются 2 молекулы пировиноградной кислоты, 2 молекулы НАД • Н<sub>2</sub> и 4 молекулы АТФ, из которых 2 синтезируются при окислении двух молекул 3-ФГА и 2 при дегидратации двух молекул 2-ФГК. Общий энергетический эффект реакции гликолиза составляет 2 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы.

Второй путь расщепления углеводов, путь Энтнера – Дудорова, у прокариот встречается реже, чем другие. Он характерен для некоторых псевдомонад и уксуснокислых бактерий. Этот путь обеспечивает прокариотам использование глюконовой, маннановой, гексуриновой кислоты. В качестве конечного продукта образуются 1 молекула пировиноградной кислоты и 3-фосфоглицериновый альдегид. На 1 молекулу сброженной в этом пути синтезируется 1 молекула АТФ. Путь Энтнера – Дудорова является самым кратчайшим механизмом расщепления углеводов до пировиноградной кислоты.

Третий, пентозофосфатный путь расщепления углеводов, или путь Варбурга – Диккенса – Хорекера, характерен для всех видов бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, а также для гетероферментативных молочнокислых бактерий и некоторых маслянокислых бактерий.

Конечными продуктами сбраживания гексоз в пентозофосфатном цикле являются рибозо-5-фосфат и 3-ФГА.

В реакции дегидрирования глюкозо-6-фосфата образуются 2 молекулы НАДФ • Н<sub>2</sub>, которые необходимы клетке для восстановленных реакций биосинтеза:



Особенность этой реакции заключается в том, что в ней в качестве акцептора водорода выступает никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). С энергетической стороны этот путь сбраживания углеводов в два раза менее эффективен, чем гликолитический, так как на 1 молекулу глюкозы образуется только 1 молекула АТФ.

Все вышерассмотренные пути превращения углеводов в анаэробных условиях, встречающиеся у прокариот, заканчиваются образованием в качестве основного промежуточного продукта пировиноградной кислоты. В дальнейшем пировиноградная кислота в зависимости от ферментативных особенностей микроорганизма, ведущего брожение, превращается в раз-

личные соединения. Ниже рассмотрим несколько конкретных примеров различных брожений.

### **Типы брожения. Характеристика типов брожения**

#### **Молочнокислое брожение**

Молочнокислое брожение считается эволюционно одним из самых древних и примитивных типов брожения. По характеру самого процесса и образующимся конечным продуктам различают *гомо-* и *гетероферментативное* молочнокислое брожение.

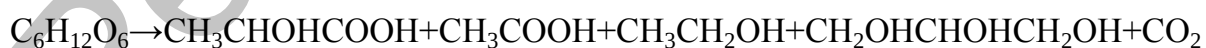
В основе гомоферментативного молочнокислого брожения лежит гликолитический цикл сбраживания гексозы с образованием двух молекул пировиноградной кислоты. Последняя, выступает конечным акцептором водорода, восстанавливается до молочной кислоты. Этот процесс можно выразить следующим уравнением:



Энергетический выход гомоферментативного молочнокислого брожения невелик и составляет всего 2 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы.

Процесс ведут гомоферментативные молочнокислые бактерии, способные сбраживать 85 – 98% сахара, находящегося в среде, до молочной кислоты. Морфологически они представлены кокками, относящимися к родам *Streptococcus* и *Pediococcus*, палочковидными формами обширного рода *Lactobacillus*. Все бактерии этой группы по методу Грамма окрашиваются положительно, спор не образуют, неподвижны. По отношению к кислороду аэротолерантны, т.е. способны расти при доступе кислорода. Молочнокислые бактерии характеризуются низкими биосинтетическими способностями. Источником углерода для них служат молочные или растительные сахара и редко некоторые пентозы, сахароспирты и органические кислоты. Низкие биосинтетические способности этой группы бактерий свидетельствуют о примитивности их конструктивного метаболизма.

В основе гетероферментативного молочнокислого брожения лежит пентозофосфатный путь сбраживания гексоз или пентоз с образованием молочнокислой кислоты и ряда других продуктов – уксусной кислоты, этиленового спирта, глицерина и углекислого газа:



Облигатные гетеротрофные молочнокислые бактерии лишены ключевых ферментов гликолитического пути – альдолазы и триозофосфатизомеразы. К этой группе относятся бактерии родов *Lactobacillus*, *Leuconostoc* и *Bifidobacterium*. Некоторые молочнокислые бактерии способны вести как гомо-, так и гетероферментативное молочнокислое брожение, сбраживая гексозы по гликолитическому, а пентозы по пентозному пути.

Молочнокислые бактерии весьма широко распространены в природе. Они легко выделяются из молока и всех молочных продуктов, с поверхности растений и разрушающихся растительных масс, из почвы и ризосферы растений, из желудка и кишечника животных и человека.

С незапамятных времен молочнокислые бактерии находят применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека – для приготовления кисломолочных продуктов, сливочного масла, сыра, квашения овощей и т.д.

Для производства кисломолочных продуктов в разных географических широтах используют различные виды молочнокислых бактерий. Так, на севере в закваску для простокваши входят в основном кокковые формы *Streptococcus lactis* и *S. cremoris*; на юге в закваске простокваши преобладает болгарская палочка (*Lactobacillus bulgaricus*).

Закваски некоторых национальных кисломолочных продуктов (кефира, кумыса, йогурта) представлены исторически сложившимися симбиотическими комплексами молочнокислых бактерий и дрожжей. Молочнокислые бактерии сбраживают лактозу молока с образованием 0,8–1% молочной кислоты, дрожжи ведут спиртовое брожение и сбраживают лактозу с образованием 1%-ного этилового спирта.

Молочнокислые бактерии играют важную роль в приготовлении сыров. В основе сыроварения лежит коагуляция казеина молока под действием сычужного фермента, получаемого из желудка жвачных животных. Образовавшиеся сгустки казеина отделяют от молочной сыворотки, прессуют, выдерживают в растворе соли и оставляют на созревание. Во время созревания в сырной массе идут сложные процессы превращения казеина в аминокислоты под влиянием ферментов.

В процессах квашения овощей и силосования кормов принимают участие многочисленные спонтанные расы гомо- и гетеро-ферментативных молочнокислых бактерий.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии рода *Bifidobacterium* являются обитателями кишечника животных и человека, нередко они составляют от 50 до 90% микробного населения в фекалиях человека.

Многие молочнокислые бактерии способны синтезировать вещества, обладающие антибиотическими свойствами (лактолин, низин, бревин, диплококцин и др.). На этом свойстве молочнокислых бактерий основано их антагонистическое действие на гнилостные и болезнетворные микроорганизмы в кишечнике человека и животных.

### **Спиртовое брожение**

Процесс спиртового брожения проходит по гликолитическому пути до образования пировиноградной кислоты. Далее при участии ключевого фермента спиртового брожения – пируватдекарбоксилазы – происходит декарбоксилирование пировиноградной кислоты. В результате образуются ацетальдегид и углекислый газ.

Образовавшийся ацетальдегид выступает конечным акцептором и под действием НАД<sup>+</sup>-зависимой алкогольдегидрогеназы восстанавливается до этиленового спирта. Донором водорода, как и при молочнокислом брожении, служит 3-фосфоглицериновый альдегид.

Суммарно процесс спиртового брожения можно выразить следующим уравнением:



Энергетический выход процесса составляют 2 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы. Отличие спиртового брожения от молочнокислого заключается в различной природе конечного акцептора водорода.

Спиртовое брожение лежит в основе ряда промышленных производств – виноделия, получения спирта, пивоварения, хлебопечения. На Европейском континенте в промышленности используют различные расы сахаромицетных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*, *Sacch. Vini*), на Американском континенте – различные расы схизосахаромицетов.

Среди прокариот к активному спиртовому брожению способны *Erwinia amylovora*, *Zymomonas mobilis*, *Sarcina vintriculi*. Последняя используется в промышленном производстве для получения этилового спирта в странах Востока.

**Маслянокислое брожение.** Маслянокислое брожение проходит в строго анаэробных условиях и ведут его облигатно-аэробные бактерии рода *Clostridium*.

Этот тип брожения следует рассматривать как один из вариантов условного брожения, в основе которого лежит гликолитический путь сбраживания углеводов до пировиноградной кислоты. Характерной особенностью маслянокислого брожения является реакция конденсации с образованием  $C_4$  – соединения (масляной кислоты). В результате из пировиноградной кислоты образуются уксусный альдегид, муравьиная и уксусная кислота, нередко этиловый спирт. Муравьиная кислота распадается до  $CO_2$  и  $H_2$ , а реакция конденсации ацетальдегида приводит к образованию масляной кислоты. Суммарно процесс маслянокислого брожения можно выразить следующим уравнением:



Энергетический выход данного процесса составляет 3,3 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы. Процесс маслянокислого брожения очень лабилен и зависит от состава питательной среды и стадии развития культуры микроорганизма.

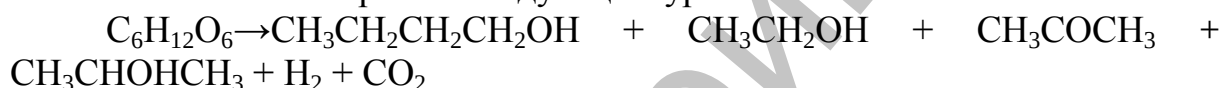
Маслянокислые бактерии рода *Clostridium* многочисленны и гетерогенны. Морфологически они представлены крупными палочками. В молодой культуре палочки подвижны, тип жгутикования перитрихальный. По мере старения клетки формируют эндоспоры. Спорангии переходного типа – от кластридиального к плекридиальному, форма спор сферическая или овальная.

По типу использования углеродсодержащих веществ маслянокислые бактерии подразделяются на сахаролитические и протеолитические. Сахаролитические виды (*Cl. Butyricum*, *Cl. Pasteurianus*, и др.) сбраживают различные соединения углеводной природы: пектин, целлюлозу, крахмал, хитин и т.д. Протеолитические клостридии (*Cl. Nutrificum*, *Cl. Sporogenes*, *Cl. Histolyticum*) в качестве сбраживаемого субстрата используют белки, аминокислоты, пурины, пиримидины.

Различные виды маслянокислых бактерий в природе ведут самые разнообразные процессы: аэробную аммонификацию органических азотсодержащих веществ, анаэробное разложение растительных остатков – пектина и клетчатки.

Маслянокислые бактерии нередко причиняют вред, вызывая порчу продуктов – прогоркание масла, сметаны, и т.д.

Одной из разновидностей маслянокислого брожения является ацетоно-бутиловое брожение. Основные продукты – бутиловый, этиловый и изопропиловый спирт, ацетон и газ  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ . Суммарно этот процесс брожения может быть выражен следующим уравнением:



Выход продукта брожения обуславливается составом питательного субстрата, условиями pH среды, температурой, а также видом маслянокислых бактерий, ведущих брожение. Этот вид маслянокислого брожения широко используется в современном производстве для получения дефицитных реактивов – ацетона и бутилового спирта из любого крахмалсодержащего сырья.

Рассмотрев суть процессов брожения на конкретных примерах, подчеркнем еще раз, что этот тип анаэробного окисления является наиболее примитивным способом получения энергии. Среди царства прокариот анаэробное окисление присуще многочисленной и разнообразной группе микроорганизмов. Однако только небольшая часть их может быть названа первичными анаэробами. Большая часть ныне существующих анаэробов имеет вторичное происхождение, связанное с адаптацией их к анаэробным условиям среды и утратой способности к анаэробному окислению с использованием молекулярного кислорода. Примером таких микроорганизмов может служить микрофлора кишечника. В целом анаэробные прокариоты и в современную эпоху занимают широкие экологические ниши – глубинные слои почвы и воды, придонные илы морей и океанов, нефтяные скважины и т.д.

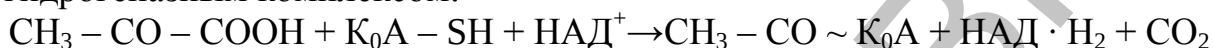
### **Аэробное окисление органического и неорганического субстрата**

Молекулярный кислород атмосферы, очевидно, имеет биогенное происхождение. Появление его связано с процессом фотосинтеза древнейших цианобактерий или их предков, впервые ставших использовать в процессе фотосинтеза донором водорода воду. Переход прокариот к анаэробному окислению оказался возможным только на определенном этапе

эволюции, когда в клетке была сформирована более или менее полная дыхательная цепь.

Большая часть аэробных прокариотных организмов потребляет в качестве источника энергии различные органические соединения, окисляя их до конечных продуктов  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Аэробное окисление органических веществ в прокариотной клетке проходит подобно аэробному дыханию эукариот. В основе его лежит окисление пировиноградной кислоты по циклу трикарбоновых кислот (ЦТК – цикл Кребса).

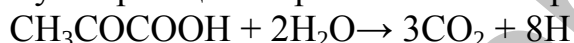
Включению пировиноградной кислоты в цикл Кребса предшествует сложная реакция окисления ее до ацетил- $\text{K}_0\text{A}$ , катализируемая пируватдегидрогеназным комплексом:



Собственно цикл Кребса начинается с реакции конденсации ацетил- $\text{K}_0\text{A}$  с молекулярной щавелевоуксусной кислоты при участии фермента цитрасинтазы.

Цикл Кребса выполняет две важные функции для клетки. В реакциях этого цикла осуществляется полное окисление органического субстрата с отщеплением водорода и переходом его на фермент, помимо этого идет снабжение клетки веществами-предшественниками.

Суммарно цикл Кребса можно выразить следующим уравнением:



Исходным субстратом для цикла трикарбоновых кислот служат не только углеводы, но и жирные кислоты и многие аминокислоты.

Цикл Кребса сопряжен с дыхательной цепью. Основная функция дыхательной цепи заключается в запасании энергии клеткой, освобождающейся в процессе переноса электронов путем трансформации ее в химическую энергию фосфатных связей в молекулах АТФ.

В состав дыхательной цепи аэробных прокариотных организмов входят: НАД-дегидрогеназы, ФАД-или ФМН-дегидрогеназы, убихинон и система цитохромов. НАД-дегидрогеназы катализируют отщепление водорода от окисляемого субстрата и передачу его на стартовые переносчики дыхательной цепи – НАД $\cdot$ Н $_2$ -дегидрогеназы. С них водород передается в дыхательную цепь на ФАД-или ФМН-дегидрогеназы, затем на убихинон и далее на систему цитохромов. При передаче водорода по дыхательной цепи происходит расщепление его атомов на протоны и электроны. Протоны выделяются в среду, а электроны передаются далее по дыхательной цепи на терминальный переносчик – цитохромоксидазу. Последняя передает их на конечный акцептор – молекулярный кислород, который активизируется и соединяется с водородом.

Перенос электронов по дыхательной цепи на все более низкие энергетические уровни приводит к освобождению значительного количества свободной энергии, которая аккумулируется клеткой в фосфатных связях в



форме молекул АТФ. Поскольку реакции фосфорилирования идут сопряженно с реакциями окисления, этот процесс получил название *окислительного фосфорилирования*. В основе его лежит разность окислительно-восстановительного потенциала донора и акцептора электронов. Образование АТФ обычно происходит на участках дыхательной цепи с большой разностью потенциала. На примере митохондрий эукариот определены три участка в цепи дыхания. Первый участок связан с переносом водорода НАД•Н<sub>2</sub>-дегидрогеназой на ФАД-или ФМН-дегидрогеназу. Второй участок сопряжен с активностью убихинона, осуществляющего перенос электронов от ФАД-или ФМН-дегидрогеназы на систему цитохромов, Третий, последний участок связан с переносом электронов цитохромоксидазой на молекулярный кислород.

Об эффективности реакций окислительного фосфорилирования судят по отношению р/о (количество потребленных молекул неорганического фосфора на один атом поглощенного кислорода). У эукариот отношение р/о равно 3. У многих прокариот отношение р/о может быть меньше трех, что объясняется выпадением некоторых участков дыхательной цепи.

Среди прокариот-аэробов имеются микроорганизмы, способные получать энергию за счет неполного аэробного окисления некоторых органических веществ.

Уксуснокислые бактерии представлены палочками небольших размеров, в молодой культуре они подвижны. Все виды – облигатные аэробы, довольно требовательные к субстратам, особенно к витаминам и в первую очередь к пантотеновой кислоте. Наиболее характерна способность бактерий этой группы окислять этиловый спирт с образованием уксусной кислоты при участии НАД-зависимых дегидрогеназ.

Подчеркнем, что процессы неполного анаэробного окисления не имеют ничего общего с процессами брожения. Энергия для жизнедеятельности клетки образуется в реакциях окисленного фосфорилирования, но в меньшем количестве, чем при полном аэробном окислении, так как часть ее сохраняется в недоокисленных конечных продуктах.

Различные виды уксуснокислых бактерий в качестве окисляемого субстрата способны использовать как одноатомные спирты, так и многоатомные спирты – производные сахаров. При окислении одноатомных спиртов образуются различные кислоты. Окисление многоатомных спиртов приводит к образованию альдоз и кетоз. В промышленности уксуснокислые бактерии применяются для получения столового уксуса, а также аскорбиновой кислоты.

В отличие от эукариот, осуществляющих дыхание только за счет окисления органических веществ, среди прокариот имеются группы хемолитотрофных микроорганизмов, способных в процессе катаболизма окислять неорганические вещества субстрата.

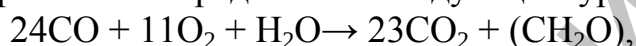
Дыхательная цепь хемолитотрофных микроорганизмов включает в основном те же ферменты-переносчики электронов, что и дыхательная цепь хе-

моорганотрофов. Специфика функционирования дыхательной цепи этой группы микроорганизмов заключается в том, что при окислении неорганических соединений, обладающих разным окислительно-восстановительным потенциалом, электроны с окисляемого субстрата включаются в дыхательную цепь на разных энергетических уровнях. Поэтому для обеспечения клетки энергией микроорганизмы вынуждены окислять огромное количество субстрата.

К хемолитотрофным микроорганизмам, получающим энергию за счет окисления неорганических веществ, относятся нитрифицирующие бактерии, железобактерии, тионовые бактерии и др.

С точки зрения лабильности метаболизма особый интерес представляют карбоксибактерии. Эти микроорганизмы могут вести себя как автотрофы, потребляя в качестве единственного источника углерода и энергии угарный газ (CO), и как гетеротрофы, используя источником углерода и энергии органические вещества – спирты и органические кислоты.

