

# МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ

Учебная программа дисциплины

➤ **Конспект лекций**

Лабораторный практикум

Методические указания по самостоятельной работе

**Банк тестовых заданий в системе UniTest**



УДК 579  
ББК 28.4  
П85

Электронный учебно-методический комплекс по дисциплине «Микробиология с основами вирусологии» подготовлен в рамках реализации в 2007 г. программы развития ФГОУ ВПО «Сибирский федеральный университет» на 2007–2010 гг. по разделу «Модернизация образовательного процесса».

Рецензенты:

Красноярский краевой фонд науки;

Экспертная комиссия СФУ по подготовке учебно-методических комплексов дисциплин

**Прудникова, С. В.**

П85 Микробиология с основами вирусологии. Версия 1.0 [Электронный ресурс] : конспект лекций / С. В. Прудникова. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – (Микробиология с основами вирусологии : УМКД № 142-2007 / рук. творч. коллектива Н. Д. Сорокин). – 1 электрон. опт. диск (DVD). – Систем. требования : *Intel Pentium* (или аналогичный процессор других производителей) 1 ГГц ; 512 Мб оперативной памяти ; 2 Мб свободного дискового пространства ; привод *DVD* ; операционная система *Microsoft Windows 2000 SP 4 / XP SP 2 / Vista* (32 бит) ; *Adobe Reader 7.0* (или аналогичный продукт для чтения файлов формата *pdf*).

ISBN 978-5-7638-1274-9 (комплекса)

ISBN 978-5-7638-1482-8 (конспекта лекций)

Номер гос. регистрации в ФГУП НТЦ «Информрегистр» 0320802766 от 23.12.2008 г. (комплекса)

Настоящее издание является частью электронного учебно-методического комплекса по дисциплине «Микробиология с основами вирусологии», включающего учебную программу, лабораторный практикум «Микробиология с основами вирусологии: методы микрoэкологического исследования наземных, водных и воздушных экосистем», методические указания по самостоятельной работе «Микробиология с основами вирусологии: методы микрoэкологического исследования наземных, водных и воздушных экосистем», контрольно-измерительные материалы «Микробиология с основами вирусологии. Банк тестовых заданий», наглядное пособие «Микробиология с основами вирусологии. Презентационные материалы».

В конспекте лекций описаны структурно-морфологические особенности клеток микроорганизмов, их систематика, метаболизм прокариотов, вопросы экологии; показано разнообразие мира микроорганизмов как части биосферы, их роль в ее устойчивом развитии.

Предназначен для студентов направления подготовки бакалавров 020200.62 «Биология» укрупненной группы 020000 «Естественные науки».

© Сибирский федеральный университет, 2008

Рекомендовано к изданию  
Инновационно-методическим управлением СФУ

Редактор Т. М. Пыжик

Разработка и оформление электронного образовательного ресурса: Центр технологий электронного обучения информационно-аналитического департамента СФУ; лаборатория по разработке мультимедийных электронных образовательных ресурсов при КрЦНИТ

Содержимое ресурса охраняется законом об авторском праве. Несанкционированное копирование и использование данного продукта запрещается. Встречающиеся названия программного обеспечения, изделий, устройств или систем могут являться зарегистрированными товарными знаками тех или иных фирм.

Подп. к использованию 01.09.2008

Объем 2 Мб

Красноярск: СФУ, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

# МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ВИРУСОЛОГИИ

- Учебная программа дисциплины
- Конспект лекций
- Пособие к практическим занятиям
- Банк КИМ в системе UniTest



УДК 579  
ББК 28.4  
П85

Электронный учебно-методический комплекс по дисциплине «Микробиология с основами вирусологии» подготовлен в рамках инновационной образовательной программы «Создание и развитие департамента физико-химической биологии и фундаментальной экологии», реализованной в ФГОУ ВПО СФУ в 2007 г.

Рецензенты:

Красноярский краевой фонд науки;  
Экспертная комиссия СФУ по подготовке учебно-методических комплексов дисциплин

**Прудникова, С. В.**

П85 Микробиология с основами вирусологии. Версия 1.0 [Электронный ресурс]: конспект лекций / С. В. Прудникова. – Электрон. дан. (2 Мб). – Красноярск : ИПК СФУ, 2008. – (Микробиология с основами вирусологии : УМКД № 142-2007 / рук. творч. коллектива Н. Д. Сорокин). – 1 электрон. опт. диск (DVD). – Систем. требования : *Intel Pentium* (или аналогичный процессор других производителей) 1 ГГц ; 512 Мб оперативной памяти ; 2 Мб свободного дискового пространства ; привод *DVD* ; операционная система *Microsoft Windows 2000 SP 4 / XP SP 2 / Vista* (32 бит) ; *Adobe Reader 7.0* (или аналогичный продукт для чтения файлов формата *pdf*).

ISBN 978-5-7638-1274-9 (комплекса)

ISBN 978-5-7638-1482-8 (конспекта лекций)

Настоящее издание является частью электронного учебно-методического комплекса по дисциплине «Микробиология с основами вирусологии», включающего учебную программу, пособие к практическим занятиям, методические указания по самостоятельной работе, организационно-методические указания, контрольно-измерительные материалы «Микробиология с основами вирусологии. Банк тестовых заданий», наглядное пособие «Микробиология с основами вирусологии. Презентационные материалы».

В конспекте лекций описаны структурно-морфологические особенности клеток микроорганизмов, их систематика, метаболизм прокариотов, вопросы экологии; показано разнообразие мира микроорганизмов как части биосферы, их роль в ее устойчивом развитии.

Предназначен для студентов направления подготовки бакалавров 020200.62 «Биология» укрупненной группы 020000 «Естественные науки».

© Сибирский федеральный университет, 2008

Рекомендовано к изданию  
Инновационно-методическим управлением СФУ

Редактор Т. М. Пыжик

Разработка и оформление электронного образовательного ресурса: Центр технологий электронного обучения информационно-аналитического департамента СФУ; лаборатория по разработке мультимедийных электронных образовательных ресурсов при КрЦНИТ

Содержимое ресурса охраняется законом об авторском праве. Несанкционированное копирование и использование данного продукта запрещается. Встречающиеся названия программного обеспечения, изделий, устройств или систем могут являться зарегистрированными товарными знаками тех или иных фирм.

Подп. к использованию 01.09.2008

Объем 2 Мб

Красноярск: СФУ, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>7</b>
<b>ЛЕКЦИЯ №1. ВОЗНИКНОВЕНИЕ И РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ .....</b>	<b>8</b>
1.1. Открытие микроорганизмов.....	8
1.2. Развитие представлений о природе процессов брожения и гниения.....	9
1.3. Научная деятельность Л. Пастера.....	9
1.4. Развитие микробиологии в XIX веке .....	10
1.5. Микробиология в XX веке .....	12
1.6. Направления микробиологии.....	13
<b>ЛЕКЦИЯ №2. МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ .....</b>	<b>15</b>
2.1. Размеры микроорганизмов .....	15
2.2. Морфология клеток.....	15
2.3. Морфологическая дифференцировка .....	16
2.4. Покоящиеся формы .....	17
<b>ЛЕКЦИЯ №3. СТРОЕНИЕ И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПРОКАРИОТОВ.....</b>	<b>20</b>
3.1. Общее строение прокариотической клетки .....	20
3.2. Поверхностные структуры клетки .....	20
3.2.1. Строение клеточной стенки .....	20
3.2.2. Капсулы, слизистые слои и чехлы.....	23
3.2.3. Жгутики и механизмы движения .....	24
3.2.4. Ворсинки .....	26
3.3. Мембранные структуры клетки .....	26
3.4. Цитоплазма и ее содержимое.....	27
3.5. Клеточные включения .....	28
3.6. Генетический аппарат .....	28
<b>ЛЕКЦИЯ №4. ПРИНЦИПЫ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОКАРИОТОВ.....</b>	<b>31</b>
4.1. Положение микроорганизмов в системе живого мира .....	31
4.2. Классификация прокариотов .....	31
<b>ЛЕКЦИЯ №5. РАЗНООБРАЗИЕ МИРА ПРОКАРИОТОВ .....</b>	<b>35</b>
5.1. Особенности отделов грамотрицательных, грамположительных, микоплазм и археобактерий .....	35
5.2. Характеристика некоторых важнейших представителей микробного мира..	36
<b>ЛЕКЦИЯ № 6. МИКРООРГАНИЗМЫ И ЭВОЛЮЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС.....</b>	<b>50</b>
6.1. Гипотезы о происхождении жизни.....	50
6.2. Возникновение прокариотов и эукариотов .....	51
6.2.1. Условия на древней Земле .....	51



6.2.2. Возможность образования органических веществ на первобытной земле .....	52
6.2.3. Эволюция протоклетки.....	53
6.2.4. Эволюция прокариотов.....	55
6.3. Систематика и филогения прокариотов.....	57
<b>ЛЕКЦИЯ № 7. ЦАРСТВО ГРИБОВ (FUNGI) .....</b>	<b>59</b>
7.1. Морфология и физиология грибной клетки .....	59
7.2. Способы размножения грибов.....	59
7.3. Экологические группы грибов и их практическое значение.....	60
<b>ЛЕКЦИЯ № 8. СИСТЕМАТИКА ГРИБОВ.....</b>	<b>62</b>
8.1. Принцип построения современной системы грибов .....	62
8.2. Основные таксономические критерии .....	62
8.3. Характеристика отделов, классов и некоторых представителей царства Fungi .....	62
8.3.1. Отдел <i>Muchomycota</i> .....	62
8.3.2. Отдел <i>Heterocontae</i> .....	63
8.3.3. Отдел <i>Eumycota</i> или настоящие грибы (слайд 8.14).....	64
<b>ЛЕКЦИЯ № 9. ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ .....</b>	<b>70</b>
9.1. История развития вирусологии .....	70
9.2. Строение и химический состав вирусов.....	72
9.2.1. Строение вирусов.....	72
9.2.2. Химический состав вирусов.....	73
9.3. Этапы взаимодействия вируса и клетки .....	75
9.3.1. Вирусы животных .....	76
9.3.2. Вирусы растений .....	77
9.3.3. Вирусы бактерий .....	78
9.4. Типы взаимодействия вируса и клетки .....	78
9.5. Общие методы изучения вирусов.....	80
<b>ЛЕКЦИЯ № 10. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ.....</b>	<b>81</b>
10.1. Характеристика классов ДНК- и РНК-вирусов.....	81
10.1.1. Вирусы, содержащие двухцепочечную ДНК (класс I).....	81
10.1.2. Вирусы, содержащие одноцепочечную ДНК (класс II) .....	83
10.1.3. Вирусы, содержащие двухцепочечную РНК (класс III).....	83
10.1.4. Вирусы, содержащие плюс-РНК цепь (класс IV).....	84
10.1.5. Вирусы, содержащие «минус»- цепь РНК (класс V) .....	85
10.1.6. Ретровирусы (класс VI) .....	86
10.2. Вироиды .....	89
10.3. Прионовые инфекции .....	89
<b>ЛЕКЦИЯ № 11. ПИТАНИЕ И РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ ....</b>	<b>92</b>
11.1. Способы существования прокариотов .....	92
11.2. Питание микроорганизмов.....	92
11.2.1. Круговорот углерода и кислорода .....	93
11.2.2. Круговорот углерода и кислорода .....	94
11.2.3. Потребность в макро- и микроэлементах .....	95

11.3. Способы размножения микроорганизмов.....	96
11.4. Культивирование микроорганизмов .....	97
11.4.1. Рост бактерий в периодической культуре .....	98
11.4.2. Рост бактерий в непрерывной культуре.....	100
<b>ЛЕКЦИЯ № 12. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У</b>	
<b>ПРОКАРИОТОВ.....</b>	<b>101</b>
12.1. Конструктивные и энергетические процессы.....	101
12.2. Энергетический метаболизм прокариотов .....	102
12.3. Процессы брожения.....	103
12.3.1. Молочнокислое брожение.....	104
12.3.2. Спиртовое брожение.....	105
12.3.3. Маслянокислое брожение .....	106
12.4. Бактериальный фотосинтез.....	107
12.4.1. Строение фотосинтетического аппарата .....	108
12.4.2. Фотофизические процессы, лежащие в основе фотосинтеза.....	109
12.5. Дыхательные процессы .....	112
12.5.1. Цикл трикарбоновых кислот .....	112
12.5.2. Неполное окисление .....	113
12.5.3. Дыхательная цепь .....	113
12.5.4. Анаэробное дыхание .....	115
<b>ЛЕКЦИЯ № 13. БИОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У</b>	
<b>ПРОКАРИОТОВ.....</b>	<b>117</b>
13.1. Мономеры конструктивного метаболизма .....	117
13.2. Ассимиляция углекислоты гетеротрофами и автотрофами. ....	118
13.3. Усвоение минеральных соединений азота .....	121
13.3.1. Фиксация азота .....	121
13.3.2. Ассимиляционная нитратредукция.....	122
13.4. Синтез аминокислот.....	122
13.5. Регуляция метаболизма .....	123
13.5.1. Регуляция на уровне транскрипции.....	124
13.5.2. Регуляция путем изменения каталитической активности .....	125
<b>ЛЕКЦИЯ № 14. ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ</b>	
<b>НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ.....</b>	<b>128</b>
14.1. Действие физических факторов.....	128
14.2. Действие химических факторов .....	131
14.3. Действие биологических факторов: симбиоз и антибиоз.....	134
14.4. Патогенность и вирулентность.....	135
14.5. Условно-патогенные микроорганизмы .....	137
<b>ЛЕКЦИЯ № 15. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭКОСИСТЕМЫ.</b>	<b>138</b>
15.1. Экологические ниши и экосистемы .....	138
15.2. Численность и разнообразие микроорганизмов в экосистемах.....	139
15.2.1. Водные экосистемы .....	139
15.2.2. Загрязнение водоемов .....	141

15.2.3. Почвенные экосистемы .....	142
15.2.4. Загрязнение почвы.....	144
15.2.5. Микрофлора воздуха .....	144
15.2.6. Загрязнение атмосферы .....	145
15.3. Санитарно-микробиологическая оценка микрофлоры объектов внешней среды .....	146
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>148</b>
<b>БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....</b>	<b>149</b>



## ВВЕДЕНИЕ

Микробиология – это один из разделов биологии, изучающий наиболее мелких представителей живого мира. Ее формирование как науки происходило в течение нескольких веков, и долгое время продолжалось эмпирическим путем. В настоящее время микробиология имеет несколько отраслей и направлений развития, самые перспективные из которых связаны с молекулярными и генетическими методами.

В основу данного курса лекций положены классические учебники по общей микробиологии отечественных (М. В. Гусев, Л. А. Минеева) и зарубежных (Г. Г. Шлегель, Г. Готшалк) авторов. В курсе лекций «Микробиология с основами вирусологии» рассматриваются следующие разделы:

– **становление и развитие**; где описывается возникновение микробиологии, формирование ее отраслей, а также вклад отечественных ученых в развитие микробиологии в нашей стране.

– **морфология и функциональная структура прокариотической клетки**;

– **разнообразие и систематика микроорганизмов**; где большое внимание уделяется многообразию представителей микробного мира: бактерий и грибов, а также неклеточных форм – вирусов, вирионов и прионов

– **рост микроорганизмов и их культивирование**; где подчеркивается многообразие способов существования прокариот, по сравнению с эукариотическими организмами, и описываются некоторые традиционные методы культивирования микроорганизмов;

– **энергетические и конструктивные процессы**, протекающие в бактериальных клетках; в том числе основные пути получения энергии – брожение, дыхание и фотосинтез, а также некоторые биосинтетические пути, ведущие к построению основных углерод- и азотсодержащих соединений клетки;

– **экологическая роль микроорганизмов в биосфере**, в том числе их значение в почвенных, водных и воздушных экосистемах, а также в процессах поддержания гомеостаза окружающей среды.

Курс состоит из 15 лекций, рассчитан на 36 часов, предназначен для студентов биологических специальностей вузов.