Суммарно процессы катаболизма и анаболизма карбоксидобактерий-автотрофов можно представить следующим уравнением:



где  $(\text{CH}_2\text{O})$  – символ биомассы.

Из уравнения следует, что окисление CO – неэффективный способ получения энергии, поэтому микроорганизмы вынуждены окислять большое количество субстрата.

Выделение CO современным транспортом и промышленными предприятиями загрязняет атмосферу этим соединением. Единственный путь удаления CO из окружающей среды – утилизация его в обмене микробной клетки.

#### **Анаэробное окисление: нитратное и сульфатное дыхание**

Анаэробное окисление встречается только среди представителей царства прокариот. Оно присуще микроорганизмам, способным переходить от аэробного образа жизни к анаэробному, используя в качестве конечного акцептора электронов как молекулярный кислород, так и азот нитратов и серу сульфатов.

Типичным примером таких микроорганизмов являются денитрифицирующие бактерии.

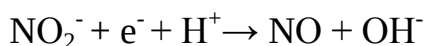
Дыхательная цепь денитрифицирующих бактерий включает все основные ферменты-переносчики электронов, характерные для дыхательной цепи аэробов. Только конечное звено цитохромной системы – цитохромоксидаза замещена у них на нитратредуктазу, катализирующую перенос электронов на азот нитратов. Нитратредуктазы относятся к индуцибельным ферментам, синтезируемым клеткой только в анаэробных условиях при наличии нитратов в среде.

Процесс денитрификации состоит из 4 восстановительных стадий, каждая из которых катализируется соответствующей нитратредуктазой. На первой стадии происходит восстановление нитратов в нитриты:

азот<sup>+5</sup> принимая 2 протона и 2 электрона восстанавливается в азот нитритов  $\text{NO}_2^- + 3\text{H}^+ \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$ :



Далее нитраты восстанавливаются до оксида азота (II), затем до оксида азота (I) и в конечном итоге до молекулярного азота:



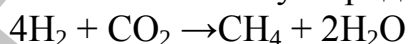
Использование азота в качестве акцептора электронов позволяет денитрифицирующим бактериям полностью окислять органические вещества субстрата до конечных продуктов  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Поэтому энергетический выход нитратного дыхания практически приближается к обычному аэробному окислению.

Поскольку денитрофицирующие бактерии переключаются на нитратное дыхание, только попадая в анаэробные условия, приспособление их к анаэробному образу жизни следует считать эволюционно вторичным и рассматривать как возврат к анаэробно-аэробному от типичного аэробного окисления.

К анаэробному окислению способны и сульфатвосстанавливающие бактерии, относящиеся к родам *Desulfotomaculum*, *Desulfonema*, *Desulfovibrio* и др. Пути получения энергии у сульфатвосстанавливающих бактерий могут быть разными. Это процесс брожения органических веществ, сопровождающийся образованием АТФ в результате субстратного фосфорилирования, сульфатное дыхание, предусматривающее окисление органических веществ в анаэробных условиях с переносом электронов на серу сульфатов. Бактерии этой гетерогенной группы способны получать энергию также за счет окисления молекулярного водорода, сопряженного с восстановлением сульфатов.

Способность сульфатвосстанавливающих бактерий использовать молекулярный водород для получения энергии позволяет отнести их к анаэробным хемолитотрофным микроорганизмам.

В процессе окисления молекулярного водорода получают энергию и метанообразующие бактерии, использующие в качестве акцептора электронов углекислый газ. Для бактерий этой группы  $\text{CO}_2$  выступает одновременно источником углерода и акцептором электронов:



Изучение различных типов катаболизма прокариот дает возможность предположить, что именно совершенствование способов получения энергии клеткой лежит в основе эволюции представителей этого царства.

Наиболее древней группой прокариот являются анаэробные бактерии, добывающие энергию в процессах брожения за счет субстратного фосфорилирования.

Существенным этапом на пути эволюции прокариот следует считать появление фототрофных бактерий, использующих в качестве основного источника энергии солнечный свет и в качестве основного источника углерода  $\text{CO}_2$ .

Развитие фотосинтетиков-аэробов, в первую очередь цианобактерий, привело к обогащению среды молекулярным кислородом. В клетке аэробных бактерий сложилась еще одна система электроного транспорта и сопряженный с ней механизм фосфорилирования – окислительное фосфорилирование.

В настоящее время в царстве прокариот мы встречаемся с поразительным разнообразием типов катаболизма. Однако доминирующим и эволюционно господствующим типом катаболизма, несомненно, является аэробное окисление со всем его многообразием доноров и акцепторов.

### **Анаболизм прокариот. Биосинтез углеводов**

Основные компоненты прокариотной клетки состоят из органических веществ-полисахаридов, белков, нуклеиновых кислот, липидов, большинство из которых (исключая липиды) являются полимерами. Образованию полимеров предшествует биосинтез мономеров, их составляющих. На процессы биосинтеза мономеров и реакции их полимеризации расходуется большая часть энергии, получаемой клеткой в процессах катаболизма.

**Биосинтез углеводов.** Прокариоты способны синтезировать моно-, олиго-, и полисахариды, а также и другие соединения, в состав которых входят углеводы.

Для прокариот-автотрофов исходным продуктом для синтеза углеводов является  $\text{CO}_2$ . Фотосинтезирующие автотрофные микроорганизмы фиксируют  $\text{CO}_2$  и осуществляют биосинтез углеводов также, как растения при фотосинтезе, через восстановительный пентозофосфатный цикл, или цикл Кальвина. Из клеток автотрофных прокариот выделены два специфических фермента этого цикла:

1. Фосфорибулокиназа, фосфорилирующая рибулозо-5-фосфат при участии АТФ в рибулозо-1,5-дифосфат, выступающий далее акцептором  $\text{CO}_2$ .

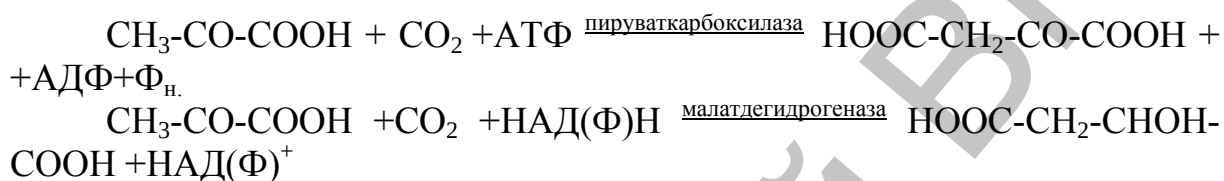
2. Рибулозодифосфаткарбоксилаза, катализирующая реакцию фиксации  $\text{CO}_2$  рибулозо-1,5-дифосфатом с образованием двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты. 3-ФГК подвергается различным превращениям до получения глюкозы.

Подобным образом фиксируют  $\text{CO}_2$  и ведут синтез углеводов хемосинтезирующие автотрофные микроорганизмы. Но они используют энергию АТФ, получаемую клеткой в результате реакций окисления неорганических веществ субстрата.

Моносахариды, образовавшиеся в результате фиксации  $\text{CO}_2$ , используются на синтез олиго- и полисахаридов. Биосинтез полисахаридов осуществляется путем трансгликозилирования (переноса остатков моносахаридов на конец растущей цепи полисахарида) и всегда сопровождается затратой энергии.

Прокариоты-гетеротрофы способны синтезировать углеводы из  $C_2$  и  $C_3$ -соединений, используя при этом реакции гликолитического пути, идущие в обратном направлении.

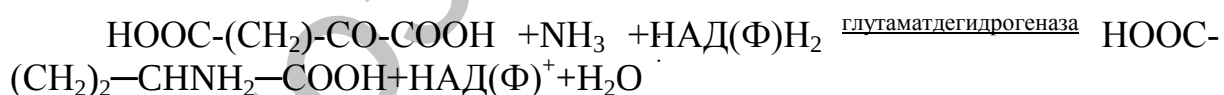
Все гетеротрофные микроорганизмы, помимо усвоения органических углерод содержащих веществ, фиксируют углекислый газ и используют его в реакциях анаболизма и катаболизма. Включение  $CO_2$  в вещества клетки у гетеротрофных микроорганизмов происходит в реакциях карбоксилирования. В большинстве случаев акцепторами  $CO_2$  выступают органические кислоты, например реакции карбоксилирования пировиноградной кислоты с образованием щавелевоуксусной (ЩУК) или яблочной кислот:



### Биосинтез аминокислот

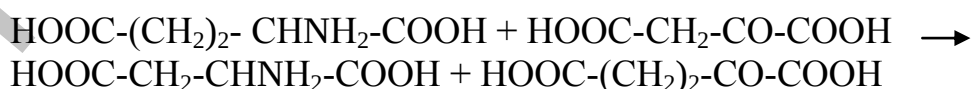
Большинство прокариот способны синтезировать все аминокислоты, входящие в состав их клеточных белков. Биосинтез аминокислот является примером связи процессов анаболизма и катаболизма. Предшественниками для синтеза аминокислот служат промежуточные продукты метаболизма, такие, как альфа-кетоглутаровая, щавелевоуксусная пировиноградная, 3-фосфоглицериновая кислоты и другие соединения. Источником азота обычно является аммиак или нитраты, нитриты, молекулярный азот.

Биосинтез аминокислот происходит различными путями. Наиболее простой путь – прямое аминирование кетокислот аммиаком. Так, альфа-кетоглутаровая кислота, взаимодействуя с аммиаком при участии фермента глутаматдегидрогеназы, образует глутаминовую кислоту:



Глутаминовая кислота служит донором аминогрупп при биосинтезе многих аминокислот и других азотсодержащих органических соединений. Подобным образом идет биосинтез аланина и аспарагиновой кислот.

В клетках гетеротрофных прокариот биосинтез аминокислот происходит в основном путем переаминирования аминокислот, поступающих из среды при участии ферментов аминотрансфераз.



Синтезируемые внутриклеточно аминокислоты полимеризуются в жизненно важные молекулы белков. Некоторые гетеротрофные прокариоты, например такие, как лактобациллы, не способны синтезировать все

аминокислоты, поэтому их рост возможен только на сложных обогащенных питательных средах.

**Биосинтез нуклеотидов.** Нуклеотиды являются исходным материалом для биосинтеза нуклеиновых кислот и многих ко-ферментов. По химической природе нуклеотиды – сложные соединения, состоящие из азотистых оснований – производных пурина или пиримидина, углеводов типа пентоз и фосфорной кислоты. Однако, несмотря на сложность химической природы, большинство прокариот способны синтезировать нуклеотиды, используя низкомолекулярные предшественники.

Основным звеном биосинтеза нуклеотидов считается синтез пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований. Начальной стадией синтеза пуриновых нуклеотидов является взаимодействие 5-фосфорибозил-1-пирофосфата с глутамином с образованием фосфорибозиламина. Затем в реакцию включаются другие соединения – предшественники – и ряд последовательных ферментативных реакций завершается образованием инозиновой кислоты – пуринового нуклеотида. Она служит исходным продуктом для синтеза других нуклеотидов – адениловой и гуаниловой кислот, необходимых для синтеза РНК.

Первым пиримидиновым нуклеотидом, синтезируемым из низкомолекулярных соединений, является оротидиловая кислота, которая декарбоксилируется с образованием уридилловой кислоты. Из последней путем аминирования образуется цитидиловая кислота-нуклеотид, содержащий цитозин, и путем ферментативного метилирования – тимидиловая кислота-нуклеотид, содержащий тимин.

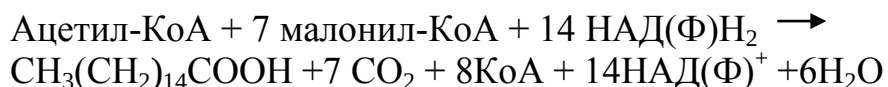
Многие прокариоты способны утилизировать содержащиеся в среде пуриновые и пиримидиновые основания и их нуклеозиды и нуклеотиды. Вновь синтезированные клеткой или усвоенные из среды нуклеотиды при участии РНК- и ДНК-полимераз полимеризуются в полинуклеотиды – молекулы РНК и ДНК.

### **Биосинтез липидов**

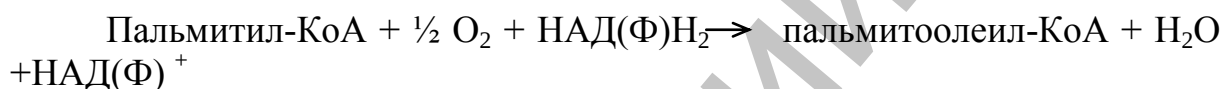
Липиды в клетке прокариот представлены химическими соединениями различной природы (триглицериды, фосфолипиды, гликолипиды, воска), выполняющими разные функции. Они входят в состав клеточных мембран, являются компонентами пигментных систем и транспорта электронов, выполняют роль запасных веществ. Исходными продуктами для биосинтеза липидов служат жирные кислоты, спирты, углеводы, фосфаты. Пути биосинтеза липидов сложны и протекают с затратой значительного количества энергии при участии многочисленных ферментов. Наиболее важны для жизнедеятельности клетки триглицериды и фосфолипиды.

Биосинтез жирных кислот с четным числом атомов углерода происходит в результате последовательного присоединения к молекуле ацетил-

КоА двууглеродного остатка от малонил-КоА. Так, при биосинтезе пальмитиновой кислоты 1 молекула ацетил-КоА конденсируется с 7 молекулами малонил-КоА:



Важную роль в реакциях биосинтеза жирных кислот играет ацилпереносящий белок (АПБ) – переносчик ацильных групп. Последовательное наращивание двууглеродных остатков через ряд промежуточных продуктов приводит к образованию C<sub>16</sub>-C<sub>18</sub>-соединений. В клетках прокариот компонентами липидов могут являться ненасыщенные жирные кислоты, содержащие одну двойную связь. Образование двойной связи у аэробных микроорганизмов происходит при участии кислорода и специфического фермента десатуразы. Например, пальмитоолеиновая кислота образуется из пальмитил-КоА:



У анаэробных микроорганизмов образование двойной связи происходит на ранней стадии биосинтеза молекулы жирной кислоты в результате реакции дегидратации.

Исходным субстратом для синтеза фосфолипидов служит фосфодиоксиацетон – промежуточное соединение гликолитического цикла. Восстановление его приводит к образованию 3-фосфоглицерина, который, соединяясь с двумя остатками жирных кислот, продуцирует фосфатидную кислоту. Присоединение к ее фосфатной группе серина, инозина, этаноламина, холина заканчивается синтезом фосфатидилсерина, фосфатидилинозита, фосфатидилхолина, фосфатидилэтанолamina.

Биосинтез органических соединений подробно изучается в курсе биохимии.

### **Прокариоты и окружающая среда**

- 1. Влияние физических и химических факторов среды на бактерии.**
- 2. Взаимоотношения микроорганизмов.**
- 3. Антибиотики.**
- 4. Взаимоотношения микроорганизмов с растениями.**
- 5. Взаимоотношения микроорганизмов с человеком и животными.**
- 6. Иммуитет. профилактика инфекционных болезней.**

### **Влияние физических и химических факторов среды на бактерии**

Микроорганизмы встречаются в самых неподходящих, на наш взгляд, экологических нишах. Так, некоторые виды бактерий (*Bacillus submarinus*) способны жить в океанах на глубине более 5000 м, выдержи-

вая гидростатическое давление свыше  $3,1\text{--}10^8$  Па, экстремально термофильные бактерии *Thermus aquaticus* выделяются из воды и илов горячих источников, температура которых достигает  $92^\circ\text{C}$ , крайние галофильные бактерии обнаружены в воде Мертвого моря.

Определенные факторы среды могут различно влиять на микроорганизмы, действовать на них угнетающе либо вызывать гибель микробной популяции. Положительный или отрицательный эффект действующего фактора обусловлен как природой самого фактора, так и свойствами микроорганизма.

**Влажность.** Наличие влаги обуславливает уровень процессов метаболизма в клетке, поступление в нее веществ питательного субстрата, энергию роста и размножения бактерий.

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. Использование высушивания применяется при хранении пищевых продуктов.

Часто и в условиях глубокого иссушения бактерии сохраняют жизнеспособность. Так, микобактерии туберкулеза сохраняют жизнеспособность в высохшей мокроте больного более 10 месяцев, споры бацилл сибирской язвы в сухом состоянии выживают до 10 лет. Метод *сублимаций* (высушивания) в настоящее время широко применяется для длительного хранения живых вакцин против туберкулеза, чумы, оспы, гриппа, а также для содержания производственных и музейных культур микроорганизмов.

**Температура.** Жизнедеятельность прокариот непосредственно зависит от температурного диапазона. Он характеризуется тремя кардинальными точками: минимальная температура, ниже которой прекращается рост и развитие бактерий; оптимальная температура, соответствующая наивысшей скорости роста микроба, максимальная температура, выше которой скорость роста бактерий практически снижается до нуля. На основании температурного диапазона все прокариоты подразделяются на 3 группы: психрофилы, мезофилы и термофилы.

*Психрофилы* (от греч. *psychros* – холод, *phileo* – люблю) представлены бактериями, развивающимися при низких температурах от  $-5$  до  $20\text{--}35^\circ\text{C}$ . Среди них выделяют подгруппу облигатных психрофилов, неспособных расти при температуре выше  $20^\circ\text{C}$ . Это бактерии глубоких озер, северных морей и океанов. Вторую весьма обширную подгруппу составляют факультативные психрофилы – бактерии, приспособившиеся к действию переменных температур от  $-5^\circ\text{C}$  до  $20\text{--}35^\circ\text{C}$ , населяют зону умеренного климата.

Низкие температуры замедляют в клетке процессы метаболизма, на этом основано использование холодильников, погребов и ледников для



хранения пищевых продуктов. Многие микроорганизмы в толще природных льдов способны пребывать в состоянии анабиоза «захороненными» до 12000 лет.

*К мезофилам* (от греч. mesos – 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.

*Термофилы* (от греч. thermos – тепло, жар) составляют разнообразную группу бактерий, растущих в температурном диапазоне от 10 до 55–60° С. Факультативные термофилы, одинаково успешно развиваются как при температуре 55–60° С, так и при 10–20° С, и облигатные термофилы, не способные к росту при температуре ниже 40° С. Экстремальные термофилы живут при температуре выше 70° С. Они выделены из горячих источников и отнесены к родам Thermomicrobium, Thermus, Thermothrix и др. Особую стойкость к высокой температуре проявляют споры бактерий, выдерживающие температуру кипения в течение двух-трех часов.