# ЛЕКЦИЯ №1. ВОЗНИКНОВЕНИЕ И РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ

- 1.1. Открытие микроорганизмов
- 1.2. Развитие представлений о природе процессов брожения и гниения
- 1.3. Научная деятельность Л. Пастера
- 1.4. Развитие микробиологии в XIX веке
- 1.5. Микробиология в XX веке
- 1.6. Направления микробиологии (слайд 1.3)

## 1.1. Открытие микроорганизмов

Микробиология – наука о микроорганизмах. Объектом изучения микробиологии являются микроорганизмы – организмы, имеющие размеры в пределах 0,1 мм. К ним относятся простейшие, одноклеточные водоросли, микроскопические грибы, бактерии, вирусы (слайд 1.4). Микроорганизмы распространены в природе повсеместно. Благодаря мелким размерам, их количество в 1 г вещества может составлять миллионы и миллиарды клеток.

На протяжении длительного времени человек жил в окружении микроорганизмов, не подозревая об их присутствии. Размеры этих микросуществ лежали ниже предела видимости, на который способен человеческий глаз. Первые оптические приборы появились очень давно: в Древнем Вавилоне находили двояковыпуклые линзы из горного хрусталя. Можно считать, что с их изобретением человек сделал первый шаг на пути в микромир.

Дальнейшее совершенствование оптической техники относится к XVI–XVII вв. и связано с развитием астрономии. Микроскоп был создан в 1610 г. Г. Галилеем (1564-1642) (слайд 1.5). Изобретение микроскопа открыло новые возможности для изучения живой природы. Р. Гук (слайд 1.6) (1635-1703) обнаружил ячеистое строение древесной ткани и ввел термин «клетка» («Микрография», 1665). Дальнейшие этапы изучения микромира связаны с совершенствованием оптических приборов.

А. ван Левенгук (1632-1723) – голландский мануфактурщик, первый человек, увидевший микроорганизмы (слайд 1.7). В 1676 г. ему впервые удалось увидеть бактерии в капле воды. Результаты своих наблюдений он посылал в Лондонское Королевское общество, членом которого впоследствии был избран.

В то время ученых волновали три основные проблемы: природа процессов брожения и гниения, причины возникновения инфекционных болезней и проблема самозарождения организмов. Именно они послужили стимулом для исследований, приведших к возникновению микробиологии.

## **1.2. Развитие представлений о природе процессов брожения и гниения**

Я. Б. ван Гельмонт (1577-1644) – голландский алхимик, впервые употребил термин «брожение» (слайд 1.8). Г. Э. Шталь (1660-1734) – немецкий врач и химик, описал процессы брожения и гниения как чисто химические (слайд 1.9).

Однако эта точка зрения принималась не всеми исследователями. О роли дрожжей в процессах брожения ученые писали уже в XVIII веке.

Ж.-Л. Л. де Бюффон (1707-1788) – французский натуралист и химик (слайд 1.10), А. Лавуазье (1743-1794) и Ш. Каньяр де Латур (1777-1859) – французский ботаник (слайд 1.11, 1.12), пришли к выводу, что жизнедеятельность дрожжей является причиной брожения. Почти одновременно Ф. Кютцинг (1807-1893) и Т. Шванн (1810-1882) пришли к аналогичным выводам (слайд 1.13).

Однако идеи о биологической природе брожения не получили признания. Господствовавшей оставалась теория физико-химической природы процессов брожения и только в 1857 г. Луи Пастер установил, что это – результат жизнедеятельности дрожжей без доступа кислорода.

## **1.3. Научная деятельность Л. Пастера**

Выдающийся французский ученый Луи Пастер (1822-1895) своими работами положил начало современной микробиологии (слайд 1.14). Научная деятельность Л. Пастера многогранна и охватывала все основные проблемы того времени, связанные с жизнедеятельностью микроорганизмов. Труды Л. Пастера:

1857 – Брожения.

1860 – Самопроизвольное зарождение.

1865 – Болезни вина и пива.

1868 – Болезни шелковичных червей.

1881 – Зараза и вакцина.

1885 – Предохранение от бешенства.

Л. Пастер обнаружил анаэробный способ существования, ввел термины «аэробный» и «анаэробный». Л. Пастер доказал невозможность самозарождения. Пастер разработал рекомендации по предупреждению попадания посторонних микробов из внешней среды (пастеризация).

Работы Л. Пастера в области изучения инфекционных болезней животных и человека позволили ему не только выяснить природу этих заболеваний, но и найти способ борьбы с ними, положив начало развитию медицинской микробиологии. Пастер предложил идею вакцинации. Применение вакцин дало блестящие результаты, и уже при жизни Пастера во многих странах были организованы Пастеровские станции, где готовили вакцины для прививок. В нашей стране – в 1886 в г. Одессе. Разработав

принцип изготовления вакцин и методы проведения профилактических прививок, Пастер заложил основы науки иммунологии.

За выдающиеся заслуги в 1882 г. Пастер был избран в Академию наук Франции, в 1893 г. – почетный член Петербургской академии. В 1888 г. в Париже на средства, полученные по международной подписке, был построен институт микробиологии. Пастер был первым директором этого института.

### **1.4. Развитие микробиологии в XIX веке**

Успехи микробиологии в этот период связаны с новыми идеями и методическими подходами, внесенными в микробиологические исследования Л. Пастером. Дж. Листер (1827-1912) – английский хирург, ввел в медицинскую практику обработку хирургических инструментов карболовой кислотой (слайд 1.15).

Р. Кох (1843-1910) – один из основоположников медицинской микробиологии (слайд 1.16). В 1877 г. опубликовал работу, посвященную возбудителю сибирской язвы. В 1882 г. открыл возбудителя туберкулеза. (В 1905 г. за исследование туберкулеза Р. Коху была присуждена Нобелевская премия.) Ему принадлежит также открытие возбудителя холеры (слайд 1.17).

Л. С. Ценковский (1822-1887) – родоначальник русской микробиологии. Им была организована одна из первых Пастеровских станций в России и в 1883 г. предложена вакцина против сибирской язвы («живая вакцина Ценковского») (слайд 1.18).

И. И. Мечников (1845-1916) – основоположник медицинской микробиологии. В 1883 г. создал фагоцитарную теорию иммунитета. В 1909 г. за исследования по фагоцитозу И. И. Мечникову (вместе с П.Эрлихом) была присуждена Нобелевская премия (слайд 1.19).

Н. Ф. Гамалея (1859-1949) – внес большой вклад в развитие медицинской микробиологии, иммунологии, вирусологии и учении о дезинфекции. Им были проведены работы по изучению бешенства, туберкулеза, холеры, чумы; предложена противохолерная вакцина (слайд 1.20).

Д. К. Заболотный (1866-1929) – основоположник эпидемиологии, создал учение о природной очаговости чумы, и выяснил роль диких грызунов как хранителей чумной палочки в природе. Он первым в нашей стране начал читать курс микробиологии на высших женских курсах в Петербурге.

С. Н. Виноградский (1856-1953) работал в Институте экспериментальной медицины (ИЭМ). В 1903 году основал Микробиологическое общество в России (слайд 1.21). В 1922 году стал заведующим агробактериологическим отделом Пастеровского института в Париже, которым руководил до своей смерти в 1953 году. Осуществлял программу работ по почвенной микробиологии и создал новую дисциплину, которую назвал экологической микробиологией. С. Н. Виноградский ввел микроэкологический принцип в исследование микроорганизмов, основанный

на создании элективных условий. Он обнаружил совершенно новый тип жизни, осуществляемый хемолитоавтотрофными микроорганизмами.

М. Бейеринк (1851-1931) – голландский ботаник и микробиолог (слайд 1.22). Наряду с Виноградским является основоположником экологического направления микробиологии. Бейеринк первым выделил и описал чистые культуры азотфиксирующих клубеньковых бактерий (1888) и азотобактера (1901).

В. Л. Омелянский (1867-1928) – ученик Виноградского много сделал для исследования нитрифицирующих, азотфиксирующих и пектинолитических бактерий (слайд 1.23). Им были впервые выделены и изучены бактерии, разлагающие целлюлозу. В. Л. Омелянский написал первый русский учебник по микробиологии.

Д. И. Ивановский (1864-1920) при проведении исследований мозаичной болезни табака (1892 г., Ялта) обнаружил вирус табачной мозаики. В 1898 г. независимо от Д. И. Ивановского вирус табачной мозаики был описан М. Бейеринком (слайд 1.24).

После работ Д. И. Ивановского и М. Бейеринка начинается серия открытий фильтруемости возбудителей многих заболеваний человека, животных и растений. Этих возбудителей, невидимых в обычный микроскоп, стали называть фильтрующимися вирусами, а затем вирусами.

Микология – наука о грибах – развивалась параллельно с микробиологией. Основателями ее считают А. де Бари (1831-1888) в Германии и М. С. Воронина (1838-1903) в России.

Г. А. Де Бари – немецкий морфолог, миколог и анатом растений, один из основоположников микологии (слайд 1.25). Его работы легли в основу современной микологии и фитопатологии. Первым изучил жизненный цикл многих грибов, выяснил гетеротрофный характер питания грибов, открыл и исследовал процесс оплодотворения. Предложил систематику грибов, описал морфологию, эволюцию и биологию грибов, лишайников и миксомицетов. Провел исследования в области альгологии (изучения водорослей).

М. С. Воронин получил неофициальный титул «русского Де Бари» (слайд 1.26). Он стал одним из первооткрывателей азотфиксирующих клубеньковых бактерий и первым высказал мысль о том, что шляпочные грибы вступают в симбиоз с высшими растениями. Его работы привели к открытию жизненных циклов многих фитопатогенов, в том числе ржавчинных и головневых грибов. За исследование патогенного гриба капусты он был удостоен золотой медали Российского общества садоводов.

А. А. Ячевский (1863-1932) – ботаник, составил первый «Определитель грибов» (1897), в который вошли 1000 видов, впервые описанных автором (слайд 1.27).

Таким образом, вторая половина XIX в. характеризуется выдающимися открытиями в области микробиологии. На смену описательному морфолого-систематическому изучению микроорганизмов, пришло физиологическое изучение микроорганизмов. Развитие нового этапа микробиологии связано в первую очередь с трудами Л. Пастера. К концу XIX в. намечается

дифференциация микробиологии на ряд направлений: общая, медицинская, почвенная.

### 1.5. Микробиология в XX веке

Для русской школы микробиологов характерной чертой была экологическая направленность, изучение функций микроорганизмов в природе. В поле зрения интересов русских микробиологов были организмы, участвующие в превращениях азота, углерода, серы, железа. Эти интересы были направлены на расширение знаний в области почвоведения, геологии и геохимии.

Г. А. Надсон (1867-1942) – ботаник-микробиолог, изучал роль микроорганизмов в круговороте веществ в природе и их геологическую деятельность, стал открывателем и основоположником общей радиобиологии и радиационной микробиологии (слайд 1.28). В 1925 г. он впервые получил индуцированные мутации дрожжей посредством облучения клеток рентгеновскими лучами. Был первым директором Института микробиологии (ИНМИ).

Б. Л. Исаченко (1871-1948) – специалист в области общей, морской и экологической микробиологии (слайд 1.29). Его исследования положили начало изучению роли микроорганизмов в круговороте веществ в водоемах.

А. А. Имшенецкий (родился 26.12.1904(8.1.1905)-1992). Во время директорства А. А. Имшенецкого в ИНМИ получили развитие геологическая и нефтяная микробиология, основы культивирования микроорганизмов, экзобиология (моделирование микробной жизни на Марсе). Автор работ по космической биологии. В 1955 г. Имшенецкому была присуждена медаль Л. Пастера (слайд 1.30).

Н. А. Красильников (1896-1973) – работал в области почвенной микробиологии, один из первых рассматривал жизнь почвенных микроорганизмов в единой системе с высшими растениями, им выполнено большое количество работ, посвященных антагонизму микробов (слайд 1.31). Н. А. Красильников известен также как крупнейший специалист по систематике микроорганизмов, он первый создал определитель бактерий и актиномицетов, разработал эволюционный принцип в систематике актиномицетов.

Е. Н. Мишустин (1901-1991), его основные труды по микробиологии почв, процессам самоочищения почв от загрязнений и патогенов, фиксации атмосферного азота, роли микроорганизмов в продуктивности земледелия. Разработал проблему зонального распространения микроорганизмов в почвах различных географических зон (слайд 1.32).

Мощным стимулом для развития промышленной микробиологии стало открытие пенициллина (слайд 1.33). А. Флеминг (1881-1955) – бактериолог, профессор микробиологии Лондонского университета, ректор Эдинбургского университета. В 1929 открыл вещество, которое выделял гриб *Penicillium*

*notatum*, назвал его пенициллином. А. Флеминг не смог получить пенициллин в пригодном для инъекций виде. Эту работу выполнили в Оксфорде Х. Флори (1898-1968) и Э. Чейн (1906-1979), лишь в 1938. Открытие пенициллина, а затем других антибиотиков произвело настоящую революцию в лечении инфекционных болезней.

З. В. Ермольева (1898-1974), выдающийся ученый-микробиолог и биохимик, создатель ряда отечественных антибиотиков (слайд 1.34). Ее основные труды по изучению холеры и антибиотикам. Ею был разработан метод экспресс-диагностики холеры. В Ташкентском институте вакцин и сывороток был создан и применен комплексный препарат бактериофага, который был способен бороться с возбудителями таких опасных заболеваний, как холера, брюшной тиф и дифтерия. Производство этого препарата было организовано в Сталинграде во время войны. Ежедневно его принимали 50 тыс. человек.

Величайшей заслугой Ермольевой является то, что она не только первой в нашей стране получила пенициллин, но и активно участвовала в организации и налаживании его промышленного производства в годы Великой Отечественной войны.

«Рождение» пенициллина послужило импульсом для создания других антибиотиков: стрептомицина, тетрациклина, левомицетина и др. Кроме того, Ермольева первой из отечественных ученых начала изучать интерферон как противовирусное средство.

В годы Великой Отечественной войны возникла потребность в большом количестве продуктов микробного происхождения, что привело к развитию промышленных методов их получения.

В. Н. Шапошников (1884-1968) – основатель промышленной микробиологии, заложил основы промышленного производства молочной и масляной кислот, ацетона, бутилового спирта и др. (слайд 1.35)

В. С. Буткевич (1872-1942) – разработал микробиологический способ получения лимонной кислоты. Широко известны его работы о роли микроорганизмов в образовании железомарганцевых руд. (слайд 1.36)

С. П. Костычев (1877-1931) изучал химизм дыхания и брожения и обнаружил генетическую связь между этими процессами. Совместно с В. С. Буткевичем С. П. Костычев разработал технологию промышленного получения лимонной кислоты с помощью гриба *Aspergillus niger*.

## 1.6. Направления микробиологии

С начала XX в. продолжается дальнейшая дифференциация микробиологии.

Общая микробиология: изучает морфологию, физиологию, экологию, систематику, генетику микроорганизмов; участие микроорганизмов в круговороте веществ в природе (слайд 1.37).

Водная микробиология: изучает роль микробов в круговороте веществ в природе, разрабатывает микробиологические способы очистки промышленных и сточных вод.

Почвенная микробиология: изучает видовой состав различных групп микроорганизмов, населяющих почву, их численность и зависимость от внешних условий, биохимическую деятельность почвенных микроорганизмов, их роль в эволюции и плодородии почвы, а также взаимодействие друг с другом и с высшими растениями.

Медицинская и ветеринарная микробиология: изучает патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, их роль в развитии инфекционной патологии. Границы современной медицинской микробиологии значительно расширились. Из нее выделились вирусология, иммунология, санитарная микробиология.

Сельскохозяйственная микробиология: изучает роль микроорганизмов в почвообразовании и плодородии почвы. Изучает патогенные для растений микроорганизмы, способы защиты растений от болезней и вредителей.

Космическая микробиология: изучает влияние на микроорганизмы космических условий, наличие микробов на других планетах и в метеоритах, способы предупреждения заноса земных микроорганизмов на другие планеты и заноса микробов из космоса на Землю. Важным вопросом является решение проблемы круговорота веществ в космических кораблях, для обеспечения жизнедеятельности человека в длительных космических полетах.