**Лучистая энергия.** Различные виды излучений по разному влияют на бактерии. Инфракрасное излучение (длины волн от 760 нм до 400 мкм) не способно вызвать какие-либо существенные фотохимические изменения в живых клетках. Рентгеновские лучи (длины волн менее 10 нм) ионизируют макромолекулы живых клеток. Возникающие фотохимические изменения вызывают развитие мутаций либо гибель клетки. Отдельные виды бактерий обладают поразительной устойчивостью к действию рентгеновских лучей. Это тионовые бактерии, обитающие в залежах урановых руд, а также бактерии Micrococcus radiodurans, выделяемые из воды атомных реакторов при дозе ионизирующего излучения в 2–3 млн. рад.

Видимый свет (длины волн от 380 до 760 нм) оказывает благоприятное влияние только на развитие фотосинтезирующих бактерий.

Сильным эффектом обладают ультрафиолетовые лучи с длиной волны 253,7 нм. На бактерицидном действии ультрафиолетовых лучей на бактерии основано использование их для обеззараживания продуктов питания, питательных сред, посуды, а также дезинфекции палат, операционных, помещений родильных домов.

**Ультразвук.** Ультразвук – высокочастотные колебания звуковых волн (более 20000 Гц). Ультразвук оказывает мощное бактерицидное действие на прокариоты. Сила этого действия зависит от частоты колебаний, длительности воздействия, а также от физиологического состояния и индивидуальных особенностей микроорганизма. При длительном озвучивании микробной культуры наблюдается 100%-ный летальный эффект.

Действие ультразвука заключается в необратимых физико-химических изменениях компонентов микробной клетки и механических повреждениях всех клеточных структур. В настоящее время ультразвук

применяют для стерилизации пищевых продуктов, лабораторного оборудования и вакцин.

**Реакция среды.** Реакция среды является одним из важных факторов, определяющих развитие бактерий, влияет на растворимость веществ питательного субстрата и поступление их в клетку. Изменение реакции среды нередко сопровождается повышением концентрации токсических соединений.

Прокариоты по отношению их к кислотности среды могут быть разделены на несколько групп. Подавляющее большинство их относятся к *нейтрофилам*, для которых оптимальна нейтральная среда. В этой группы многие бактерии способны проявлять кислотоустойчивость или щелочустойчивость.

Среди прокариот имеются *ацидофилы*, развивающиеся в кислой среде со значением pH 2–3. К умеренным ацидофилам относятся бактерии, обитающие в воде кислых болот и озер, а также в кислых почвах при pH 3–4. Крайними ацидофилами являются бактерии родов *Thiobacillus* и *Sulfomonas*, а также *Thermoplasma acidophila*.

*Алкалофильные* бактерии существуют в щелочной среде. К алкалофильным бактериям относятся представители рода *Bacillus* и холерный вибрион, размножение которого возрастает при значении pH выше 9.

На отрицательном влиянии повышенной кислотности среды на большинство микроорганизмов основано применение маринадов.

**Кислород.** Большинство прокариот для жизнедеятельности нуждаются в кислороде и носят название *облигатных (строгих) аэробов*.

Облигатные аэробы способны выдерживать концентрацию кислорода порядка 40–50%. Бактерии, для которых молекулярный кислород необходим в незначительных количествах – не более 2%, получили название *микроаэрофилов*.

Вторую 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 **кислорода**. К ним относятся представители родов *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Fusobacterium* и др.

Многие виды маслянокислых бактерий проявляют устойчивость к молекулярному кислороду и носят название *аэротолерантных*. Примером аэротолерантов являются бактерии рода *Clostridium*. Особую аэротолерантность проявляют эндоспоры маслянокислых бактерий. Прокариоты, способные расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях и переключать свой энергетический метаболизм с одного способа получения энергии на другой, получили название *факультативных аэробов* или *факультативных анаэробов*. Примером факультативных анаэробов являются денит-

рифицирующие и десульфифицирующие бактерии, а также обширная группа энтеробактерий.

**Антисептики.** Химические соединения, оказывающие губительное действие на микроорганизмы, получили название *антисептиков*.

Действие антисептика на бактерии может быть *бактериостатическим* или *бактерицидным*. Бактериостатическое действие лишь прекращает рост и размножение микробных клеток; бактерицидное – вызывает гибель бактерий, что нередко сопровождается лизисом клеток. Получаемый эффект зависит от самой природы химических соединений, их концентрации, от продолжительности действия антисептика на микроорганизмы, а также от сопутствующих факторов среды – температуры, величины pH и т.д.

Антисептики представлены различными органическими и неорганическими соединениями. Из неорганических соединений сильными антисептиками являются соли тяжелых металлов – ртути (сулема), свинца, серебра, цинка и др. Соли ртути, серебра, мышьяка проявляют сильное ингибирующее действие на ферменты микробной клетки. Даже в незначительных концентрациях 1:1000 соли тяжелых металлов вызывают гибель большинства бактерий в течение нескольких минут.

Из органических соединений антисептическим действием обладают этиловый и изопропиловый спирты (70%-ные растворы), фенол, крезол и их производные, формальдегид. Особенно широкое применение находит фенол (карболовая кислота). Большинство микробов погибают от действия 1–5%-ного раствора карболовой кислоты. Сильным антисептиком является формальдегид.

### **Взаимоотношения микроорганизмов**

Совместное существование различных организмов получило название *симбиоза*, в широком смысле слова – сожительства. Симбиотические отношения можно подразделить на *конкурентные* и *ассоциативные*.

**Ассоциативные взаимоотношения.** Ассоциативные взаимоотношения микроорганизмов осуществляются в виде метабиоза, симбиоза, комменсализма, сателлизма.

*Метабиоз* – взаимоотношения, при которых один микроорганизм своей жизнедеятельностью создает условия для развития другого. Аммонифицирующие бактерии разлагают органические азотсодержащие соединения с образованием аммиака, создают тем самым субстрат для развития нитрификаторов. Нитрифицирующие бактерии окисляют аммиак до нитритов и нитратов, служащих акцепторами электронов при нитратном дыхании денитрифицирующих бактерий. Именно метабиотические отношения микроорганизмов лежат в основе круговорота основных биогенных элементов в природе.

*Симбиоз* в узком смысле слова подразумевает тесные ассоциативные взаимоотношения микроорганизмов, стимулирующих и поддерживающих развитие друг друга. Симбионты совместно всегда развиваются лучше, чем

каждый из них в отдельности. Иногда симбиоз становится настолько глубоким, что организмы утрачивают способность развиваться самостоятельно, например молочнокислые бактерии и дрожжи, образующие кефирные зерна.

*Комменсализм* проявляется взаимоотношением, при котором взаимная польза совместно существующих микроорганизмов не выражена отчетливо, но они и не причиняют вреда друг другу. Примером может служить нормальная микрофлора кишечника человека и животного.

*Сателлизм* – разновидность ассоциативных взаимоотношений, предусматривающая стимуляцию одного микроорганизма другим. Так, дрожжевые грибы и сарцины, продуцирующие различные аминокислоты и витамины, очень часто способствуют росту и размножению других, более требовательных к питательному субстрату бактерий, молочнокислых или уксуснокислых.

**Конкурентные взаимоотношения.** Конкурентные взаимоотношения микроорганизмов проявляются в разной форме. Это отношения *антагонизма*, при котором один микроорганизм своей жизнедеятельностью подавляет развитие другого. Открытие явления антагонизма принадлежит Л. Пастеру (1877), описавшему гибель возбудителя сибирской язвы в совместной культуре его с синегнойной палочкой. Идею использования антагонизма микробов на благо медицины впервые высказал И.И. Мечников. Он пропагандировал использование молочнокислых бактерий (болгарской палочки) для нормализации микрофлоры кишечника и подавления гнилостных микробов.

Разновидностью активных антагонистических отношений является *антибиоз*, в основе которого лежит выделение одним микроорганизмом вещества, токсичного для другого. Именно на этом свойстве микроорганизмов основано применение арсенала современных антибиотических препаратов.

Крайнее проявление конкурентных взаимоотношений микроорганизмов выражает *паразитизм*. При паразитизме один микроорганизм использует другого как источник питательного субстрата, что нередко сопровождается гибелью жертвы. В 1963 г. Г. Штольп и М. Старр впервые описали бактерию-паразита *Bdellovibrio bacteriovorum*. Этот микроб паразитирует на многих грамположительных и грамотрицательных бактериях. *Bdellovibrio* внедряется в клетку, через 3–5 ч в клетке образует 20–50 клеток-паразитов. Клетка бактерии-жертвы лизируется, освобождая поколение паразита в среду. Бактерии рода *Bdellovibrio* широко распространены в природе – в почве, в морских и пресноводных водоемах.

### **Антибиотики**

*Антибиотики* – высокоактивные метаболиты микроорганизмов, избирательно подавляющие рост многих бактерий, единичных вирусов и некоторых опухолей.

Продуцентами антибиотических веществ являются актиномицеты, плесневые грибы и бактерии. Большая часть антибиотиков, вошедших в клиническую практику, получена из актиномицетов (стрептомицин, левомицетин, тетрациклины, канамицин, эритромицин, нистатин и др.). Продуцентами пенициллинов и цефалоспоринов являются плесневые грибы рода *Penicillium* и рода *Cephalosporium*. Такие антибиотики, как грамицидин С и полимиксины, выделены из бактерий *Bacillus brevis* и *Bacillus polymyxa*.

Механизм действия антибиотиков на микроорганизмы различен. Некоторые из них (пенициллины, цефалоспорины) подавляют синтез пептидогликана клеточной стенки бактерий. Другие антибиотики (грамицидин, нистатин, леворин, нолимиксины) нарушают жизненно важные функции цитоплазматической мембраны. Ряд антибиотиков (стрептомицин, тетрациклин, канамицин, гентамицин, левомицетин) выступают в роли ингибиторов синтеза белков на рибосомах бактериальной клетки. В последнее время созданы новые антибиотики «резерва» (новобиомицин, митомицин С и порфирамицин), способные непосредственно подавлять репликацию ДНК и синтез РНК бактериальной клетки.

По характеру антимикробного эффекта выделяют антибиотики узкого и широкого спектра действия. Антибиотики с узким спектром действия, например пенициллины, подавляют рост грамположительных кокков и бактерий, грамотрицательных кокков и спирохет, но не действуют на кислотоустойчивые и грамотрицательные бактерии, микоплазмы, риккетсии и простейших. Антибиотики широкого спектра действия, например тетрациклины, подавляют рост многих грамположительных, грамотрицательных и кислотоустойчивых бактерий, а также рост риккетсий, хламидий и микоплазм.

За единицу действующего начала антибиотика (1 ЕД) принимают наименьшее количество препарата, подавляющего рост стандартного штамма тест-микроба. Для большинства антибиотиков 1 ЕД обычно соответствует 1 мкг химически чистого препарата, однако для пенициллинов 1 ЕД равна 0,6 мкг натриевой соли бензилпенициллина. В качестве тест-микроба для пенициллинов служит *Staphylococcus aureus*, для стрептомицина и ряда других антибиотиков – *Escherichia coli*.

До настоящего времени антибиотики в основном производят биологическим путем, выращивая активные штаммы продуцентов на питательной среде. Дальнейшая технология производства заключается в очистке и концентрировании препарата, а также обязательной проверке его на токсичность к макроорганизму и активность к тест-микробу. Лишь для некоторых антибиотиков разработан химический синтез, например для левомицетина и синтомицина.

Эра антибиотикотерапии началась в годы второй мировой войны (1942–1943), когда было осуществлено промышленное производство пенициллина в США Г. Флори и параллельно в СССР З.В. Ермольевой. Сегодня

растет число антибиотикорезистентных микроорганизмов. Так, частота обнаружения пенициллиноустойчивых стафилококков составляет уже 72–83%; устойчивость стафилококков к стрептомицину достигает 60–70%.

Антибиотикорезистентность, то есть устойчивость бактерий к антибиотикам, обусловлена мутациями в генах, кодирующих синтез белков, веществ клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и других структурных компонентов бактериальной клетки. У некоторых микроорганизмов антибиотикорезистентность является врожденной, что объясняется отсутствием у них «мишени» для действия данного антибиотика. Так, микоплазмы неуязвимы для пенициллинов, так как лишены клеточной стенки, синтез компонентов которой подавляют антибиотики данной группы. Появлению антибиотикорезистентности способствует широкое и часто бесконтрольное применение лекарственных препаратов без достаточного на то основания, а также использование их в качестве добавок в корма животных для усиления их роста.

Антибиотики дают различные побочные действия на организм человека. Установлено, что длительное лечение стрептомицином приводит к снижению слуха, прием левомецетина подавляет функцию кроветворных органов, тетрациклины вызывают расстройство функций печени и кишечного тракта. Введение многих антибиотиков нередко сопровождается аллергическими реакциями макроорганизма – от дерматитов до шокового состояния. Бесконтрольный прием антибиотиков может привести к дисгармонии в развитии нормальной микрофлоры организма человека, к расцвету грибной микрофлоры, вызывающей микозы. Используют назначение антибиотиков широкого спектра действия с противогрибковым препаратом, таким, как нистатин или леворин.

На сегодняшний день антибиотики являются наиболее сильными по действию лекарственными препаратами, но применение их целесообразно лишь в серьезных случаях, когда не помогают сульфамиды.

К веществам легкого антибиотического действия относятся фитонциды, выделяемые растениями (луком, чесноком, хреном), а также некоторые препараты животного происхождения (лизоцим, эритроин, экомоллин).

К настоящему времени выделено свыше 2000 различных антибиотических веществ. Перспективным является направление создания химической модификации имеющихся антибиотиков, включающих активные группы, стойкие к действию ферментов бактериальной клетки. Примерами таких препаратов служат полусинтетические пенициллины – метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин.

### **Взаимоотношения микроорганизмов с растениями**

**Микрофлора ризосферы.** Растения являются хорошей средой для обитания микроорганизмов. Корневая система и наземные органы растений обильно населены микроорганизмами. Микрофлору зоны корня принято подразделять на микрофлору ризопланов – микроорганизмы, непо-

средственно поселяющиеся на поверхности корня, и микрофлору ризосферы – микроорганизмы, населяющие область почвы, прилегающей к корню. Численность микроорганизмов в ризоплане и ризосфере в сотни и даже тысячи раз превышает содержание их в обычной почве.

На численность и групповой состав микрофлоры ризопланы и ризосферы оказывает влияние тип почвы, климатические условия, характер растительного покрова и стадия развития растений. Как правило, в динамике численности микроорганизмов ризопланы и ризосферы наблюдаются два максимума: первый приходится на фазу кущения растений, второй – на фазу цветения и начало плодоношения. Доминируют неспорообразующие бактерии рода *Pseudomonas* и некоторые микроскопические грибы, бациллы, актиномицеты, клетчаткоразрушающие бактерии, микобактерии. Процессы трансформации веществ в ризосфере обуславливают накопление в ней элементов минерального питания растений. Выделяемые бактериями кислоты способствуют растворению и усвоению растениями труднодоступных соединений, таких, как фосфаты кальция, силикаты калия и магния. Синтезируемые микроорганизмами витамины (тиамин, витамин B12, пиридоксин, рибофлавин, пантотеновая кислота и др.) и ростовые вещества (гиббереллин, гетероауксин) оказывают стимулирующее действие на ростовые процессы растений. Многие сапрофитные бактерии ризосферы являются антагонистами фитопатогенных микробов и выполняют роль санитаров в почве.

**Эпифитная микрофлора растений.** Микроорганизмы, развивающиеся на поверхности стеблей и листьев растений, получили название *эпифитной* микрофлоры. Состав эпифитной микрофлоры весьма специфичен. Большинство составляют бактерии *Ergwinia herbicola*. Второе место по численности занимают различные грибы (*Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* и др.). На поверхности многих тропических растений обнаружены азотфиксирующие бактерии рода *Beijerinckia*, поставляющие азот непосредственно в лист.

Разнообразная и обильная микрофлора находится на поверхности семян. В состав микрофлоры семян обязательно входят неспорообразующие бактерии *Pseudomonas*, *Arthrobacter* и *Flavobacterium*, дрожжи *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, а также грибы *Penicilium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor* и др. Развитие микроорганизмов на поверхности зерна в значительной мере зависит от влажности и температуры.

Считают, что эпифитная микрофлора образует определенный биологический барьер, препятствующий заражению растительных тканей фитопатогенными микробами.

**Фитопатогенные микроорганизмы.** Первое место среди фитопатогенных микробов принадлежит грибам, второе место занимают вирусы и бактерии и лишь небольшой процент болезней растений вызывают актиномицеты. Фитопатогенные микроорганизмы активно синтезируют гидролитические ферменты (пектиназы, целлюлазы, протеазы и др.), вызываю-

щие мацерацию растительных тканей и разрушение клеточных оболочек, что приводит к проникновению возбудителя болезни внутрь клетки, нарушают обмен, отравляют токсинами, что приводит ее к гибели.

Источниками заражения растений фитопатогенными микроорганизмами служат почва, вода и многие насекомые. Наибольшую опасность представляют инфицированный семенной материал и остатки больных растений в почве.

**Нормальная микрофлора человека и животных.** Совокупность микроорганизмов, приспособившихся к жизни в организме человека и животных и не вызывающих каких-либо нарушений физиологических функций макроорганизма, носит название *нормальной микрофлоры*.

Нормальную микрофлору человека и животных подразделяют на *облигатную* и *факультативную*. К облигатной микрофлоре относятся относительно постоянные сапрофитные и условно-патогенные микроорганизмы, максимально приспособленные к существованию в организме хозяина. Факультативная микрофлора является случайной и временной. Она определяется поступлением микроорганизмов из окружающей среды, а также состоянием иммунной системы макроорганизма.

Постоянными обитателями ротовой полости являются стрептококки, лактобациллы, коринебактерии, бактероиды, а также дрожжевые грибы, актиномицеты, микоплазмы и простейшие. К факультативным обитателям относятся энтеробактерии, спорообразующие бактерии и синегнойная палочка. Наличие *Escherichia coli* является показателем неблагополучного состояния ротовой полости.

Главную роль в поддержании качественного и количественного состава микроорганизмов в ротовой полости играет слюна, содержащая различные ферменты, обладающие антибактериальной активностью.

В желудке человека микроорганизмы почти отсутствуют. Иногда в желудке в незначительном количестве встречаются *Sarcina ventriculi*, *Bacillus subtilis* и некоторые дрожжи.