Геологическая микробиология: исследует роль микробов в круговороте элементов земной коры, в образовании полезных ископаемых, горных пород, разрабатывает микробиологические способы получения металлов из руд.

Промышленная микробиология (биотехнология) превратилась в мощную производительную силу. Задачей этой важной области является разработка и промышленное получение микробным синтезом различных соединений, микробных удобрений, БАВ (антибиотиков, ферментов, витаминов, гормонов, вакцин).

Генетика микроорганизмов – одно из наиболее прогрессирующих направлений современной микробиологии. Предметом этой науки является молекулярная структура генов прокариотов, закономерности функционирования и репликации генов, процессы мутагенеза, конструирование методом генной инженерии новых штаммов с заданными способностями биосинтеза веществ.



## ЛЕКЦИЯ №2. МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

- 2.1. Размеры микроорганизмов
- 2.2. Морфология клеток
- 2.3. Морфологическая дифференцировка
- 2.4. Покоящиеся формы (слайд 2.3)

### 2.1. Размеры микроорганизмов

Объекты, относимые к микроорганизмам, выделены по признаку их малых размеров и одноклеточных форм. Диапазон размеров микроорганизмов велик. Размеры одноклеточных зеленых водорослей и клеток дрожжей составляют десятки микрометров. Линейные размеры бактерий в среднем 0,5-3 мкм, нитчатые формы могут достигать в длину до 1 мм (слайд 2.4).

Самые мелкие из известных прокариотных клеток – бактерии, принадлежащие к группе микоплазм – 0,1-0,15 мкм. Этот размер является теоретическим пределом клеточного уровня организации жизни, при котором в клетке еще может быть минимум молекул белка (порядка 1200) и минимум ферментных реакций, необходимых для поддержания клеточной структуры. Мельчайшие микоплазменные клетки равны или даже меньше частиц вирусов.

Бактериальные клетки обычно можно увидеть в световой микроскоп. Размеры большинства вирусов находятся в диапазоне 16-200 нм (10<sup>-9</sup>) и лежат за пределами его разрешающей способности. Впервые наблюдать вирусы и выяснить их структуру удалось после изобретения электронного микроскопа. По своим размерам вирусы занимают место между самыми мелкими бактериальными клетками и самыми крупными органическими молекулами.

### 2.2. Морфология клеток

Микроорганизмы по форме делятся на группы: сферические, цилиндрические, спиральные, необычной формы и нитчатые (слайд 2.5).

Сферические бактерии, или кокки, имеют округлую форму. В зависимости от расположения клеток после их деления подразделяются на группы (слайд 2.6).

Микрококки – делятся в одной плоскости, и после деления клетки располагаются одиночно. Диплококки – делятся в одной плоскости, и после деления их клетки располагаются попарно. Стрептококки – делятся в одной плоскости, после деления между клетками сохраняется связь, и они располагаются в виде цепочек. Тетракокки – делятся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, и после деления образуют тетрады. Сарцины – делятся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях и после деления



располагаются в виде пакетов из 8, 16, 32, 64 клеток. Стафилококки – делятся в нескольких плоскостях, после деления клетки располагаются в виде виноградной грозди.

Кокки не всегда бывают правильной круглой формы, они могут быть ланцетовидными, удлинёнными, чечевицеобразными, бобовидными и др.

Цилиндрическая форма характерна для большинства бактерий. Палочковидные формы бактерий различаются по длине, по поперечному диаметру, по форме концов клеток и характеру их расположения.

Спиральной формы бактерии различаются количеством и характером завитков, длиной и толщиной клеток. Их подразделяют на негнущиеся (вибрионы, спириллы) и изгибающиеся (спирохеты) формы.

Необычные формы бактерий морфологически разнообразны. Тороидальные – замкнутые или незамкнутые кольца. Звездообразные клетки напоминают шестиугольную звезду. Тубероидальные клетки – это палочковидные бактерии со сферическими вздутиями. Форма плоских квадратных пластинок и коробчовидных плоских клеток геометрически разнообразной формы характерна архебактериям. Встречаются червеобразные клетки с заостренными тонкими концами и др.

Нитчатые формы бактерий – это палочковидные клетки, которые соединяются в длинные цепочки, объединяемые слизью, чехлами, плазмодесмами (мостиками) или общей оболочкой. Нити трихомных бактерий могут быть свободноплавающими или прикрепленными к субстрату.

Большинство бактерий одноклеточны, но имеются формы, состоящие из многих клеток. Примером истинно многоклеточных прокариотов с функциональной дифференциацией являются азотфиксирующие цианобактерии, у которых фиксация азота осуществляется гетероцистами – специализированными неделящимися клетками. Как правило, трихомные бактерии, стафилококки и др. образуют скопления клеток, не имеющих функциональной дифференциации – многоклеточные комплексы.

Все перечисленные формы бактерий характеризуются постоянством формы клетки. Однако имеются полиморфные бактерии. К ним относятся бактерии, которые лишены клеточной стенки; бактерии, у которых в цикле развития наблюдается смена форм клеток кокк-палочка-кокк; это могут быть и слабоветвящиеся формы. У ряда бактерий клетки могут образовывать различной формы выросты – простеки.

### 2.3. Морфологическая дифференцировка

Морфологическая дифференцировка вегетативных клеток связана с повышением выживаемости бактерий. Способность к формированию специализированных клеток, отличающихся от вегетативных клеток бактерий, запрограммирована в генетическом аппарате. Формирование таких

структур происходит в процессе развития бактериальной клетки или под действием внешних факторов (слайд 2.7).

Большинство таких структур относится к категории покоящихся форм, назначение которых – обеспечить переживание вида в течение длительного времени в неблагоприятных условиях. После попадания в подходящие условия покоящиеся формы прорастают, давая начало вегетативным клеткам.

Другие морфологически дифференцированные клетки служат для размножения. К ним относятся, например, гормогонии и бaeоциты цианобактерий. Наконец, третьи (гетероцисты цианобактерий, бактериоиды клубеньковых бактерий) связаны с фиксацией молекулярного азота атмосферы (слайд 2.8).

## 2.4. Покоящиеся формы

Эндоспоры – это особый тип покоящихся клеток грамположительных бактерий, формирующихся внутри цитоплазмы материнской клетки (слайд 2.9). В каждой бактериальной клетке формируется одна эндоспора (слайд 2.10). Эндоспоры обладают многослойными белковыми покровами, наружной и внутренней мембранами, кортексом. Кроме того, они устойчивы к высоким температурам и радиации, летальным в норме для вегетативных клеток (слайд 2.11).

Образование эндоспор – процесс, происходящий только в мире прокариотов. Этапы формирования эндоспоры на примере бактерий родов *Bacillus* и *Clostridium* (слайд 2.12).

1. У одного из полюсов клетки часть цитоплазмы вместе с генетическим материалом уплотняется и обособляется с помощью перегородки. Перегородка формируется впячиванием внутрь клетки ЦПМ. Эта стадия формирования споры напоминает клеточное деление.

2. Образование проспоры – «обрастание» отсеченного участка мембраной вегетативной клетки. Проспора расположена внутри материнской клетки и полностью отделенная от нее двумя элементарными мембранами: наружной и внутренней.

Описанные этапы формирования споры обратимы. Если к спорующей культуре добавить хлорамфеникол (ингибитор белкового синтеза), то можно остановить «обрастание» и процесс спорообразования превратится в процесс клеточного деления. После образования проспоры дальнейшие этапы спорообразования уже необратимы.

3. Формирование кортекса между наружным и внутренним мембранными слоями проспоры.

4. Синтез спорных покровов поверх наружной мембраны. Число, толщина и строение покровов различаются у разных видов бактерий. В формировании слоев спорных покровов принимает участие как наружная мембрана споры, так и протопласт материнской клетки.

5. Формирование многослойного экзоспориума поверх покровов споры.

Все слои, окружающие протопласт эндоспоры, находятся внутри материнской клетки. На их долю приходится примерно половина сухого вещества споры. После формирования споры происходит разрушение (лизис) «материнской» клеточной стенки, и спора выходит в среду.