В тонком кишечнике обитает сравнительно мало бактерий ( $10^2$ – $10^3$ ), преимущественно аэробные формы. Зато в толстом кишечнике имеется колоссальное количество микробов, включающих более 260 разных видов факультативных и облигатных анаэробов. Основными обитателями толстого кишечника являются бактероиды, бифидобактерии, фекальный стрептококк, кишечная палочка, молочнокислые бактерии. Последние в кишечнике выступают в роли антагонистов гнилостной микрофлоры и некоторых патогенных микробов.

Из окружающего воздуха поступает масса микробов. Большая часть микроорганизмов задерживается в верхних дыхательных путях. Бронхи и альвеолы легких практически стерильны. В составе микрофлоры верхних дыхательных путей содержатся относительно постоянные микробы, представленные стафилококками, коринебактериями, стрептококками, бактероидами, капсульными грамотрицательными бактериями и др. Кроме бак-



терий в верхних дыхательных путях в течение длительного времени в латентном состоянии могут пребывать некоторые вирусы, в частности, аденовирусы.

Субстратом для питания бактерий на поверхности кожи служат выделения потовых и сальных желез, а также отмирающие клетки эпителия. Наиболее богата микроорганизмами кожа открытых частей тела – рук, лица, шеи. Подавляющая масса микроорганизмов кожи представлена сапрофитными бактериями – стафилококками, бациллами, микобактериями, коринебактериями и дрожжевыми грибами, и только в 5% анализов выделяется условно-патогенный микроб – золотистый стафилококк. При санитарно-бактериологических анализах обнаружение на поверхности кожи *Escherichia coli* свидетельствует о загрязнении ее фекалиями.

Нормальная микрофлора в организме человека и животных играет важную роль в формировании естественного иммунитета. Облигатные микроорганизмы, продуцирующие вещества типа антибиотиков, молочную кислоту, спирты, пероксид водорода и другие соединения, обладают ярко выраженными антагонистическими свойствами в отношении многих патогенных бактерий. Качественные и количественные нарушения в составе микробной флоры в организме человека получили название *дисбактериоза*. Дисбактериоз возникает чаще всего в результате длительного приема антибиотиков, а также при хронических инфекциях, радиации и действии экстремальных факторов. Развитие дисбактериоза объясняется подавлением облигатной микрофлоры макроорганизма.

**Патогенные микроорганизмы.** *Патогенными* (от греч. *patos* – болезнь) называются микроорганизмы, способные вызывать заболевания человека, животных и растений.

Степень патогенности выражается вирулентностью бактерий, измеряемой условно принятой единицей DLM (*Dosis letalis minima* – минимальная летальная доза). Одна DLM равна наименьшему количеству бактерий, способных вызвать в течение определенного времени гибель не менее чем 80–95% лабораторных животных.

Вирулентность связана с образованием *экзо- и эндотоксинов*, способностью к *инвазии* (проникновению в организм хозяина), формированием капсульной слизи, а также выделением *агрессинов* (веществ, подавляющих защитные силы организма).

Внедрение патогенных микробов, нарушающих физиологическое равновесие и физиологические функции организма, приводит к развитию *инфекции*. Общими наиболее типичными признаками инфекции являются воспаление, лихорадка, поражение нервной системы, нарушение сердечно-сосудистой и дыхательной функций, а при некоторых заболеваниях появление на кожной сыпи. В ходе инфекционного процесса возбудители из первичного очага могут поступать в кровь и разноситься по всему орга-

низму, что приводит к развитию *sepsis*. При благоприятном течении инфекционный процесс заканчивается выздоровлением.

**Иммунитет.** Защита организма от инфекционных и других генетически чужеродных для него агентов (микробов или их токсинов) получила название *иммунитета*. По происхождению различают *врожденный* и *приобретенный* иммунитет. Врожденный иммунитет является одним из видовых генетических признаков организма, передается по наследству. Так, человек невосприимчив к чуме собак и крупного рогатого скота, куриной холере. Животные не поражаются такими инфекциями человека, как гонорея, сифилис, брюшной тиф, скарлатина, корь и др. Врожденный иммунитет является естественной и наиболее совершенной и прочной формой защиты организма, так как он сформировался в процессе эволюции в ходе естественного отбора.

Приобретенный иммунитет формируется в процессе жизни организма и не передается по наследству. Он вырабатывается в организме после перенесенного заболевания или искусственного введения вакцины либо готовых антител. Приобретенный иммунитет является высокоспецифичным.

Одним из механизмов иммунитета является *фагоцитоз*. Значение фагоцитоза в иммунитете обосновано И.И. Мечниковым. Процесс фагоцитоза заключается в активном поглощении и переваривании чужеродного агента специализированными клетками организма, получившими название *фагоцитов*. Фагоцитарной активностью обладают микрофаги и макрофаги. К микрофагам относятся гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы). Среди макрофагов различают подвижные (моноциты крови, полибласты, гистиоциты) и неподвижные (клетки селезенки, лимфатической ткани, клетки Купфера печени) клетки.

Процесс фагоцитоза проходит в несколько стадий: 1) приближение фагоцита к чужеродному объекту; 2) захват объекта; 3) внутриклеточное ферментативное переваривание объекта фагоцитом. Фагоцитарная активность организма в значительной мере определяет его сопротивляемость инфекции.

Специфическим механизмом приобретенного иммунитета служит образование *антител* в ответ на внедрение в организм того или иного *антигена*. В роли антигенов выступают чужеродные для организма патогенные микробы, их токсины, а также белки, нуклеиновые кислоты, липиды, полисахариды и т.д. Антигены обладают способностью вызывать образование антител и вступать с ними в специфическое взаимодействие.

Антитела представляют собой иммуноглобулины – специфические гетерогенные белки с характерными химическими и биологическими свойствами. Для синтеза иммуноглобулинов необходима кооперация трех типов клеток в организме – Т- и В-лимфоцитов и макрофагов.

**Профилактика и терапия инфекционных заболеваний.** В профилактике инфекционных заболеваний исключительно важную роль играют вакцины. Термин «вакцина» происходит от латинского слова *vaccina*, что означает «корова». Первая вакцина против оспы получена в 1796 г.

Э. Дженнером из гнойников на коже руки доярки, ухаживавшей за коровами, больными коровьей оспой. По характеру вакцинного материала различают живые, убитые и химические вакцины.

Живые вакцины применяются для профилактики таких серьезных инфекционных заболеваний, как оспа, полиомиелит, бешенство, корь, паротит, грипп, сыпной тиф, сибирская язва, чума и др.

Убитые вакцины представляют собой суспензию убитых патогенных микроорганизмов в растворе хлорида натрия. Для инактивации вакцинных штаммов микроорганизмов применяют ультрафиолетовое облучение, ультразвук, химические вещества – формалин, фенол, спирт и др. Введение убитых вакцин, как правило, вызывает менее стойкий иммунитет организма. К эффективно действующим убитым вакцинам относятся вакцины против брюшного тифа, паратифа, холеры, коклюша, клещевого энцефалита и др.

Химические вакцины получают извлечение из клеток патогенных микроорганизмов антигенов, обладающих наиболее выраженными иммуногенными свойствами. В качестве химических вакцин практическое применение нашли О-антиген сальмонелл брюшного тифа и паратифов, Vi-антиген сальмонелл брюшного тифа, протективный антиген бацилл сибирской язвы.

К наиболее эффективно действующим относятся ассоциированные вакцины, вырабатывающие иммунитет организма сразу к нескольким заболеваниям. Примером такой ассоциированной вакцины является коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина (АКДС).

Для лечения инфекционных заболеваний современная медицина располагает арсеналом химических препаратов и антибиотиков.

Различают корпускулярные вакцины, содержащие ослабленные (аттенуированные) или убитые микроорганизмы и вирионы.

Некорпускулярные – содержат продукты химического расщепления микроорганизмов, обезвреженные яды, экзотоксины.

По числу антигенов различают моновакцины и ассоциированные поливакцины.

Синтетические – безбалластные, не обладают побочным токсическим действием, они конъюгируют с Т-зависимыми носителями, введены в адьюванты.

Рекомбинантные – искусственно созданные вакцины на основе рекомбинантных вирусов или микробов-химер, в геномы которых введены гены антигенов (вакцина против оспы и гепатита; вакцина против герпеса, гриппа А и стоматита).

Антиидиотипические вакцины – смесь моноклональных антител (используют гибридомы).

Иммунные сыворотки – жидкая часть плазмы крови без фибриногена: нормальные и иммунные; гомологичные (от человека) и гетерологические (от животных), по целям: диагностические и лечебно-профилактические (пассивный иммунитет).

## **Микрофлора воздуха, воды и почвы**

- 1. Микроорганизмы атмосферы.**
- 2. Санитарное состояние воздуха помещений.**
- 3. Вода природных источников.**
- 4. Роль микроорганизмов воды.**
- 5. Санитарно-бактериологические показатели питьевой воды.**
- 6. Микрофлора почвы. Почва как среда обитания микроорганизмов.**
- 7. Динамика численности микроорганизмов разных типов почв.**
- 8. Структура микробоценоза почвы.**

**Микроорганизмы атмосферы.** Воздух является неблагоприятной средой для развития микроорганизмов, так как в нем отсутствуют питательные вещества. Микроорганизмы, находящиеся в воздухе, подвергаются губительному действию солнечных лучей, высушиванию и нередко резким колебаниям температуры. Количественный и качественный состав микрофлоры воздуха зависит от степени загрязнения его пылью, копотью, дымом и другими минеральными и органическими взвешиваемыми. Наиболее обильна и разнообразна микрофлора воздуха нижних слоев тропосферы, находящихся непосредственно над поверхностью Земли. Верхние слои тропосферы, как правило, бедны микроорганизмами. Общеизвестно, что вынос микроорганизмов в стратосферу возможен только при вулканических извержениях и атомных взрывах.

Содержание микроорганизмов в воздухе колеблется в широких пределах: от нескольких клеток до десятков тысяч в  $1\text{ м}^3$  воздуха. Численность и видовой состав микрофлоры воздуха определяется рядом факторов: географической зоной, высотой над уровнем моря, сезонам года, метеорологическими условиями, характером местности.

Практически стерилен воздух полярных районов. Относительно чист воздух над морями и океанами. Наиболее загрязнен воздух над поверхностью суши, особенно в районах крупных промышленных центров.

Существенное влияние на микрофлору воздуха оказывает сезон года. Максимальная численность микроорганизмов в воздухе наблюдается летом в сухую погоду, минимальная зимой. Сезоны весны и осени занимают промежуточное положение.

Существенное влияние на качество воздуха современных промышленных центров оказывают зеленые насаждения. Установлено, что растения обладают удивительной пылеудерживающей способностью и многие из них выделяют фитонциды, губительно действующие на микробы.

Качественный состав микрофлоры воздуха нестабилен и в значительной мере зависит от местных источников загрязнения. Обычно при анализах микрофлоры воздуха в большом количестве выделяются пигментные сапрофитные бактерии рода *Micrococcus* (до 66 %), споровые формы рода *Bacillus* (до 25 %), а также актиномицеты и плесневые грибы.

Споры грибов и бактерий способны подниматься на значительную высоту – до 85 км и более. Многочисленные анализы атмосферного воздуха позволили идентифицировать 1200 видов различных бактерий актиномицетов.

### **Санитарное состояние воздуха помещений**

Санитарно-гигиеническое состояние воздуха помещений определяется двумя показателями:

микробным числом – содержанием общего числа микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup>;

числом санитарно-показательных бактерий – гемолитических стрептококков в 1 м<sup>3</sup> воздуха.

Особо строгие санитарные требования предъявляются к воздуху операционных, родильных домов, больничных палат и детских учреждений. Так, воздух операционных до начала операции должен содержать не более 500 микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> при отсутствии гемолитических стрептококков и стафилококков в 250 л воздуха, а при операциях на ЦНС микробное число должно быть не более 15–17.

Для дезинфекции воздуха помещений применяют бактерицидные лампы различной мощности. Облучение воздуха помещений бактерицидными лампами приводит к быстрой инаktivации и полной гибели вирусов и бактерий. Иногда для дезинфекции воздуха используют метод распыливания химических антисептиков – пропиленгликоля, триэтиленгликоля.

При разговоре, кашле и чихании из верхних дыхательных путей человека в воздух выделяется до 60000 капель бактериального аэрозоля, распространяющегося в радиусе 1–1,5 м. Крупные капли аэрозоля оседают со скоростью 30–48 см/с и находятся в воздухе менее 3 с. В процессе их испарения образуются так называемые ядрышки бактериальных капель размером около 2 мкм, которые распространяются путем диффузии и держатся в воздухе во взвешенном состоянии от нескольких часов до суток и более. Капельно-ядерная инфекция способна проникать в альвеолы легких человека и вызывать заболевания эпидемического характера.

Помимо воздушно-капельной инфекции патогенные микроорганизмы могут передаваться через воздух и воздушно-пылевым путем. В 1 г пыли в воздухе содержится до 1 млн. различных бактерий, в том числе и многие патогенные микробы. Воздушно-пылевым путем могут передаваться гноеродные стрептококки и стафилококки, микобактерии туберкулеза, бациллы сибирской язвы, бактерии туляремии, риккетсии ку-лихорадки, сальмонеллы.

На способности выживания микроорганизмов в воздушно-пылевых и воздушно-капельных аэрозолях основано применение аэрозольных вакцин, в частности противогриппозной вакцины. Способность выживания многих вирусов в каплях аэрозоля значительна. Например, вирус гриппа сохраняет вирулентность 4–9 ч, вирус орнитоза – более 24 часов. Главное условие успеха ингаляционной вакцинации заключается в строгом количественном учете дозы возбудителя, включенного в ядрышко бактериальной капли аэрозоля.

## **Вода природных источников**

В отличие от воздуха, вода содержит широкий спектр органических и минеральных компонентов питательного субстрата, определяющих развитие разнообразных групп микробного населения. В воде относительно слабо выражено бактерицидное действие солнечных лучей. Природные воды характеризуются весьма различными экологическими условиями по значению pH, температуре, растворимости кислорода, углекислого газа, по содержанию солей и т.д.

Природные воды по происхождению и характеру микрофлоры можно подразделить на три группы:

1) подземные, или ключевые, воды содержат минимальное количество микроорганизмов, не более 10 бактерий в 1 мл. Практическая стерильность ключевых вод объясняется естественной фильтрацией их через толщу почвы;

2) атмосферные воды осадков – дождя и снега – также имеют незначительное количество микроорганизмов, до 10 микробных клеток в 1 мл, если они проходят через слой воздуха, лишенной пыли. Воды осадков, выпавших над промышленными центрами, сильно загрязнены и нередко содержат сотни микроорганизмов в 1 мл;

3) поверхностные слои воды рек, озер, прудов, водохранилищ, морей и океанов обильно населены разнообразными микроорганизмами. Типичными представителями водной микрофлоры являются зеленые и пурпурные бактерии, железобактерии, бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Caulobakter*, *Spirillum*.

Численность и качественный состав микрофлоры воды зависят от степени и характера загрязнения водоема.

Для экологической характеристики загрязнения водоемов введены понятия трех зон сапробности:

1) полисапробная зона. В этой зоне в большом количестве содержится разнообразный органический опад животных и растений, органика бытовых и промышленных вод. В такой же воде ярко выражены процессы анаэробного сбраживания высокомолекулярных органических соединений, сопровождающиеся выделением сероводорода, аммиака, метана. Вода полисапробной зоны содержит более 1 млн. бактерий в 1 мл, в ней преобладают анаэробные виды бактерий рода *Clostridium* и выделяют бактерии кишечной группы;

2) мезосапробная зона. Для этой зоны характерны процессы минерализации органических веществ с преобладанием аэробного окисления. Зона делится на две подзоны  $\alpha$  и  $\beta$ , которые различаются интенсивностью процессов окисления. Вода мезосапробной зоны альфа содержит от 100 тыс. до 1 млн. бактерий в 1 мл. В воде мезосапробной зоны бета окислительные процессы идут более интенсивно и заканчиваются полной ми-

нерализацией органических веществ. Вода этой зоны содержит от 1 тыс. до 100 тыс. бактерий в 1 мл;

3) олигосапробная зона. В этой зоне преобладают процессы окисления нитритов в нитраты, соединений железа. Количество бактерий в воде этой зоны незначительно – десятки или сотни, но не более 1 тыс. в 1 мл. Бактерии кишечной группы отсутствуют.

Санитарное состояние водоемов определяется коли-индексом – количеством бактерий группы кишечной палочки в 1 л воды. Чистая вода содержит до 10 микроорганизмов в 1 мл воды, слабозагрязненная – от 11 до 100; загрязненная – от 101 до 1000, а сильно загрязненная – от 1001 до 10000 клеток микроорганизмов.

Наличие бактерий этой группы указывает на загрязнение воды фекальными массами и возможную опасность возникновения острых кишечных инфекций дизентерии, брюшного тифа, холеры и т.д. Многие патогенные микроорганизмы долгое время сохраняют в воде свою вирулентность.

### **Роль бактериальной микрофлоры водоемов**

В наш век промышленного прогресса на природные водоемы земного шара ложится существенная антропогенная нагрузка. Наибольшая антропогенная нагрузка приходится на реки, протекающие через крупные населенные пункты. Вода таких рек содержит сотни тысяч – миллионы бактерий в 1 мл.

Помимо антропогенных загрязнений, водоемы обогащаются органикой и соответственно микроорганизмами при вымывании их из почвы. Максимальная численность бактерий приходится на весну и лето, минимальная на зимний период.

Бактериальная микрофлора водоема осуществляет процессы деструкции органических веществ отмирающего фито- и зоопланктона, а также различного рода органики, поступающей в водоемы с водосборной площади. Минерализация органического питательного субстрата сопровождается продукционным процессом – накоплением бактериальной массы. Общее число бактерий в пресном водоеме составляет 3–6 млн. в 1 см<sup>3</sup>, а их биомасса 2–8 г/м<sup>3</sup>. При внесении в пруд органических удобрений биомасса бактерий может значительно увеличиваться – до 30 г/м<sup>3</sup>.

Бактериальный планктон в пресноводных водоемах представляет собой не менее важный компонент естественной кормовой базы.

Установлено, что многие массовые виды пресноводного зоопланктона могут удовлетворять свои пищевые потребности исключительно за счет питания бактериями. В свою очередь, интенсивно развивающийся зоопланктон служит основным источником питания для рыб. Роль бактериальной микрофлоры в пресноводных водоемах заключается в вовлечении энергии, содержащейся в веществах органического опада, в трофическую цепь, связывающую все микро- и макроорганизмы водоема.