Отличия споры от вегетативной клетки (слайд 2.13):

1. Белки эндоспор богаты цистеином и гидрофобными аминокислотами, с чем связывают устойчивость к действию неблагоприятных факторов.

2. Содержание ДНК и РНК в споре ниже, чем в исходной вегетативной клетке.

4. Накопление в спорах дипиколиновой кислоты и ионов кальция в эквивалентных количествах. Эти соединения образуют комплекс, локализованный в сердцевине споры. Обеспечивает термоустойчивость споры.

5. Повышенное содержание других катионов ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $K^{+}$ ), с которыми связывают пребывание спор в состоянии покоя и их термоустойчивость.

Покоящиеся клетки бактерий характеризуются низким уровнем метаболизма. В первую очередь дыхания. Для всех покоящихся форм характерна повышенная устойчивость к действию разнообразных повреждающих факторов: высоких и низких температур, обезвоживанию, высокой кислотности среды, радиации, механических воздействий и др. В наибольшей степени эта устойчивость проявляется у эндоспор. Для эндоспор основными факторами, обеспечивающими их устойчивость, предположительно является дегидратация (обезвоженность цитоплазмы), термостойкость споровых ферментов, а также наличие дипиколиновой кислоты и большого количества двухвалентных катионов. Большой вклад в устойчивость спор вносят поверхностные структуры.

Условия, способствующие образованию покоящихся клеток: наличие или отсутствие определенных питательных веществ в среде (метаболитов), изменение температуры, кислотности среды, условий аэрирования (слайд 2.14).

Помимо факторов внешней среды, обнаружены специфические вещества – индукторы спорообразования. Такие вещества могут выделяться в культуральную среду или накапливаться внутри клетки.

Сформированные покоящиеся клетки могут долгое время находиться в жизнеспособном состоянии и прорасти в подходящих условиях. Процесс прорастания состоит из нескольких этапов: активации, инициации и вырастания.

Экзоспоры – в отличие от эндоспор формируются снаружи (слайд 2.15). У большинства актиномицетов споры формируются путем деления гифы перегородками на участки, каждый из которых представляет собой будущую спору. Образование экзоспор сопровождается уплотнением и утолщением клеточной стенки. У экзоспор отсутствуют дипиколиновая кислота и характерные для эндоспор структуры (кортекс, экзоспориум). У

актиномицетов споры являются покоящимися клетками и одновременно репродуктивными структурами.

Экзоспоры бактерий из рода *Methylosinus* и *Rhodomicrobium* формируются в результате отпочкования от одного из полюсов материнской клетки.

Цисты встречаются у разных групп бактерий (слайд 2.16). Могут морфологически не отличаться от вегетативных клеток. У азотобактера образование цист сопровождается изменением морфологии клетки, потерей жгутиков и накоплением в цитоплазме поли-β-оксимасляной кислоты; одновременно происходит синтез дополнительных клеточных покровов: внешних (экзина) и внутренних (интина), различающихся структурно и химическим составом.

Акинеты – покоящиеся клетки некоторых цианобактерий. Они крупнее вегетативных клеток, имеют продолговатую или сферическую форму, гранулированное содержимое и толстую оболочку. Прорастание акинет происходит иногда вскоре после их образования или только после перенесения в свежую питательную среду.

Цисты и акинеты более устойчивы к нагреванию, высушиванию, различным физическим воздействиям, чем вегетативные клетки.

Гетероцисты и бактериоиды участвуют в фиксации атмосферного азота (слайд 2.17). Гормогонии, бaeоциты – образуются у цианобактерий и служат для размножения (слайд 2.18).

# **ЛЕКЦИЯ №3. СТРОЕНИЕ И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПРОКАРИОТОВ**

- 3.1. Общее строение прокариотической клетки
- 3.2. Поверхностные структуры клетки
  - 3.2.1. Строение клеточной стенки
  - 3.2.2. Капсулы, слизистые слои и чехлы
  - 3.2.3. Жгутики и механизмы движения
  - 3.2.4. Ворсинки
- 3.3. Мембранные структуры клетки
- 3.4. Цитоплазма и ее содержимое
- 3.5. Клеточные включения
- 3.6. Генетический аппарат (слайд 3.3)

## **3.1. Общее строение прокариотической клетки**

Все микроорганизмы в зависимости от строения клетки делят на эукариоты и прокариоты. К эукариотным микроорганизмам относятся водоросли, грибы и простейшие; к прокариотам – бактерии (слайд 3.4).

Прокариотный и эукариотный типы клеточной организации являются наиболее существенной границей, разделяющей все клеточные формы жизни (слайд 3.5).

## **3.2. Поверхностные структуры клетки**

Клетка состоит из протопласта и поверхностных структур. Поверхностные структуры клетки, расположенные снаружи от ЦПМ – клеточная стенка, капсула, слизистый чехол, жгутики, ворсинки. Протопласт – ЦПМ вместе с цитоплазмой (слайд 3.6).

### **3.2.1. Строение клеточной стенки**

Клеточная стенка – важный и обязательный структурный элемент большинства бактерий. На долю клеточной стенки приходится от 5 до 50% сухих веществ клетки (слайд 3.7).

В состав клеточной стенки входят специфические полимерные комплексы, которые не содержатся в других структурах. Химический состав и строение клеточной стенки постоянны для определенного вида и являются важным диагностическим признаком. В зависимости от строения клеточной стенки прокариоты окрашиваются по-разному и делятся на две группы: грамположительные и грамотрицательные. Способ окраски был предложен в 1884 г. датским ученым Х. Грамом, занимавшимся окрашиванием тканей (слайд 3.8).

Клеточные стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий резко различаются как по химическому составу, так и по ультраструктуре.

**Клеточная стенка грамположительных бактерий** плотно прилегает к ЦПМ. Под электронным микроскопом она выглядит как гомогенный электронно-плотный слой, толщина которого колеблется от 20 до 80 нм.

У грамположительных бактерий пептидогликан составляет основную массу вещества клеточной стенки (40-90%). Пептидогликан – это гетерополимер, состоящий из чередующихся остатков N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных между собой  $\beta$ -1,4-гликозидными связями (рисунок). К N-ацетилмурамовой кислоте присоединен короткий пептидный хвост, состоящий из небольшого числа (обычно 4–5) аминокислот. У грамположительных бактерий обнаружено более 100 различных химических типов пептидогликана. Большинство различий относится к пептидной части его молекулы (слайд 3.9).

Две особенности пептидного хвоста:

1. наличие аминокислот в D-форме (неприродная конфигурация) и
2. высокое содержание аминокислот с двумя аминогруппами.

Вторые аминогруппы участвуют в формировании дополнительных пептидных связей между гетерополимерными цепочками.

В состав клеточных стенок грамположительных бактерий входят теиховые кислоты. Это полимеры, построенные на основе рибита или глицерина, соединенных между собой фосфодиэфирными связями. Некоторые свободные гидроксильные группы в молекулах спиртов могут быть замещены остатками D-аланина, глюкозы, N-ацетилглюкозамина и некоторых других сахаров (слайд 3.10).

Теиховые кислоты ковалентно соединяются с N-ацетилмурамовой кислотой. Как полианионы теиховые кислоты определяют поверхностный заряд клетки. Сахарные компоненты теиховых кислот входят в состав рецепторов для некоторых бактериофагов и определяют возможность адсорбции фага на клеточной поверхности (слайд 3.11).

В составе клеточной стенки грамположительных бактерий в небольших количествах также найдены полисахариды, белки и липиды.

**Клеточная стенка грамотрицательных бактерий** многослойная. Внутренний электронно-плотный слой (2-3 нм) состоит из пептидогликана. Снаружи к нему прилегает волнистый слой (8-10 нм), имеющий строение, характерное для элементарных мембран – наружная мембрана. Слой пептидогликана отделен от ЦПМ периплазматическим пространством. У грамотрицательных бактерий содержание пептидогликана значительно меньше (1-10%). У большинства видов он образует одно- или двухслойную структуру с довольно редкими поперечными связями между цепями (слайд 3.12).