В морских водоемах умеренной зоны наблюдаются сезонные сукцессии продуктивности фито- и бактериопланктона, подобные сукцессиям, происходящим в озерах. В сезоны весны и осени биомасса фитопланктона в морях умеренных широт достигает максимальных величин – около  $10 \text{ г/м}^3$ . Однако ввиду недостатка фосфатов и нитратов масса фитопланктона быстро отмирает и служит питательным субстратом для развития гетеротрофных бактерий. В разгар гетеротрофной фазы к середине лета число бактерий составляет 3–5 млн./см<sup>3</sup> при биомассе 2–3 г/м<sup>3</sup>. Биомасса фитопланктона при этом оказывается минимальной – в среднем 0,1–0,2 г/м<sup>3</sup>. В сезон лета бактерии служат основным источником питания микрозоопланктона и в морях.

Помимо трофической функции, бактериальная микрофлора играет важную роль в круговороте биогенных элементов, а также в формировании химического состава морской воды и донных отложений.

Не менее важна роль микроорганизмов в процессах самоочищения воды.

При спуске большого количества сточных вод, несущих органические загрязнения, в водоеме резко возрастает численность сапрофитных бактерий. Данная группа микроорганизмов осуществляет процессы минерализации органического сброса и в силу своего антагонистического действия вызывает быстрое отмирание патогенных микробов.

На смену гетеротрофной группе бактерий развиваются хемолитотрофы, ведущие дальнейшее окисление веществ субстрата. При этом в водоеме постепенно восстанавливаются нормальные экологические условия для жизни его фауны и флоры. Развитие растений стимулирует процессы микробиологического окисления, обогащая воду кислородом в процессе фотосинтеза.

Естественные водоемы обладают значительной способностью к самоочищению, но возможности любого водоема не беспредельны. При постоянном увеличении объема сточных вод может наступить момент, когда микрофлора водоема окажется не способна переработать поступающую массу органических загрязнений. Накопление органического сброса неизбежно приведет к нарушению экосистемы водоема, а в дальнейшем к гибели его фауны и флоры.

Охрана стабильных экосистем водоемов земного шара должны стать делом всех народов мира, так как «в океане нет национальных вод, океан непрестанно движется. Можно нанести на карту и поделить между государствами неподвижное морское дно, но не воду над этим дном».

**Санитарные показатели питьевой воды.** Питьевая вода должна быть безопасной в эпидемическом отношении и безвредной по химическому составу. По содержанию общего числа бактерий в 1 мл выделяют следующие характеристики питьевой воды:

|                      |                         |
|----------------------|-------------------------|
| Чистая               | – до 100 бактерий       |
| Сомнительной чистоты | – 100–500 бактерий      |
| Загрязненная         | – 500 и более бактерий. |



Санитарными показателями питьевой воды служат коли-титр и коли-индекс. Коли-титром называется наименьший объем воды в миллилитрах, содержащий одну клетку кишечной палочки. Для водопроводной воды коли-титр должен быть не менее 300 мл, а коли-индекс не более 2–3 клеток в 1 л (табл. 6).

Таблица 6

**Санитарно-бактериологические показатели питьевой воды**

| Вода                                                                      | Общее число бактерий в 1 мл | Коли-индекс (число клеток БГКП <sup>1</sup> в 1 л воды) | Коли-титр (число мл воды, содержащих 1 клетку БГКП) |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Водопроводная                                                             | Не более 100                | не более 3                                              | не менее 300                                        |
| Колодезная и родниковая                                                   |                             | не более 10                                             | не менее 100                                        |
| Минеральная                                                               | Не более 100                | не более 3                                              | не менее 300                                        |
| Плавательных бассейнов                                                    | Не более 100                | не более 10                                             | не менее 100                                        |
| Водоема для забора в водопровод с полной системой очистки и хлорированием | —                           | не более 10000                                          | не менее 0,1                                        |

<sup>1</sup>БГКП – бактерии группы кишечной палочки

Современная система очистки воды на водопроводных станциях предусматривает ряд операций. При заборе воды из естественного водоема (реки, озера, водохранилища) прежде осуществляется механическая очистка от грубых взвесей на системе решеток и мелких сеток. Далее вода проходит химическую обработку, включающую обеззараживание, удаление запахов и осветление. Обеззараживание воды осуществляется введением в нее жидкого или газообразного хлора в таком количестве, чтобы после полного насыщения им органики и микроорганизмов в воде оставалось свободного хлора не менее 0,3–0,5 мг/л после 30 мин контакта. Удаление запахов воды достигается введением в нее 20–25 %-ого раствора аммиака. Для осветления воды вводят коагулянты – соли алюминия или железа. Последние вступают в реакцию с углекислыми солями воды; образующиеся хлопья гидроокисей алюминия и железа выпадают в осадок, адсорбируя на своей поверхности до 80 % взвесей и микроорганизмов. После химической обработки вода из отстойников поступает на систему фильтров, состоящих из дренажных труб, гравия и песка толщиной не менее 2,5 м. За время фильтрации вода полностью освобождается от оставшихся взвесей и микроорганизмов.

В зависимости от благоустройства населенного пункта в сутки для хозяйственно-бытовых нужд населения очищается 150–500 л воды из расчета на каждого человека.

В масштабе планеты по данным Всемирной организации здравоохранения на 1980 г. 2 млрд. жителей развивающихся стран лишены возможности пользоваться питьевой водой. Инфекционные заболевания, передаваемые через воду, ежегодно уносят 10 млн. человеческих жизней. Генеральной Ассамблеей ООН в ноябре 1980 г. настоящее десятилетие объявлено «Десятилетием водоснабжения». Глобальной задачей является обеспечение безопасной питьевой водой и надлежащими санитарно-гигиеническими сооружениями всех людей планеты. Правительствам развивающихся стран предложено в национальных программ развития уделять должное внимание вопросам водоснабжения и санитарии.

Качество воды в нашей стране регламентировано ГОСТ 18963-73, ГОСТ 173303-77, ГОСТ 2874-82. Согласно последнему ГОСТ, вода скважин отвечает следующим требованиям: микробное число – 100, коли-титр – 500 мл и более, коли-индекс – 2 и менее; в водопроводной воде эти показатели соответственно: 100, 333, 3; в воде открытых водоемов и колодцев – 1000, 111, 9.

### **Микрофлора почвы**

Одной из главных функций микроорганизмов является создание почвы, являющейся важнейшей средой обитания для них. Почва приобрела в процессе эволюции свойства живой системы, возможно, еще не до конца познанной человеком, извлекающим из нее многочисленные богатства. Самые плодородные почвы (черноземы) содержат в 1 грамме до нескольких миллиардов микробов. Почва является основным источником микробного обсеменения воды и воздуха, а также резервуаром многих патогенных для человека и животных микроорганизмов. В почве наиболее устойчивы споровые формы сибирской язвы, столбняка, ботулизма и газовой гангрены. Поступают в почву многие микроорганизмы вместе с отходами, при захоронениях и т.п. Наиболее богат микробными клетками слой почвы на глубине 15–20 см. На большой глубине в материнских породах (2–3 м) микробов нет.

Почва является важнейшим компонентом любого биогеоценоза, а следовательно, и биосферы в целом. Плодородие почвы в значительной мере определяет продуктивность естественных ценозов и агроценозов и зависит от жизнедеятельности организмов, ее населяющих. Подчеркивая роль биологических процессов в формировании плодородия почвы, академик Б.Б. Полынов писал: «Скудна жизнь, скудна и почва».

Основы учения о почве заложены трудами выдающихся русских ученых: В.В. Докучаева, В.И. Вернадского, Б.Б. Полынова, С.П. Костычева, В.Р. Вильямса и др. В.В. Докучаев определил почву как особое природное

тело, развивающееся под влиянием ряда факторов – материнской породы, климата, рельефа местности, возраста почвообразовательного процесса, а также жизнедеятельности растительных организмов. Он первый обратил внимание на роль микроорганизмов в почвообразовательном процессе.

Современный уровень наших знаний о почве и ее обитателях свидетельствует о главенствующей роли микроорганизмов в процессах минерализации органических веществ, происходящих в почве и определяющих круговорот основных биогенных элементов в природе.

**Почва как среда обитания микроорганизмов.** Почва является средой обитания для макро- и микроорганизмов. Для макроорганизмов почва выступает как целостная среда обитания. Для микроорганизмов почву следует рассматривать как сложную гетерогенную систему с резко различными условиями обитания в каждом отдельном микролокусе.

Подавляющая масса микроорганизмов почвы (до 80–90%) находятся в адсорбированном состоянии на поверхности почвенных агрегатов, корней растений или веществах органического опада. Большая часть микроорганизмов пребывает в почве в неактивном состоянии – в виде эндоспор, микроцист, покоящихся вегетативных клеток. Вся масса микроорганизмов составляет так называемый *пул* почвы или **микробный запас**. Роль пула почвы заключается в поддержании *гомеостаза* – равновесного состояния данного микролокуса по содержанию органических и минеральных веществ, гумуса, физиологически активных веществ и т.п.

Структура каждого **микролокуса** почвы гетерогенна и включает три фазы: твердую, жидкую и газообразную.

Твердая фаза почвы представлена в основном минеральными компонентами, а также органическими соединениями.

На твердой фазе почвы адсорбирована основная масса микроорганизмов. Адсорбированное состояние обеспечивает микроорганизмам непосредственный контакт с питательным субстратом, предотвращает их вымывание, повышает устойчивость к неблагоприятным условиям среды.

Жидкую фазу почвы составляет почвенный раствор, поднимающийся по капиллярам. Из почвенного раствора микроорганизмы усваивают воду и питательные вещества. В клетках большинства микроорганизмов осмотическое давление составляет 3–5 мПа, при среднем значении влажности почвы 40–60 % от полной влагоемкости.

Содержание воздуха в почве зависит от ее структуры и влажности. Газовый состав почвенного воздуха существенно отличается от атмосферного. Содержание  $\text{CO}_2$  и  $\text{O}_2$  в почвенном воздухе определяет соотношение аэробных и анаэробных форм микроорганизмов в структуре микробсообщества.

Микробиологические процессы, происходящие в почве, оказывают существенное влияние на газовый состав атмосферы.

Из внешних факторов окружающей среды на развитие почвенной микрофлоры влияют температура, кислотность почвенного раствора, степень засоления, механический состав почвы и др.

### **Динамика численности микроорганизмов различных типов почв**

Прежде чем рассмотреть вопрос о динамике численности микроорганизмов почвы, рационально определить основные группы почвенной микрофлоры:

Сапрофитные микроорганизмы, ведущие процессы минерализации веществ органического опада, С. Н. Виноградский предложил назвать *зимогенной* микрофлорой.

Микроорганизмы, разлагающие гумус почвы, С.Н. Виноградским названы *автохтонной* микрофлорой.

Микроорганизмы, развивающиеся за счет минимальных концентраций органических веществ, завершающие минерализацию органического опада в почве, получили название *олиготрофной* микрофлоры. Среди этой группы микроорганизмов выделяются *олигонитрофилы*, нуждающиеся в минимальной концентрации органических азотсодержащих веществ, и *олигокарбофилы*, потребляющие остаточные органические углеродосодержащие соединения. Олиготрофные микроорганизмы Г.А. Заварзиным трактуются как «микрофлора рассеяния». Эта группа микроорганизмов до сего времени слабо изучена.

Микроорганизмы, потребляющие в качестве источника углерода  $\text{CO}_2$  или карбонаты и получающие энергию за счет реакций окисления минеральных соединений, объединены в группу *автотрофной* микрофлоры.

Динамика численности микроорганизмов почвы подвержена резким колебаниям в зависимости от типа почвы, климатических условий, сезона года, генетического горизонта, характера растительного покрова и других факторов окружающей среды. Основы изучения биодинамики различных почв заложены С.П. Костычевым и далее развиты в трудах Н.М. Лазарева, Е.Н. Мишустина и его учеников.

Следует иметь в виду, что при учете численности микроорганизмов в почве разными методами получаемые цифровые данные могут отличаться на один, два и даже три порядка.

Однако при работе одним и тем же методом исследования получают вполне сопоставимые данные, на основе которых можно сформировать достоверные выводы. Так, цифровой материал по учету численности микроорганизмов в разных типах почв, полученный одним и тем же методом исследования, свидетельствует о существенном возрастании численности микроорганизмов в почве по мере продвижения с севера на юг.

Распределение микроорганизмов по почвенному профилю соответствует содержанию в нем органических веществ. Основная масса микроорганизмов локализована в верхних, богатых органикой горизонтах почвы. Вглубь по почвенному профилю численность микроорганизмов заметно

снижается, причем более или менее резко в зависимости от типа почвы. На распределение микроорганизмов по почвенному профилю большое влияние оказывает ризосфера растений, служащая для них одним из источников питательного субстрата.

Численность и качественный состав микроорганизмов в почве зависит и от сезона года. Почти во всех типах почв резко резкое увеличение численности и физиологической активности микроорганизмов наблюдается в сезон весны. В почвах южной зоны в сезон жаркого и засушливого лета численность микроорганизмов резко сокращается. Многие микроорганизмы переходят в состояние анабиоза и практически не принимают участия в процессах трансформации веществ. В почвах северной зоны в условиях достаточного увлажнения сезонные колебания численности микроорганизмов выражены менее резко (табл. 7).

На сезонную динамику численности микроорганизмов в почве оказывают влияние не только влажность и температура, но и фаза развития растений, поступление в почву органического опада, накопление микробных метаболитов и т.д. Поэтому, помимо сезонных колебаний численности микроорганизмов, в почве наблюдаются изменения численности и структуры микробных группировок за относительно короткие промежутки времени – месяцы, недели и даже сутки.

Таблица 7

**Содержание микроорганизмов в профиле различных почв, в тыс./г почвы (Е.Н. Мишустин, 1975).**

| Горизонт, см                                                                         | Гумус, %                                    | Общее количество бактерий | Спорообразующие бактерии | Актиномицеты | Грибы                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------|-------------------------------------|
| 0–5<br>5–10<br>20–30<br>40–50<br>70–80<br><br>0–5<br>5–10<br>20–30<br>40–50<br>70–80 | Дерново-подзолистая почва (Московская обл.) |                           |                          |              | 40,0<br>18,9<br>0,9<br>0,5<br>0,3   |
|                                                                                      | 3,4                                         | 1600                      | 180                      | 177          |                                     |
|                                                                                      | 3,3                                         | 780                       | 175                      | 61           |                                     |
|                                                                                      | 1,4                                         | 148                       | 59                       | 33           |                                     |
|                                                                                      | 0,4                                         | 77                        | 16                       | 9            |                                     |
|                                                                                      | 0,1                                         | 20                        | 12                       | 4            |                                     |
|                                                                                      | Чернозём (Харьковская обл.)                 |                           |                          |              | 37,0<br>36,5<br>19,3<br>17,2<br>0,3 |
|                                                                                      | 9,2                                         | 8950                      | 815                      | 835          |                                     |
|                                                                                      | 9,1                                         | 6650                      | 945                      | 1015         |                                     |
|                                                                                      | 7,7                                         | 835                       | 825                      | 125          |                                     |
|                                                                                      | 4,5                                         | 200                       | 169                      | 24           |                                     |
|                                                                                      | 2,7                                         | 147                       | 127                      | 13           |                                     |

### Структура микробоценоза почвы

Процесс разложения веществ органического опада, поступающего в почву, начинает зимогенная микрофлора, представленная различными са-

профитными микроорганизмами. На первых этапах минерализацию легко доступных органических соединений ведут неспорообразующие бактерии родов *Pseudomonas*, *Proteus*, и др. Дальнейший процесс глубокой минерализации органических веществ сопровождается сукцессией микроорганизмов. На смену первых видов приходят спорообразующие виды бацилл.

Частично продукты растительного и животного опада, а также микробные метаболиты превращаются в перегной, который постепенно минерализуется автохтонной микрофлорой. Последняя представляет собой специфическую подгруппу сапрофитных микроорганизмов, обладающих более мощным ферментативным аппаратом. К таким микроорганизмам прежде всего относятся актиномицеты и проактиномицеты, роды нокардия, образующие колонии красной окраски.

Конечные этапы минерализации остаточных продуктов распада органических веществ и гумуса в минимальной концентрации осуществляют олиготрофные микроорганизмы. Эта группа микроорганизмов также тесно связана с типичными сапрофитами и, возможно, включает ряд видов сапрофитных микроорганизмов, приспособившихся к развитию на бедных субстратах. Среди олиготрофов описан ряд морфологически необычных бактерий. Это почкующиеся бактерии, образующие простеки, родов *Prosthecomicrobium*, *Ancalomicrobium*, и др.

Неорганические соединения ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2$  и др.), образующиеся при минерализации органических веществ, трансформируются в процессе жизнедеятельности автотрофных микроорганизмов.

Соотношение вышеперечисленных группировок микроорганизмов и определяет характерную структуру микробоценоза каждого зонального типа почвы.

## **Основы вирусологии**

- 1. Вирусы, история науки.**
- 2. Структурная организация вирусов.**
- 3. Специфичность и происхождение вирусов.**
- 4. Классификация вирусов.**
- 5. Цикл репродукции вирусов. Взаимоотношения с клеткой.**
- 6. Культивирование вирусов.**
- 7. Вирусный канцерогенез.**
- 8. Лечение и профилактика вирусных инфекций. Проблемы ВИЧ-инфекций. СПИД.**

### **Вирусы, история науки**

Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты макро- и микроорганизмов. Открыты Д.И. Ивановским в 1892 году как фактор, вызывающий мозаичную болезнь табака. В 1898 году М. Бейеринк предложил назвать этот фактор вирусом, то есть ядом.

В 1915 году Ф. Туорт, а в 1917 году Ф. д' Эррель обнаружили вирусы бактерий или фаги. В настоящее время описаны вирусы почти всех групп живых организмов.

В природе вирусы существуют в двух разных состояниях: вне клетки в виде **вирионов**, а в клетке в виде действующего вируса в системе вирус – клетка.

Вирус – облигатный внутриклеточный паразит на метаболическом, энергетическом, генетическом уровнях клетки хозяина. Самые сложные питательные среды не обеспечивают функционирование вирусов, для жизни им нужна живая клетка.

Заболевания вирусной природы известны с глубокой древности. Папирус Эберса (3720–3710 годы до нашей эры) содержит описание оспы в Древнем Египте. О вспышках полиомиелита за 3500 лет до нашей эры говорят находки археологов, записки Гиппократ (460–372 до н.э.).