Наружная мембрана состоит из фосфолипидов, типичных для элементарных мембран; белков; липопротейна и липополисахарида. Специфическим компонентом наружной мембраны является липополисахарид (ЛПС), занимающий около 30-40 % ее поверхности и

локализованный во внешнем слое. ЛПС содержат три участка: липид А, сердцевинную часть и О-специфическую полисахаридную цепь. ЛПС являются антигенами бактерий (слайд 3.13).

Белки-порины пронизывают наружную мембрану насквозь и формируют гидрофильные поры, через которые осуществляется неспецифическая диффузия молекул. Минорные белки наружной мембраны представлены большим числом видов. Их основная функция – транспортная и рецепторная.

**Необычные клеточные стенки прокариот.** Некоторые скользящие бактерии способны в процессе перемещения по твердому субстрату менять форму клеток, что говорит об эластичности их клеточной стенки, и в первую очередь ее пептидогликанового слоя. Наиболее вероятное объяснение гибкости клеточной стенки этих бактерий – чрезвычайно слабая сшитость ее пептидогликанового компонента (слайд 3.14).

Клеточная стенка архебактерий по структуре и химическому составу резко отличается от описанных выше типов. Клеточные стенки метанобразующих архебактерий содержат пептидогликан особого химического строения. У других представителей этой группы клеточная стенка может состоять из кислого гетерополисахарида или только из белка. Архебактерии с клеточной стенкой белковой природы не окрашиваются по Граму, остальные типы архебактериальной клеточной стенки дают грамположительную реакцию.

**Прокариоты без клеточной стенки.** Протопласты – клетки, лишенные клеточной стенки (слайд 3.15). Получают их из грамположительных бактерий, с помощью литических ферментов: лизоцима, эндопептидаз, амидаз, гликозидаз и др.

Независимо от формы исходных клеток бактерий протопласты всегда приобретают сферическую форму. В протопластах осуществляются основные процессы жизнедеятельности: дыхание, синтез белков, нуклеиновых кислот, спорообразование. Они могут увеличиваться в размерах, фиксировать азот (у азотфиксирующих бактерий). Протопласты не способны ресинтезировать клеточную стенку, редко делятся, не адсорбируют фаги, так как рецепторы фагов локализованы в клеточной стенке. При некоторых условиях (например, в 30 %-м желатине) в протопластах можно индуцировать регенерацию клеточных стенок и они реверсируют в исходную форму, но это происходит чрезвычайно редко. Протопласты используют в функциональной анатомии бактерий, для выделения и изучения мембранных структур, в генетике бактерий.

Сферопласты – бактериальные клетки, частично лишенные клеточной стенки (слайд 3.16). Их обнаруживают в старых культурах, в условиях несбалансированного роста, под влиянием иммунных сывороток и др. Их легче всего получать под влиянием пенициллина в гипертоническом растворе сахарозы или NaCl (осмотические стабилизаторы). Пенициллин предотвращает образование пептидогликана у растущих клеток, нарушая



процесс образования поперечных связей между пептидными цепочками муреина.

Сферопласты отличаются от протопластов тем, что адсорбируют фаги, так как частично сохраняют клеточную стенку, размножаются, легко реверсируют в исходную клеточную форму при устранении факторов, вызвавших их образование. Общими свойствами протопластов и сферопластов являются большие размеры, отсутствие клеточных мембран типа мезосом, чрезвычайная чувствительность к осмотическим условиям.

L-формы бактерий – образуются при антибиотикотерапии в условиях нарушения биосинтеза пептидогликана и полностью или частично лишены его (слайд 3.17). У L-форм бактерий нарушается функция размножения при сохранении функции роста, в результате чего значительно увеличиваются размеры клеток, которые превращаются в гигантские (до 50 мкм) шаровидные, нитевидные, грушевидные сильно вакуолизированные формы. L-формы обладают метаболической активностью, способностью к делению и слиянию их элементов. L-формы медленно (1-4 и более недель) растут в виде характерных колоний с растущим в среду слегка пигментированным центром и нежным кружевным краем (яичница).

L-формы болезнетворных бактерий – патогенные. Они сохраняют способность продуцировать токсины и другие вещества, синтез которых осуществляется в цитоплазме либо в цитоплазматической мембране. Заболевания, обусловленные реверсией L-форм, характеризуются длительностью течения, меньшей смертностью, большей инвалидностью. L-формы имеют приспособительное значение для клетки как способ переживания бактериями неблагоприятных условий (слайд 3.18).

Функции клеточной стенки прокариот (слайд 3.19):

1. Поддержание внешней формы клетки.
2. Защита от воздействий окружающей среды.
3. Защита от внутреннего осмотического давления.
4. Транспорт веществ и ионов, необходимых клетке.
5. Препятствует проникновению токсических веществ и антибиотиков.
6. Изолирует содержимое клетки от гидролитических ферментов,
7. Содержит транспортные белки и гидролитические ферменты.
8. Содержит специфические рецепторы и антигены.
9. Обеспечивает межклеточные взаимодействия при конъюгации, а также между патогенными бактериями и тканями высших организмов.

### **3.2.2. Капсулы, слизистые слои и чехлы**

Снаружи клеточная стенка прокариот часто бывает окружена слизистым веществом. Такие образования в зависимости от структурных особенностей получили название капсул, слизистых слоев или чехлов. Все они являются результатом биосинтеза клеткой органических полимеров (слайд 3.20).

Капсула – это слизистое образование, обволакивающее клетку, сохраняющее связь с клеточной стенкой и имеющее аморфное строение. Если толщина образования меньше 0,2 мкм – микрокапсула, если больше 0,2 мкм – макрокапсула. Макрокапсулу можно видеть в обычный световой микроскоп при контрастном окрашивании. Наличие капсулы зависит от штамма микроорганизма и условий его культивирования. Бактерии, образующие капсулу, могут легко в результате мутации превращаться в бескапсульные формы.

Чехлы имеют несколько слоев с разным строением. Чехлы ряда бактерий, метаболизм которых связан с окислением восстановленных соединений металлов, часто инкрустированы их окислами (слайд 3.21).

Основные химические компоненты большинства капсул прокариот – гомо- или гетерополисахариды. Чехлы как более сложные структуры имеют обычно и более сложный химический состав.

Функции: защищают клетку от механических повреждений, высыхания, создают дополнительный осмотический барьер, служат препятствием для проникновения фагов. Иногда могут служить источником запасных питательных веществ. С помощью слизи осуществляется связь между соседними клетками в колонии, а также прикрепление клеток к различным поверхностям. Способность определенных бактерий синтезировать эти своеобразные внеклеточные полимеры находит практическое применение: их используют в качестве заменителя плазмы крови, а также для получения синтетических пленок (слайд 3.22).

### 3.2.3. Жгутики и механизмы движения

Жгутики – это поверхностные структуры прокариот, определяющие способность клетки к движению в жидкой среде. Их число, размеры, расположение являются признаками, постоянными для определенного вида (слайд 3.23).

Если жгутики находятся у полюсов или в полярной области клетки, говорят об их полярном или субполярном расположении, если – вдоль боковой поверхности, говорят о латеральном расположении. В зависимости от числа жгутиков и их локализации на поверхности клетки различают: монополярные монотрихи, монополярные политрихи или лофотрихи, биполярные политрихи или амфитрихи и перитрихи (слайд 3.24).

Обычная толщина жгутика – 10-20 нм, длина – от 3 до 15 мкм. Вращение жгутика осуществляется против часовой стрелки, с частотой от 40 до 60 оборотов в секунду. Клетка вращается в противоположном направлении со значительно меньшей скоростью – порядка 12–14 об/мин. Скорость поступательного движения клетки для разных видов бактерий составляет от 16 до 100 мкм/с. Движение жгутика обеспечивается энергией трансмембранного электрохимического потенциала.

Жгутик состоит из трех частей: спиральной нити, «крюка» вблизи поверхности клетки и базального тельца. Нити жгутиков состоят из

специфического белка флагеллина. Крюк состоит из белка, отличающегося от флагеллина, и служит для обеспечения гибкого соединения нити с базальным телом. Базальное тело содержит 9–12 различных белков (слайд 3.25).