В средние века оспа поражала до 80% населения стран мира, являясь причиной массового мора людей. В XX веке от кори ежегодно погибало более 2 млн. детей планеты, не вакцинированных от этого заболевания. Пандемия гриппа 1918–1919 годов (испанка) унесла 20 млн. жизней, а от банального гриппа страдают десятки миллионов человек на территории стран СНГ.

Вирусные заболевания разрушают животноводческие и растениеводческие отрасли, поражая растения и животных в масштабах стран и регионов.

Чумой XX века называли СПИД, поражающий уже миллионы людей на всех континентах. Вирус Эбола и вирусы птичьего гриппа напоминают своим зловещим проявлением о необходимости всестороннего изучения мира вирусов для защиты от опасных вирусных инфекций.

### **Структурная организация вирусов**

Важные теоретические положения относительно принципов структурной организации вирусов были разработаны Ф. Криком и Д. Уотсом.

Большинство вирусов построено по одному из двух геометрических принципов: спирали или изометрические структуры, поэтому они имеют форму, которую в некотором приближении можно рассматривать как палочковидную или сферическую. Наиболее просто устроенные вирусы имеют вирионы палочковидной формы. Вирион вируса табачной мозаики, например, содержит около 95% белка и 5% РНК. У палочковидных вирусов белковые субъединицы, образующие оболочку вириона, уложены в виде спирали.

Детально изучено строение вируса табачной мозаики, частица которого представляет собой спираль, состоящую из 230 витков, с шагом спирали 23А. Спираль сформирована из 2130 идентичных молекул белка, содержащих по 158 аминокислотных остатков. Генетическим материалом вируса табачной мозаики является одноцепочечная РНК. Рентгеноструктурные исследования показали, что молекула РНК глубоко погружена в

белок и повторяет шаг белковой спирали. Нуклеотиды РНК контактируют с белковыми субъединицами таким образом, что одна субъединица связана с тремя нуклеотидами. Внутри вирусной частицы проходит полый канал диаметром 40 А. Структура вируса табачной мозаики определяется специфичностью взаимодействия между белковыми субъединицами.

Другой распространенной формой вирусных частиц является форма симметричного многогранника, в подавляющем большинстве случаев двенадцатигранника, или икосаэдра. Икосаэдрическое строение имеют как крупные (аденовирусы, радужный вирус долгоножки), так и мелкие вирусные частицы (вирус полиомиелита, вирус желтой мозаики турнепса, фаг f2). Структурные элементы, являющиеся комплексами белковых субъединиц (идентичных или неидентичных), были названы **капсомерами**, или «морфологическими субъединицами». Самый мелкий икосаэдрический вирус должен состоять как минимум из 12 капсомеров. Известны вирусы, белковая оболочка которых состоит из 812 капсомеров. Оказалось, что икосаэдрическая структура является «выгодной» природной структурой, потому что при этом достигается большая экономия белкового материала для построения капсида вириона.

Для многих вирусов характерно содержание в вирусной частице одной молекулы нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК). У ряда РНК-содержащих вирусов растений и животных генетический материал состоит более чем из одной молекулы нуклеиновой кислоты. Обнаружено два типа фрагментирования вирусного генетического материала. В первом случае все РНК-фрагменты генома находятся в одной вирусной частице. К настоящему времени содержание больше одной молекулы РНК в вирионе обнаружено у вирусов, принадлежащих к разным группам (реовирусы, миксовирусы, онкорнавирусы). В другом случае РНК-молекулы, являющиеся фрагментами вирусного генома, находятся в разных вирусных частицах, сформированных одним и тем же белком оболочки. Вирусы, генетический материал которых «распределен» по нескольким частицам, получили название **комплементарных многокомпонентных вирусов**, или **ковирусов**. К ковирусам относятся группы вирусов мозаики коровьего гороха, мозаики люцерны, погребковости табака и некоторые другие. Способность к инфекционности у отдельных частиц ковирусов зависит от информации, которую несет РНК-фрагмент, заключенный в частице. Вирус мозаики коровьего гороха состоит из двух частиц, несущих разные фрагменты РНК. По отдельности ни одна из частиц не обладает инфекционностью.

Описаны вирусы, полностью зависящие от других **неродственных** им вирусов. Примером служит вирус-сателлит вируса некроза табака. Вирус-сателлит – дефектный очень мелкий вирус, содержащий в геноме по существующим взглядам только информацию, необходимую для синтеза белка его оболочки. Необходимая для инфекционности вируса-сателлита РНК-полимераза и другие компоненты индуцируются в клетках заражен-



ного растения вирусом некроза табака – полноценной вирусной частицей. Отличие вирусов-сателлитов от ковирусов заключается в том, что вирус-сателлит и вирус некроза табака имеют разные белки оболочки, т.е. принадлежат к неродственным группам вирусов.

Необычные частицы были обнаружены при изучении заболевания картофеля – веретеновидности клубней картофеля. Частицы, вызывающие это заболевание и названные «**виридами**», представляют собой молекулы свободной низкомолекулярной РНК (около  $10^5$  дальтон). РНК с такой незначительной относительной молекулярной массой может кодировать не больше 90 аминокислотных остатков, т.е. содержит информацию, недостаточную даже для одного белка.

Представителем наиболее сложно устроенных вирусов являются вирусы группы оспы. Это самые крупные вирусы (220X220X300 нм) со своеобразным морфологическим строением (имеют форму кирпичиков с закругленными углами). Сердцевина вириона (нуклеоид) представляет собой комплекс ДНК с белком, окруженный белковой оболочкой. С обеих сторон к белковой оболочке примыкают так называемые боковые тела, функция которых пока неизвестна. Эти компоненты окружены несколькими слоями мембран, образующими наружную оболочку вириона. Кроме ДНК и белков в составе вириона осповакцины обнаружено примерно 2% липидов и 2% фосфолипидов.

Сложное строение имеют также Т-четные фаги. Частица Т-четных фагов имеет головку и отросток. Отросток состоит из следующих структурных элементов: чехла, стержня, базальной пластинки и фибрилл отростка. Каждый из структурных элементов может быть построен из нескольких типов белковых молекул. Всего в состав частицы фага Т4 входит свыше 30 различных белков. Идентифицировано около 80 генов фага Т4, которые делятся на две группы. В одну из них (меньшую) относят гены, функция которых связана с репликацией и синтезом структурных белков. Другая (большая) группа генов осуществляет контроль за сборкой субъединиц структурных белков и участвует в процессе формирования частицы фага из собственных структурных элементов.

Размеры вирусов варьируются в достаточно широких пределах от 10–20 до 300–350 нм.

Вирионы наиболее просто организованных вирусов состоят из нуклеиновой кислоты и белковой оболочки. Оболочка вируса носит название **капсида**. Вирионы некоторых более сложноорганизованных вирусов на поверхности белкового капсида имеют дополнительную внешнюю оболочку – **суперкапсид**.

**Капсид.** Капсиды вирионов состоят из белковых субъединиц, уложенных строго определенным образом. Существуют лишь два типа капсидов – спиральные и изометрические.

1. Капсид вирусов прежде всего выполняет защитную функцию. Он защищает нуклеиновую кислоту вируса от различных физических и хими-

ческих воздействий, в первую очередь от воздействия многочисленных нуклеаз.

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

**Нуклеиновые кислоты.** В отличие от 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.

В царстве вирусов функцию хранителя генетического кода может выполнять не только ДНК, но и РНК. 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 (табл. 8).

Таблица 8

### Характеристика нуклеиновых кислот вирусов

| Представитель          | Тип нуклеиновой кислоты | Структура генома |                        |                  | Молекулярная масса генома $\times 10^6$ |
|------------------------|-------------------------|------------------|------------------------|------------------|-----------------------------------------|
|                        |                         | Число цепей      | Линейная или кольцевая | Число фрагментов |                                         |
| Вирус осповакцины      | ДНК                     | 2                | Л                      | н. ф.            | 160                                     |
| Вирус герпеса          | ДНК                     | 2                | Л                      | н. ф.            | 100                                     |
| Аденовирус 2           | ДНК                     | 2                | Л                      | н. ф.            | 23                                      |
| Вирус полиомы          | ДНК                     | 1                | К                      | н. ф.            | 3,0                                     |
| Аденосателлитный вирус | ДНК                     | 1                | Л                      | н. ф.            | 1,4                                     |
| Вирус полиомелита      | РНК                     | 1                | Л                      | н.ф.             | 2,6                                     |
| Вирус саркомы Рауса    | РНК                     | 1                | Л                      | 2                | 6–7                                     |
| Вирус гриппа А         | РНК                     | 1                | Л                      | 8                | 5,0                                     |
| Реовирус типа III      | РНК                     | 2                | Л                      | 10               | 15,0                                    |
| Вирус Ла Кросс         | РНК                     | 1                | К                      | 3                | 5,4                                     |

(Л – линейная; К – кольцевая; н.ф. – нефрагментированная)

Типичная природная формула двухцепочечной ДНК характерна для наиболее многочисленной группы вирусов, поражающих человека, животных и бактерии.

Одноцепочечная ДНК впервые была открыта в 1959 г. в вирионе фага. Молекулы двухцепочечных и одноцепочечных ДНК вирусов могут иметь линейное и кольцевое строение. Практически все линейные молекулы ДНК вирусов имеют концевые повторы.

Для кольцевых молекул ДНК многих вирусов характерна суперспирализация, которая обуславливает образование компактной третичной структуры и позволяет ей уложиться в небольшой объем капсида.

Большинство РНК-геномных вирусов содержат обычную природную форму одноцепочечной РНК. Двухцепочечная РНК впервые была открыта в 1962 г. в составе вирионов реовирусов. Позднее стало известно, что двухцепочечную РНК содержат вирусы, поражающие организмы животных, растений, бактерий и грибов.

В ДНК-геномных вирусах нуклеиновые кислоты всегда представлены одной молекулой ДНК. Среди РНК-геномных вирусов часть вирионов содержат одну молекулу нуклеиновой кислоты и являются однохромосомными. Однако к РНК-геномным вирусам относится и обширная группа многохромосомных вирусов, или вирусов с фрагментированным геномом. Так, геном реовирусов животных включает 10 фрагментов РНК, геном двухцепочечных РНК вирусов раневых опухолей растений состоит из 12 фрагментов.

Монохромные вирусы, в свою очередь, могут быть подразделены на две группы. К первой группе относятся вирусы, у которых фрагменты генома распределены между несколькими вирионами. Вирионы такого типа называются **ковирусами**. Инфекционной единицей ковируса является сообщество нескольких вирионов, несущих разные молекулы РНК, или ковирусная система. Ко второй подгруппе многохромосомных вирусов относятся вирусы, у которых полный набор фрагментов генома входит в состав одного вириона. Такие вирусы получили название **моновирусы** (ортомиксовирусы, буньявирусы, реовирусы).

**Внешняя оболочка вириона.** Многие сложноорганизованные вирусы животных, а также некоторые вирусы растений и бактерий на поверхности капсид имеют дополнительную внешнюю оболочку, или **суперкапсид**.

Суперкапсид вирусов представлен двойным слоем липидов, в который погружены молекулы специфических белков. Содержание липидов в суперкапсидах нередко достигает 20–40% от сухой массы вириона. Липиды суперкапсида имеют клеточное происхождение, состоят из нейтральных жиров. Суперкапсид имеет клеточное происхождение и формируется из клеточной или ядерной мембраны в момент выхода из клетки.

Помимо липидной фракции, в суперкапсидах сложноорганизованных вирусов обнаружены сахара. Это олигосахариды, состоящие из двух

или четырех остатков, присоединенных к белковому или липидному компоненту с помощью клеточных глюкозилтрансфераз. В состав гликопротеидов и гликолипопротеидов суперкапсида входят такие сахарные остатки, как рамноза, глюкоза, манноза и т.д. Количество сахаров может достигать 10–13% от сухой массы вириона. О роли сахаров в составе вириона известно пока мало. Однако удалось установить, что удаление нейраминовой кислоты из суперкапсида нарушает способность вирусов адсорбироваться на клетке хозяина.

Бактериофаги – вирус бактерий, это название предложил Д'Эррель, который в 1917 году обнаружил вирусы дезинтерийных бактерий, а ранее в 1915 Туорт описал лизис стафилококков, предложив вирусную природу этого явления.

Морфотипы бактериофагов – это различные морфологические группы бактериофагов, способные лизировать культуры микроорганизмов. Выделены 6 групп.

Фаги 1 морфотипа – палочковидные, нитчатые,  $7000\text{--}8500\text{\AA}$  длины и  $50\text{--}80\text{\AA}$  ширины. Выявлены у кишечных, синигнойных и чудесной палочки, других бактерий. Нуклеиновые кислоты – ДНК, РНК.

Фаги 2 морфотипа – состоят из одной головки гексагенной формы, очень мелкие,  $230\text{--}300\text{\AA}$  в диаметре. Нуклеиновые кислоты: РНК.

Фаги 3 морфотипа – имеют головку с короткими выступами, мелки (как и 2-й тип), устойчивы по форме. ДНК или РНК.

Фаги 4 морфотипа – состоят из головки от  $400$  до  $640\text{\AA}$  в диаметре, отростка  $70\text{--}200\text{\AA}$ . Тип – ДНК.

Фаги 5 типа: наиболее распространены. Головка гексогональная – от  $500$  до  $4250\text{\AA}$ , отросток от  $1700$  до  $5000\text{\AA}$ , шириной – от  $70\text{--}120\text{\AA}$ . Чехол отростка не сокращается. Тип – ДНК.

Фаг 6 типа – напоминает 5 тип, но чехол сокращается и имеет стержень отростка. Размеры варьируют. Тип – ДНК.

Головка фагов имеют наружный белковый слой (капсид), внутри содержится нуклеиновая кислота.

Отросток имеет наружный чехол и внутренний стержень с каналом, имеет базальную пластину с шипами (зубцами) и отростками (нитеями). Верхняя часть отростка имеет вороничок.

**Лизогения** – явление фагонасительства, культуры обладают способностью продуцировать зрелые частицы фага. В клетках фаг является профагом, формой неинфекционной и ведет себя как плаزمид.

Бактериофаги используются для лечения и профилактики инфекционных болезней (холера, дизентерия, брюшной тиф и паратифы, др.).

Фаги – модели биологических процессов для генетики, молекулярной биологии и др.

### **Специфичность и происхождение вирусов**

Возможны следующие пути происхождения вирусов:

1. Вирусы – примитивные доклеточные формы жизни.
2. Вирусы – продукты регрессивной эволюции микроорганизмов.
3. Вирусы – формы, возникшие из генетического материала эукариотической клетки.

Два обстоятельства не позволяют рассматривать вирусы как самые примитивные доклеточные формы жизни. Репликация вирусов может происходить только в живых клетках, т.е. для вирусов необходимы готовые функционирующие метаболические системы, которые они и заимствуют у клеток. Нуклеиновые кислоты вирусов имеют тот же нуклеотидный состав, что и клетки организмов, вирусы используют генетический код, аналогичный таковому клеточных организмов, процесс трансляции вирусных белков не отличается от трансляции у бактерий и эукариот, поскольку вирусы пользуются клеточным трансляционным аппаратом.

Взгляд на вирусы как на паразитические формы, явившиеся результатом длительной и глубокой деградации клеточных микроорганизмов существовал давно. О возможности такого пути происхождения вирусов говорят данные, показывающие, что между уровнями организации наиболее сложно устроенных вирусов (например, вируса осповакцины) и наиболее примитивных внутриклеточных паразитов (бактерий из рода *Chlamydia* и *Mycoplasma*) не существует пропасти. Достаточно вероятен следующий путь регресса микроорганизмов – вирусных прородителей:

1. Утрата системы генерирования энергии;
2. Утрата собственного аппарата трансляции (рибосом, транспортных РНК и соответствующих ферментов). Приближением к этой форме служит крупный, наиболее сложно устроенный ДНК-содержащий вирус осповакцины.

#### **Утрата способности синтезировать элементарную мембрану**

Затем эволюция вирусов могла пойти по двум направлениям: по линии уменьшения генетической информации, заключенной в ДНК, и последующего хранения информации в виде небольших одноцепочечных молекул ДНК; второе направление в эволюции вирусов связано с упрощением процессов репликации вирусов.

Наиболее важными этапами на предполагаемом пути вирусной эволюции является потеря вирусами цитоплазматической мембраны и переключение с ДНК на РНК в качестве генетического материала.

Третья возможность происхождения вирусов – возникновение их из клеточных компонентов. Предполагается, что вирусы представляют собой группу генов клетки хозяина, отделившихся от клеточного генома, вышедших из-под контроля клетки и приобретших способность к автономному существованию. В пользу этой точки зрения говорят данные о наблюдающемся близком родстве между ДНК некоторых вирусов и ДНК клетки хозяина.

Возникновение РНК-содержащих вирусов можно представить из фрагментов информационной РНК клетки хозяина, которые каким-то образом приобрели способность к репликации и белковую оболочку.

### Классификация вирусов

Классификация вирусов использует различные свойства вирусов, особенности их строения и взаимодействия с клеткой хозяина. Наиболее известна классификация по типу НК вируса (табл. 9).

Таблица 9

| <b>ДНК-вирусы</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>РНК-вирусы</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>1–3 семейства передаются респираторно.</b></p> <p><b>1. Поксвирусы</b> (оспа натуральная) рох (греч. – пузырек); вызывают высыпания на коже и слизистых оболочках.</p> <p><b>2. Герпесвирусы</b> – ветряная оспа и опоясывающий лишай (поражает кожные покровы, образуются корочки); герпес (греч. – лишай).</p> <p><b>3. Аденовирусы</b> (выделены из аденоидов носоглотки – adenos – железа); поражают дыхательные пути животных и человека.</p> <p><b>4 семейства онкогенные</b></p> <p><b>4. Парвовирусы</b> – крошечные.</p> <p><b>5. Паповавирусы</b> – от папиллома, полиома; вакуолизирующий вирус SV – 10.</p> <p><b>6. Гепадновирусы; вирусы гепатитов В. др.</b><br/>Воспаление печени.</p> <p><b>7. Асфарвириды</b> – вирус африканской чумы свиней.</p> <p><b>8. Цирковириды</b> – вирусы болезней птиц.</p> <p><b>9. Иридовириды</b> – вирусы рыб, насекомых и земноводных.</p> | <p><b>1. Миксовирусы</b> – имеют биологическое сродство с мукопротеидными клетками («слизь»).</p> <p><b>2. Орто-миксовирусы</b> (грипп);<br/><b>Пара-миксовирусы</b> – парагриппы, корь, паротит;</p> <p><b>Семейства арбовирусов</b> (передаются членистоногими, энцефалиты, лихорадки):<br/>Вазотропные вирусы (сродство к сосудам).</p> <p><b>3. Тогавирусы</b> – имеющие тогу – «мантию», около 30 видов.</p> <p><b>4. Ареновирусы</b> – виды «песчинки», вирусы геморрагических лихорадок и лимфоцитарного хориоменингита.</p> <p><b>5. Буньявирусы</b> – вирусы Буньямвера, вирусы экзотических болезней;</p> <p><b>6. Флаовириды</b> – вирусы желтой лихорадки, краснухи и др. болезней.</p> <p><b>7. Артеривириды</b> – вирусы артериита лошадей и др.</p> <p><b>8. Реовирусы (дыхательные и кишечные);</b> вирусы гепатита А, вирусы «сиротки» человека, растений.</p> <p><b>9. Онкогенные ретровирусы (ВИЧ);</b> содержат ревертазу, вирусы рака, лейкозов, медленных инфекций.</p> <p><b>10. Рабдовирусы</b> (от rabies – бешенство); вирусы стамотита, вирусы растений.</p> <p><b>11. Пикорнавирусы</b> – рico – малый и простой;</p> <p><b>12. Коронавирусы</b> – вирионы с венцом, вызывают ОРЗ.</p> |

### **Цикл репродукции вирусов**

Отношения вируса с клеткой хозяина могут складываться по-разному. Условно эти отношения можно свести к трем типам.

**Продуктивная инфекция:** цикл репродукции вируса в клетке хозяина завершается образованием нового, многочисленного поколения вирусов, обычно сопровождается гибелью клетки хозяина.

**Абортивная инфекция** имеет место, если цикл репродукции вируса в клетке хозяина внезапно прерывается. Клетка хозяина сохраняет свою жизнедеятельность.

**Вирогения** характеризуется интеграцией (встраиванием) вирусной нуклеиновой кислоты в геном клетки хозяина, что приводит в дальнейшем к синхронной репликации ДНК клетки и нуклеиновой кислоты вируса. Клетка хозяина продолжает жить.

Размножение вирусов осуществляется путем репродукции их в клетке хозяина. Цикл репродукции представляет собой процесс подчинения клеточных механизмов чужеродной вирусной информации.

Функционально ферменты вирусов можно подразделить на 2 группы: ферменты, способствующие проникновению вирусной нуклеиновой кислоты в клетку и выходу образовавшихся вирионов в среду, и ферменты, участвующие в процессах транскрипции и репликации вирусной нуклеиновой кислоты.

**Цикл репродукции** можно подразделить на отдельные стадии.

1 стадия – хемосорбция вирусов на поверхности клетки хозяина

Хемосорбция возможна лишь при условии, если клетка несет на своей поверхности чувствительные рецепторы, комплементарные рецепторам данного вируса. В клетках животных и человека функцию рецепторов для пикорно- и арбовирусов выполняют липопротеиды, для миксо- и парамиксовирусов и аденовирусов – мукопротеиды.

У простоорганизованных вирусов рецепторами являются уникальные сочетания белковых субъединиц, находящихся на поверхности капсида. У более сложноорганизованных вирусов функцию рецепторов выполняют выросты суперкапсида в виде шипов или ворсинок.

2 стадия – проникновение вируса в клетку хозяина.

Пути проникновения вирусов в клетку могут быть различны. Предполагается, что многие вирусы проникают в клетку путем **пиноцитоза**, или **виropексиса**. При пиноцитозе в районе хемосорбции вируса клеточная мембрана образует инвагинацию и заглатывает вирус. В составе пиноцитарной вакуоли вирус попадает в цитоплазму.

Некоторые вирусы проникают в клетку за счет слияния клеточных и вирусных мембран.

Проникновение фаговой ДНК в бактериальную клетку происходит за счёт частичного разрушения оболочки клетки фаговым лизоцимом и сократительной реакции остатка фага.

3 стадия – депротенизация вируса.

Процесс депротенизации вируса предусматривает освобождение его нуклеиновой кислоты от белков капсида. Как только вирусная нуклеиновая кислота освобождается от белков капсида, наступает так называемый скрытый период – период **эклипса**. Предполагается, что в период эклипса вирусная нуклеиновая кислота проходит по цитоплазме клетки в район ядра.

4 стадия – синтез компонентов вируса.

Совокупность процессов этой стадии можно подразделить на три этапа:

Первый этап – подготовительный. Он предусматривает две цели: подавить функционирование генетического аппарата клетки, прекратить синтез клеточных белков и нуклеиновых кислот, перевести белок-синтезирующий аппарат клетки под контроль генома вируса; подготовить условия для репликации нуклеиновой кислоты и синтеза белков капсида вируса.

Второй этап – репликация нуклеиновой кислоты вируса. Для двухцепочечных ДНК – геномных вирусов характерен такой же путь реализации генетической информации, как и для других живых организмов. Процессу репликации ДНК предшествует транскрипция иРНК. Информационная РНК вируса транслируется рибосомами клетки и на вирус – полисоме по матрице иРНК идет синтез ранних вирусспецифических белков.

Как только синтезировались ранние вирусспецифические белки, начинается процесс репликации ДНК вируса. Репликация двух – цепочечной ДНК вируса идет по принципу репликации ДНК клеточных организмов полуконсервативным путем.

Процесс репликации одноцепочечной ДНК начинается с синтеза ее комплементарной пары. В результате образуется двухцепочечная кольцевая родительская ДНК.

Изучение механизма репликации РНК – геномных вирусов началось с 1961., когда были открыты РНК-геномные фаги.

У РНК-геномных вирусов молекула РНК одновременно является генетическим материалом и выполняет функцию иРНК и ДНК.

В 1970 г. в составе одноклеточных РНК-вирусов был обнаружен фермент РНК-зависимая ДНК-полимераза, свидетельствующая о наличии процесса обратной транскрипции. Позднее было доказано, что у онкогенных РНК-вирусов по матрице их РНК с участием РНК-зависимой ДНК-полимеразы, содержащейся в вирионе, транскрибируется ДНК-копия. ДНК-копия из одноцепочечной переходит в репликативную двуцепочечную форму, которая обеспечивает репликацию РНК вируса и синтез необходимых ферментов.

Третий этап – синтез белков капсид.

Этот процесс отстает во времени от процесса репликации нуклеиновой кислоты вируса и начинается, когда репликация в полном разгаре.



Синтез белков капсида происходит как в ядре, так и в цитоплазме клетки. Вируспецифическая иРНК транслируется рибосомами клетки, и на вирус-полисоме идет синтез белков-предшественников. Из этого «фонда» белков-предшественников и формируются белки капсида вируса.

5 стадия – сборка вирионов, или морфогенез вируса.

У простоорганизованных вирусов белковые субъединицы капсида в строго упорядоченном соединении располагаются вокруг нуклеиновой кислоты. У сложноорганизованных вирусов в процессе сборки вирионов принимают участие и клеточные структуры – ядерная и цитоплазматическая мембраны.

6 стадия – выход вируса из клетки.

Этот процесс у разных вирусов осуществляется по-разному. Выход ДНК-геномных фагов происходит при полном лизисе клетки фаговым лизоцимом. Сложноорганизованные вирусы человека и животных выходят из клетки с участком цитоплазмы путем почкования через цитоплазматическую мембрану и оболочку, одновременно приобретая суперкапсид. Нередко выходу вирусов из клетки способствует переваривание ее фагоцитами крови. Вирусы растений из клетки в клетку могут переходить через межклеточные соединения – плазмодесмы.

Наиболее часто цикл репродукции вируса завершается продуктивной инфекцией – образованием многочисленной популяции (100–200) полноценных вирионов, что обычно сопровождается гибелью хозяина.

### **Культивирование вирусов**

Для культивирования вирусов в целях изучения и возможного производства применяются три метода:

1) культивирование вирусов в организме лабораторного животного. Этот метод широко использовался на первых этапах развития вирусологии;

2) культивирование вирусов в курином эмбрионе. Этот метод в 1931 г. разработал Вудрафф и Гудпасчер. Позднее было установлено, что различные вирусы репродуцируются в строго определенных отделах куриного эмбриона. О репродукции вирусов можно судить по гибели куриного эмбриона или на основании реакции гемагглютинации;

3) выращивание вирусов в культуре клеток на питательной среде. Этот метод был разработан в 1949 г. П. Эндерсоном на примере вируса полиомиелита.

Первичные и полуперевиваемые клеточные культуры, выдерживающие от 3–5 до 50 генераций, готовят из эмбриональных тканей человека и животных, так как они обладают большей способностью к росту, чем ткани взрослого организма. Опухолевые клетки способны образовать бесконечное число генераций.

Взвесь клеток засеивается в стеклянный сосуд на обогащенную питательную среду. Интенсивное деление клеток приводит к образованию клеточного монослоя. На сформировавшийся монослой клеток засеивают сус-

пензию вируса. О репродукции вируса в культуре клеток можно судить по морфологическим признакам и степени дегенерации клеток.

Широко применяемая методика клеточной культуры за относительно короткий срок не только позволила открыть сотни новых вирусов, но и дала возможность осуществить промышленное производство противовирусных вакцин.

### **Вирусный канцерогенез**

Способность вирусов вызывать опухоли была установлена еще в начале XX в. В 1907 г. К. Гюйффо показал возможность передачи бородавок от человека к человеку. В 1908 г. Эллерман и Банг обнаружили, что лейкоз кур передается фильтратом плазмы. В 1911 г. П. Раус осуществил пересадку саркомы кур бесклеточным фильтратом. Эти работы положили начало онковирусологии.

К 1970 г. накопились факты, свидетельствующие о том, что для трансформации нормальной клетки в онкогенную достаточно внедрение лишь части генома вируса – так называемого онкогена. Под онкогеном понимается специфический ген опухолеродного вируса, продукты которого непосредственно отвечают за трансформацию клетки.

Экспериментальное подтверждение в пользу существования вирусных онкогенов получено на примере РНК-геномных ретровирусов.

Предполагается, что онкогены РНК-геномных вирусов имеют клеточное происхождение. Тогда вполне возможно допустить, что случайное включение генов, ответственных за регуляцию деления клетки, в состав генома вируса может привести к появлению онкогенных свойств у ранне неопухолеродного вируса. Далее, если этот ген окажется ненужным для репродукции самого вируса, он должен утратиться в процессе эволюции. Если функции гена окажутся полезными для репродукции вируса, приобретенный онкоген станет обязательной составной частью его генома. Удалось доказать, что онкоген ДНК-геномных полиомавирусов является необходимой частью генома вируса и функции его связаны с репродукцией самого вируса.

Вполне вероятно, что вирусы, не содержащие онкогена, способны индуцировать опухолевый рост клеток и другими путями, например за счёт повышения чувствительности клеток к канцерогенам, или за счет подавления иммунной системы организма, или, наконец, за счет приобретения онкогена путем рекомбинации генома вируса с генетическим материалом клетки.

По способности вызывать злокачественное перерождение клеток все опухолеродные вирусы можно подразделить на три группы:

- 1) высокоонкогенные вирусы, под влиянием которых часть трансформированных клеток приобретает злокачественные свойства (аденовирусы подгруппы А, серотипы 12, 18, 31, вирус саркомы Рауса);

- 2) вирусы, вызывающие трансформацию клеток и накопление их популяции в организме, что создает почву для перерождения единичных

клеток в злокачественные (вирусы лейкоза Раушера и Френд, вирусы папиллом, лимфотропные герпесвирусы);

3) вирусы, обладающие трансформирующей активностью, но совершенно лишенные онкогенных свойств (аденовирусы подгруппы С и D).

В заключение следует подчеркнуть, что вирусы нельзя рассматривать как единственную универсальную причину возникновения опухолей. Однако изучение вирусного канцерогенеза является важнейшей задачей современной онковирусологии.

### **Лечение и профилактика вирусных инфекций**

Терапия и профилактика вирусных инфекций являются актуальными, но трудно разрешимыми проблемами. В настоящее время нет еще лекарственных препаратов против многих заболеваний вирусной природы.

Задача химиотерапии вирусных инфекций заключается в создании таких лекарственных препаратов, которые бы избирательно подавляли хотя бы один этап репродукции вирусов и одновременно не затрагивали бы процессы жизнедеятельности клетки.

Относительно эффективным противовирусным препаратом является интерферон, выделенный в 1967 г. А. Айзексом и И. Линдеманом. В здоровом организме интерферон содержится в незначительном количестве, но при заражении вирусной инфекцией количество его резко возрастает. Механизм действия интерферона заключается в нарушении трансляции вирусной иРНК рибосомами клетки, что ведет к прекращению синтеза вирусных белков. Экзогенный интерферон получают из лейкоцитов и клеток костного мозга человека.

Интерферон применяется для лечения гриппа, вирусных заболеваний кожи и слизистых оболочек.

Одним из первых химиотерапевтических препаратов, успешно применяемых в борьбе с оспой, стал метизазон. Механизм действия метизазона направлен на подавление синтеза структурных белков вируса, в результате чего в клетке формируются вирионы, не обладающие инфекционными свойствами.

Открытие амантадина и ремантадина следует считать выдающимся достижением вирусологической науки. Амантадин и ремантадин ингибируют репродукцию вирусов группы типа А, а также в несколько меньшей степени репродукцию вирусов кори и краснухи.

В настоящее время экспериментально показано, что в ответ на действие любого химиопрепарата, избирательно подавляющего репродукцию вируса, могут быть получены резистентные мутанты.

Задача будущего – разработать пути, предотвращающие формирование резистентных мутантов вирусов. Решить эту задачу, по-видимому, можно, совмещая действие двух противовирусных препаратов, блокирующих разные этапы репродукции вирусов.

Однако в современной медицинской практике применение противовирусных препаратов пока еще ограничено. Поэтому основной мерой борьбы с вирусными инфекциями следует считать метод вакцинации.

В 1796 г. сельский врач Э. Дженнер открыл вакцину против оспы. Эта вакцина сыграла историческую роль в борьбе с эпидемией оспы в мировом масштабе. В 1958 г. Всемирная организация здравоохранения приняла решение искоренить оспу на планете путём поголовной вакцинации населения. Работа проводилась с начала января 1967 г. В 1980 г. Всемирная организация здравоохранения объявила о полной ликвидации оспы на земном шаре.

Второй вакциной, имевшей не менее важное историческое значение, была «живая вакцина» против вируса бешенства, приготовленная Л. Пастером. 6 июля 1885 г. Величие Л. Пастера заключается в том, что он дал миру метод аттенуации (ослабления вирулентных свойств микробов).

Методом аттенуации была создана «живая вакцина» А. Сэбина против полиомиелита. Промышленное производство и внедрение этой вакцины в медицинскую практику осуществляли учёные М.П. Чумаков и А.А. Смородинцев.

Трудом коллектива вирусологов во главе с А.А. Смородинцевым разработана «живая вакцина» ослабленного вируса (Ленинград – 16). Дети, которым прививают эту вакцину, приобретают стойкий противокоревый иммунитет более чем на 8 лет. На сегодняшний день метод вакцинации играет ведущую роль в борьбе с вирусными инфекциями за здоровье и жизнь человека.

В настоящее время в мире более 40 миллионов больных СПИДом, от этой болезни каждую 12-ую минуту умирает человек.

Вирус Вич-инфекции относится к группе ретровирусов, вирионы его содержат обратную транскрипцию – фермент позволяющий на основе РНК создавать ДНК-копии. Вирус ВИЧ в составе суперкапсида имеет большое содержание липидов, от 15 до 35% от сухого веса, липиды играют роль в стабилизации структуры вириона. Липиды имеют клеточное происхождение, являясь компонентами мембран.

Наиболее распространенный путь заражения ВИЧ-инфекцией – наркотики и их употребление без соблюдения мер безопасности. В настоящее время все больше больных приобретают эту инфекцию половым путем. Не исключен путь распространения через переливание крови от больных ВИЧ-инфицированных, от больных матерей – детям при родах, и другими путями. Прием наркотиков, «через иглу» заражается до 85% больных. Перед СПИДом мы все пока беззащитны!

# **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

## **Рекомендации студентам при подготовке к занятию**

Лабораторные работы выполняются в лабораторной тетради, ведение которой является обязательным. Каждая работа предварительно оформляется, заранее выполняется часть работы, предусмотренная заданием темы. На занятии осуществляется опрос по теоретическим вопросам, выполняется практическая часть заданий, заносятся поправки и рисунки, пишутся выводы по теме занятия.

Работа считается выполненной, если она защищена студентом и подписана преподавателем.

Студенты, успешно выполнившие все лабораторные работы, допускаются к сдаче зачета.

**Лабораторная работа 1. Правила работы в микробиологической лаборатории. Основы техники микроскопии с микробиологическими объектами.**

**Иммерсионные объективы и правила работы с ними. Приготовление препаратов фиксированных клеток микроорганизмов.**

Материал и оборудование: предметные стекла, спиртовки, бактериологические петли, вода дистиллированная, колбы с водой, кристаллизаторы с подставками, наборы красителей, культуры микроорганизмов на кожных срезах в пробирках, микроскопы, объективы иммерсионные, иммерсия (кедровое масло), плакаты по теме.

### **Цели занятия:**

1. Изучить правила работы в микробиологической лаборатории, правила ТБ и ОТ, правила работы с культурами микроорганизмов.
2. Повторить устройство микроскопа и изучить правила работы с иммерсионным объективом.
3. Освоить методику приготовления фиксированных препаратов микроорганизмов и уметь определить морфологический тип клеток микроорганизмов и характер их расположения.

### **Задание 1.1**

Запишите в тетрадь основные правила работы и ТБ в микробиологической лаборатории. Изучите правила работы с культурами микроорганизмов.

### **Задание 1.2**

Изучите правила работы с иммерсионным объективом, запишите их в тетрадь, укажите преимущества иммерсионной системы. Дайте краткую характеристику типам микроскопии.

### **Задание 1.3**

Изучите методику приготовления препаратов фиксированных клеток, запишите основные этапы: приготовление мазка; высушивание; фиксация и окраска; опишите технику этих этапов и значение. Отрабатывайте некоторые отдельные приемы.

**Приготовьте** фиксированный препарат и рассмотрите его под малым и большим (иммерсионным) увеличением. **Зарисуйте** препарат, **укажите** тип клеток по морфологии и расположению. **Определите** присутствие эндоспор.

**Лабораторная работа 2. Техника микроскопирования микробиологических объектов: приготовление препаратов живых клеток микроорганизмов. Движение микроорганизмов.**

#### **Цели занятия:**

1. Изучить: способы и типы движения микроорганизмов; особенности строения органов и структур движения микроорганизмов.
2. Изучить методику приготовления прижизненных препаратов и научиться готовить препараты живых клеток микроорганизмов.
3. Повторить правила работы с микроскопом с сухими объективами, рассмотреть приготовленные препараты, определить характер движения клеток.

#### **Задание 2.1**

Изучите тему «Движение микроорганизмов». Запишите в тетраде типы движения бактерий, зарисуйте схему: строения жгутика и строение (схематическое) спирохеты. Укажите, какие кольца имеет базальная структура и где они расположены в структуре клеточной оболочки (Г<sup>+</sup>; Г<sup>-</sup>).

#### **Задание 2.2**

Запишите методы «раздавленной капли» и метод «висячей капли» для приготовления «прижизненных» препаратов. Запишите методику получения накопительной культуры сенной и картофельной палочки. Используя суточные культуры сенной палочки, приготовьте препараты живых клеток микроорганизмов.

#### **Задание 2.3**

Рассмотрите приготовленные препараты при малом и большом увеличении. Найдите наилучшие объекты и определите характер и тип движения. Увиденное зарисуйте, отметив увеличение, характер и тип движения.

#### **Задание 2.4**

Рассмотрите извитые формы, используя инкубированный настой навозной жижи. Приготовьте фиксированный и окрашенный фуксином препарат. Рассмотрите препарат как демонстрационный, определите тип клеток, зарисуйте типы извитых клеток микроорганизмов.

**Лабораторная работа 3. Цитохимические методы изучения клеток микроорганизмов. Дифференциальные способы окраски клеток прокариот. Методы выявления эндоспор и капсул. Окраска по Граму.**

**Цели занятия:**

1. Используя знания о структурной организации клетки прокариот выяснить сущность и причины дифференциации клеток по методу Грама.
2. Научиться использовать методику Грама, отработать технику микроскопирования с иммерсионным объективом.
3. Изучить тему «Рост и размножение микроорганизмов».
4. Изучить биологическое значение, строение спор и основные этапы и способы спорообразования у спорообразующихся бактерий.
5. Выяснить структуру и химический состав капсул, биологический смысл капсулообразования, функции слизистых образований.
6. Научиться использовать методы выявления спор и капсул и отработать навыки работы с микроскопом.

Оборудование: предметные стекла, спиртовки, кристаллизаторы, петли бактериологические, наборы красителей, вода дистиллированная в стерильных пробирках, вода в колбах, культуры микроорганизмов (предположительно Грамположительных и Грамотрицательных), культуры спорообразующих бактерий, культуры рода *Азотобактер* на чашках Петри, микроскопы.

**Задание 3.1**

Повторить структуру и химический состав оболочек клеток грацилуктных и фирмакутных бактерий. Зарисовать в тетради схемы строения оболочек прокариот, укажите вещества оболочек.

**Задание 3.2**

Изучите методику окраски клеток по Граму, запишите последовательность операций. Сделайте вывод о причинах различной окраски по этому методу.

Выполните на предметном стекле два мазка разных культур микроорганизмов и окрасьте их по Граму. Рассмотрите препараты с иммерсией, увиденное зарисуйте. Укажите тип клеток по Граму, морфологию клеток. Запишите вывод, указав причины разной окраски клеток.

**Задание 3.3**

Зарисуйте схему строения эндоспоры, типы эндоспор.

Изучите метод выявления спор по Пешкову, запишите его в тетрадь. Выполните окраску мазков исследуемых культур, рассмотрите с иммерсией. Укажите отличие эндоспор и вегетативных клеток на препарате. Зарисуйте препарат, напишите вывод.

**Задание 3.4**

Запишите известные способы выявления капсул, изучите их строение и биологическое значение.

Проведите выявление капсул у почвенных бактерий рода Азотобактер методом позитивного и негативного контрастирования. Рассмотрите на большом увеличении (без иммерсии!) с сухими объективами.

**Литература:** Микробиология с основами вирусологии. Методические указания для лабораторных занятий. Т.М. Царенко. – Витебск. Изд-во ВГУ. 1999.

#### **Лабораторная работа 4. Метаболизм прокариот.**

##### Цели и задачи темы:

1. Изучить основные особенности энергетического и конструктивного метаболизма прокариотических микроорганизмов.
2. Рассмотреть основные типы брожения, выяснить особенности путей превращения глюкозы.
3. Изучить характерные черты различных групп микроорганизмов, осуществляющих разные типы брожения.
4. Научиться выделять и микроскопировать бактерии молочнокислого брожения, уксуснокислых и маслянокислых бактерий в продуктах питания и других субстратах.

Оборудование: наборы для микробиологических исследований (см. ранее), кефир, капустный и огуречный рассол, культура прокисшего пива, культура «крапивные снопики» и картофельной палочки.

##### **Задание 4.1**

Микроскопирование молочнокислых бактерий молочных продуктов и продуктов квашения (силосования). Записать способы выделения и микроскопирования молочнокислых бактерий и их основные виды и характеристики. Зарисовать препараты.

Методика микроскопирования молочнокислых бактерий. Готовят препарат из прокисшего молока. Петлю вводят в сгусток и повернув вокруг оси, извлекают, прикасаясь ею и к пленке. Сгусток размазывают на предметном стекле очень тонким слоем без воды. Сушат на воздухе. Фиксируют смесью спирта с эфиром (1:1) несколько раз, нанося смесь на мазок не сливая ее.

Фиксированный препарат окрашивают метиленовой синькой 2–3 мин, промывают водой, высушивают, и микроскопируют с иммерсией. Обнаружить: *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* и молочную плесень – *Geotrichum candidum*.

Характеристика таксономических групп гомоферментативных молочнокислых бактерий (Г-положительных, не образуют спор, неподвижны) (табл. 10).



Таблица 10

| Род и под-род бактерий, виды        | Морфология и особенности деления                                           | Молярное содержание ГЦ в ДНК | Конфигурация молочной к-ты |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| <i>Streptococcus</i>                | Сферические, овальные делятся в одной плоскости, образуют пары или цепочки | 33–34                        | D                          |
| <i>p. Pediococcus p. Cerevisiae</i> | Кокки делятся в двух плоскостях, образуются тетрады клеток                 | 32–34                        | DL                         |
| <i>p. Lactobacillus</i>             | Палочки; делятся в одной плоскости, образуют пары или цепочки клеток       | 32–46                        | L                          |

*L. plantarum* – осуществляют гетероферментативное молочнокислое брожение.

65–90% сахаров – в молочную кислоту, продуцируют DL – формы молочной кислоты (лактатдегидрогеназа), 02 – не включен в энергетический обмен, есть защита от 02.

- слабо развиты биосинтетические возможности;
- ауксотрофность;
- примитивность конструктивного метаболизма;
- находятся на начальном этапе эволюции;
- распространены: там, где могут обеспечить себя питательными веществами: на поверхности органических остатков, на слизистых оболочках пищеварительного тракта.

- Простокваша – *Streptococcus lactis* (в Болгарии) – *Lactobacillus bulgaricus*;

- ацидофилин – *Lactobacillus acidophilus*, кефир – бактерии + дрожжи (*Geotrichum candidum*);

- метиленовый синий.

Гомоферментативное молочнокислое брожение (суммарная реакция) – глюкоза + Фн + 2 АДФ – образуют 2 молекулы молочной кислоты + 2АТФ + 2Н<sub>2</sub>О.

#### Задание 4.2

Выделение и микроскопирование уксуснокислых бактерий род *Ацетобактер* из пленки, образовавшейся на пиве. Записать последовательность операций, характеристику уксуснокислого брожения. Окрашивать фуксин-ом. Записать характеристику и зарисовать вид микроорганизмов рода *Ацетобактер*.

Выделение уксуснокислых бактерий.

В конические колбы (на 100–150 мл) наливают слоем 0,5–1,0 см пиво, колбы закрывают ватными пробками и ставят в термостат при – 30 С на 5–6 суток.

Приготовить мазок из пленки, образовавшейся на поверхности. Окраска фуксином. Фиксация над пламенем спиртовки.

#### **Задание 4.3. Микроскопирование маслянокислых бактерий.**

Из пробирки с культурой картофельной палочки пипеткой из среднего слоя жидкости берут пробу, наносят на предметное стекло. Добавляют каплю р-ра Люголя и рассматривают под иммерсией. Обнаруживают крупные клетки клостридий.

Сине-фиолетовое окрашивание клеток обусловлено гранулезой. Записать и изучить характеристику рода Клостридий.

Выделение маслянокислых бактерий.

Сырой неочищенный картофель нарезают тонкими длинными ломтиками и раскладывают в пробирки, в которые предварительно насыпают 0,5–1,0 г мела. Заливают на 2/3 водопроводной водой. Выдерживают на водяной бане при температуре 80°C 15–20 мин.

Почвенную смесь 1:100 доводят до кипения и затем по 1 мл вносят в каждую пробирку.

Пробирки ставят в термостат при температуре 28–30°C. Количество пробирок по числу студентов.

#### **Задание 4.4. Микроскопирование возбудителей брожения пектиновых веществ.**

Извлекают снопик из пробирки, берут из середины его несколько соломинок и выжимают из них немного жидкости на предметное стекло, добавляют каплю р-ра Люголя, микроскопируют под иммерсией.

Найдите крупные палочковидные бактерии с плектридиальным типом спорообразования (барабанная палочка), и прерывистым расположением гранулезы (*Clostridium pectinovorum*).

Более мелкие сигарообразные палочки (*Clostridium felsineum*) со спорой на конце, гранулеза заполняет всю вегетативную клетку.

Выделение возбудителей брожения пектиновых веществ

Из стеблей крапивы готовят снопики (по 2–3 стебля) и перевязывают ниткой в 2-х местах, длина снопика 3–4 см.

Снопики помещают в колбу, заливают водопроводной водой и кипятят 2 мин. Воду сливают и снова кипятят. Затем раскладывают снопики в пробирки, заливают на 2/3 объема водой, добавляют небольшое количество мела.

В каждую пробирку вносят по 1 мл почвенной болтушки (1:100) предварительно доводят до кипения. Пробирки помещают в термостат при температуре (28–30°C) Количество пробирок по числу студентов.

## Информационный материал

1. Характеристика гетероферментативных молочнокислых бактерий. В основе гетероферментативного молочнокислого брожения лежит пентозофосфатный путь сбраживания гексоз или пентоз с образованием молочной кислоты, уксусной кислоты, этилового спирта, глицерина, углекислого газа. Суммарно: ПФП

Глюкоза-молочная кислота + уксусная кислота + этиловый спирт + глицерин + углекислый газ.

Облигатные гетероферментативные молочнокислые бактерии принадлежат родам *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium*.

Они не имеют ферментов – альдозазы и триозофосфатизомеразы, поэтому не могут вести брожение по ГПП.

Морфологически, культурально и физиологически близки к гомоферментативным. Способны расти при  $t^{\circ}$  от 7–10 до 40–42°C, оптимум – 30°C, выдерживают закисление.

Род *Bifidobacterium* – представители нормальной микрофлоры кишечника человека и животных, многие обладают антибиотическими способностями.

### 2. Характеристики рода клостридий.

Род *Clostridium* – бактерии этого рода осуществляют классическое маслянокислое брожение, а также ацетонобутиловое брожение.

Для рода клостридий характерно выделение нескольких физиологических групп, в зависимости от вида сбраживаемого субстрата:

Сахаролитические клостридий – используют вещества углеводной природы, спирты, органические кислоты, и протеолитические – белки, пептиды, аминокислоты, пуринолитические – сбраживание пуринов и пиримидинов.

Клостридий – облигатные анаэробы, молодые вегетативные клетки имеют форму палочек, подвижны (перитрихи), грамположительны. По мере старения накапливают гранулёзу и теряют подвижность, переходят к спорообразованию, становясь веретенообразными (клостридиальный тип).

## **ВОПРОСЫ ДЛЯ ЗАЧЕТА ПО МИКРОБИОЛОГИИ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ**

1. Предмет микробиологии, специфика методов исследования микроорганизмов.
2. Специфические черты прокариотных организмов.
3. Сравнительная характеристика структурной организации прокариот.
4. Роль микроорганизмов в природе и народном хозяйстве.
5. Биотехнология, основные направления.
6. Открытие микромира. Морфологический период микробиологии.
7. Физиологический период микробиологии, вклад ученых.
8. Почвенная микробиология и главные направления раздела.
9. Открытие вирусов.
10. Биохимические направления в микробиологии.
11. Микробиология XX столетия: вклад микробиологии в развитие микробиологических наук.
12. Особенности структурной организации прокариотной клетки.
13. Форма и размеры прокариот.
14. Структуры прокариотной клетки.
15. Клеточная стенка: вещества, функции, окраска по Граму.
16. Строение клеточных стенок грациликотных бактерий.
17. Строение клеточной стенки фирмакутных бактерий.
18. Особенности клеточных стенок микобактерий, археобактерий.
19. Образование протопластов, сферопластов, L-форм.
20. Цитоплазматическая мембрана и ее производные.
21. Мезосомы, типы, функции.
22. Житкостно-мозаичная модель мембраны.
23. Транспортные и другие функции ЦПМ.
24. Органоиды прокариотной клетки.
25. Запасные вещества прокариот.
26. Нуклеоид, плазмиды, эписомы.
27. Механизмы репликации бактериальной хромосомы.
28. Капсула, химизм, структура, функции.
29. Жгутики: строение, расположение, движение.
30. Типы движения у бактерий.
31. Фимбрии (пили): строение, типы, функции.
32. Эндоспоры, их биологический смысл, строение, типы, формирование, прорастание.
33. Принципы классификации прокариот по определителю Берги (1997).
34. Международная классификация прокариот.
35. Рост и размножение бактерий.
36. Рост бактериальной популяции в статической культуре. Фазы роста.
37. Непрерывные и синхронные культуры.

38. Генетика прокариот. Рекомбинация у прокариот. Перспективы генной инженерии.

39. Группы микроорганизмов по отношению к факторам окружающей среды (свет, температура, кислород, влажность).

40. Антисептики.

41. Взаимоотношения микроорганизмов: метабиоз; симбиоз, комменсализм, сателизм.

42. Антагонизм, паразитизм; антибиотики. Антибиотикорезистентность.

43. Микрофлора растений: ризосфера, ризоплана, динамика микрофлоры.

44. Нормальная микрофлора человека и животных.

45. Патогенные микроорганизмы, вирулентность, инфекции.

46. Иммуитет, профилактика и терапия инфекционных заболеваний.

47. Пищевые потребности прокариот, прототрофы, ауксотрофы, факторы роста.

48. Типы питания прокариот.

49. Бактериальный фотосинтез, его принципиальное отличие от фотосинтеза растений, ФЛАТ.

50. ХЛАТ. ХОГТ. ФОАТ.

51. Ферменты прокариот: строение, типы.

52. Метаболизм прокариот: катаболизм, анаболизм, синтез углеводов, аминокислот, липидов.

53. Цепь переноса электронов ( ЦПЭ).

54. Брожение: суть, типы брожения. Черты примитивности брожения. Использование.

55. Пути превращения глюкозы в ПВК.

56. Цикл Кребса, его значение в метаболизме прокариот.

57. Неполное аэробное окисление органических веществ. Уксуснокислые бактерии.

58. Молочнокислое брожение и микроорганизмы брожения (характеристика).

59. Аэробное окисление неорганических веществ.

60. Анаэробное окисление: нитратное и сульфатное дыхание, значение в природе и практике сельского хозяйства.

61. Процессы трансформации С-содержащих веществ: целлюлозы, пектина и др.

62. Трансформация N-содержащих веществ.

63. Аммонификация.

64. Нитрификация.

65. Денитрификация.

66. Азотфиксация (бактерии – азотфиксаторы). Химизм азотфиксации. Значение процесса.

67. Трансформация соединений S.

68. Трансформация Mn и др. металлов.
69. Трансформация Fe-соединений.
70. Трансформация соединений P.
71. Микрофлора воздуха, санитарное состояние воздуха помещений.
72. Микрофлора воды. Санитарные показатели питьевой воды.
73. Роль микроорганизмов в водоемах, система очистки воды.
74. Микрофлора почвы. Структура микрореконструкции и микробиоценоза почвы.
75. Группы почв микроорганизмов, влияние агротехнических приемов на микрофлору почвы.
76. Вирус, вирион, специфичность организации и происхождение.
77. Структуры вирионов.
78. Цикл репродукции вирионов.
79. Культивирование вирусов.
80. Вирусные инфекции. СПИД. Лечение и профилактика вирусных инфекций.
81. Вирусный канцерогенез. Канцерогенное действие алкоголя и никотина, др. продуктов табака.
82. Прионы – новые инфекционные агенты. Прузинер, 1997 г. (Нобел. Премия). Болезни прионовые.
83. Типы питательных сред.
84. Методы стерилизации.
85. Иммерсия. Правила работы с иммерсионной системой.
86. Методика приготовления фиксированных препаратов (и препаратов-отпечатков).
87. Методика приготовления прижизненных препаратов.
88. Методика выявления капсул.
89. Окраска спор бактерий.
90. Окраска клеток по Граму.
91. Методика количественного анализа микрофлоры воды, воздуха.
92. Окраска и выявление запасных веществ бактерий.
93. Типы микроскопии.
94. Предполагаемый ход эволюции.
95. Археобактерии.
96. Вакцины. Сыворотки. Иммуномодуляторы, иммуностимуляторы.
97. Достижение микробиологии.
98. Вклад отечественных ученых в развитие микробиологии (по материалам учебника и дополнительной литературы).
99. Роль микроорганизмов в решении глобальных проблем человечества.
100. Субстратное фосфорилирование и окислительное фосфорилирование, эффективность этих процессов.
101. Новейшие классификации микроорганизмов.

102. Прикладная микробиология, достижения.
103. Пропионовокислые бактерии и их роль.
104. Группы фотосинтезирующих бактерий.
105. Пигменты фотосинтеза у бактерий.
106. Строение фотосинтетического аппарата у бактерий.
107. Регуляция клеточного метаболизма у бактерий.
108. Роль и распространение в природе археобактерий.
109. Бактерии хемосинтетики, их роль и распространение.
110. Прионы, их открытие, роль, особенности функционирования.