Базальное тельце закрепляет жгутик в плазматической мембране и клеточной стенке. Оно состоит из центрального стержня и колец. Кольца Р и L локализованы в пептидогликановом слое и в наружной мембране. М-кольцо локализовано в ЦПМ, S-кольцо располагается в периплазматическом пространстве грамотрицательных или в пептидогликановом мешке грамположительных бактерий. Предполагают, что вращение жгутика определяется вращением М-кольца. Другие кольца базального тела неподвижны и служат для крепления стержня.

О- и Н-антигены. Клетки, обладающие большой подвижностью, распространяется по всей поверхности агара в виде тонкого серого налета (Н-форма, Nauch-налет). Некоторые штаммы налета не образуют (О-форма, ohne Nauch-без налета). Эти штаммы неподвижны, они лишены жгутиков. Отсюда ведет начало терминология, принятая в бактериальной серодиагностике: антигены поверхности или тела клетки (соматические) называют О-антигенами, а антигены жгутиков – Н-антигенами.

Движение спирохет осуществляется за счет вращения аксиальных фибрилл в периплазматическом пространстве между пептидогликановым слоем и наружной мембраной клеточной стенки (слайд 3.26). Количество фибрилл колеблется от 2 до 100. Один конец каждой фибриллы прикреплен вблизи полюса клетки, другой – свободный (слайд 3.27). По химическому составу аксиальные фибриллы близки с бактериальными жгутиками.

Скользящее движение. Способность к скольжению обнаружена у разных групп прокариот, как одноклеточных, так и многоклеточных (нитчатых). Скорость этого типа движения невелика: 2-11 мкм/с. Общим для всех скользящих организмов является способность к выделению слизи. Кроме того, у ряда скользящих форм в составе клеточной стенки между пептидогликановым слоем и наружной мембраной обнаружен тонкий слой, состоящий из белковых фибрилл. Направление вращения является видоспецифическим признаком и зависит от направления движения белковых фибрилл.

Таксисы бактерий (слайд 3.28). Подвижные бактерии активно перемещаются в направлении, определяемом внешними факторами. Хемотаксис – движение относительно источника химического вещества. Для каждого организма все химические вещества в этом плане могут быть разделены на две группы: инертные и вызывающие таксисы (эффекторы). Среди эффекторов выделяют аттрактанты (вещества, привлекающие бактерий) и репелленты (вещества, отпугивающие бактерий). Аттрактантами могут быть сахара, аминокислоты, витамины, нуклеотиды; репеллентами – аминокислоты, спирты, фенолы, неорганические ионы и другие. Частным случаем хемотаксиса является аэротаксис (слайд 3.29).

Фототаксис – движение к свету или от него, свойственен фототрофным бактериям. Магнитотаксис – способность перемещаться по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита. В клетках таких бактерий найдены частицы – магнитосомы, заполненные железом в форме магнетита ( $Fe_3O_4$ ) и выполняющие функцию магнитной стрелки. В северном полушарии такие магниточувствительные бактерии плывут в направлении северного полюса Земли, в южном – в направлении южного. Вискозитаксис – способность реагировать на изменение вязкости раствора и перемещаться в направлении ее увеличения или уменьшения.

### 3.2.4. Ворсинки

Ворсинки или фимбрии, пили (слайд 3.30). Их насчитывается от нескольких единиц до нескольких тысяч на клетку. Эти структуры не имеют отношения к движению бактерий и обнаружены у подвижных и неподвижных форм. Ворсинки построены из одного вида белка – пилина – и представляют собой прямые белковые цилиндры, отходящие от поверхности клетки. Они, как правило, тоньше жгутиков (диаметр – 5-10 нм, длина 0,2-2,0 мкм), расположены перитрихально или полярно.

Описаны ворсинки общего типа и половые. Ворсинки общего типа придают бактериям свойство гидрофобности, обеспечивают их прикрепление к клеткам растений, грибов и неорганическим частицам, принимают участие в транспорте метаболитов. Через ворсинки в клетку могут проникать вирусы.

Половые ворсинки, или F-пили, принимающие участие в половом процессе бактерий (слайд 3.31). F-пили необходимы клетке-донору для обеспечения контакта между ней и реципиентом и в качестве конъюгационного тоннеля, по которому происходит передача ДНК. Ворсинки не являются обязательной клеточной структурой.

## 3.3. Мембранные структуры клетки

Содержимое клетки отделяется от клеточной стенки цитоплазматической мембраной (ЦПМ). Это – обязательный структурный элемент любой клетки, нарушение целостности которого приводит к потере жизнеспособности. На долю ЦПМ приходится 8-15% сухого вещества клеток (слайд 3.32). У большинства прокариотных клеток ЦПМ – единственная мембрана. В клетках фототрофных и ряда хемотрофных прокариот мембранные структуры содержатся также в цитоплазме (внутрицитоплазматические мембраны).

По структуре ЦПМ бактерий является типичной биологической мембраной, состоящей из белков и липидов. В некоторых бактериальных мембранах в значительных количествах обнаружены углеводы (слайд 3.33).

Главная функция липидов – поддержание механической стабильности мембраны и придание ей гидрофобных свойств. При «биологических»

температурах мембранные липиды находятся в жидкостно-кристаллическом состоянии. Это свойство обуславливает высокую эластичность мембран: они легко сливаются друг с другом, растягиваются и сжимаются. При понижении температуры они переходят в квазикристаллическое состояние. Чем более ненасыщены и разветвлены остатки жирных кислот или чем большее число циклических группировок они содержат, тем ниже температура перехода из жидкостно-кристаллического состояния в квазикристаллическое.

Мембранные белки – это, как правило, ферменты. По аминокислотному составу мембранные белки не отличаются от других клеточных белков.

Функции ЦПМ прокариот (слайд 3.34):

1. Барьерная или разъединяющая.
2. Ферментативная (в ЦПМ локализованы ферменты).
3. Энергетическая (в ЦПМ расположены переносчики цепи электронного транспорта).
4. ЦПМ принимает участие в репликации хромосомы.
5. Интегрирующая (объединяет клетку в единое целое).
6. Транспортная (осуществляется с использованием разных механизмов мембранного транспорта).

Выделяют 4 типа транспортных систем: пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт, перенос химически модифицированных молекул.

#### **Внутрицитоплазматические мембраны**

Мезосомы – локальные впячивания ЦПМ, различаются размерами, формой и локализацией в клетке (слайд 3.35).

Фотосинтетические мембраны (тилакоиды) – характерны для большинства фотосинтезирующих бактерий. Хлоросомы зеленых бактерий и фикобилисомы цианобактерий – содержат пигменты фотосинтезирующих бактерий (слайд 3.36).

Карбоксисомы – содержат ключевой фермент фиксации CO<sub>2</sub> в цикле Кальвина – рибулозодифосфаткарбоксилазу (слайд 3.37).

Газовые вакуоли (или аэросомы) – характерны для водных бактерий, обитателей илов, отдельных почвенных бактерий, являются регуляторами плавучести.

Магнитосомы – обнаружены в клетках бактерий, обладающих магнитотаксисом, содержат частицы Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

### **3.4. Цитоплазма и ее содержимое**

Содержимое клетки, окруженное ЦПМ, называется цитоплазмой. Фракция цитоплазмы, имеющая гомогенную консистенцию и содержащая набор растворимых РНК, ферментных белков, продуктов и субстратов метаболических реакций, получила название цитозоля. Другая часть цитоплазмы представлена разнообразными структурными элементами:

внутрицитоплазматическими мембранами, генетическим аппаратом, рибосомами и включениями (слайд 3.38).

Рибосомы – место синтеза белка – рибонуклеопротеиновые частицы размером 15-20 нм (слайд 3.39). Их количество в клетке зависит от интенсивности процессов белкового синтеза и колеблется от 5000 до 90 000. Общая масса рибосом может составлять примерно 1/4 клеточной массы. Рибосомы прокариот имеют константу седиментации 70S. Они построены из двух субчастиц: 30S и 50S. 30S-частица содержит одну молекулу 16S-рРНК и в большинстве случаев по одной молекуле белка. 50S-субъединица состоит из двух молекул рРНК (23S и 5S). В ее состав входят более 30 различных белков, представленных одной копией. Большая часть рибосомальных белков выполняет структурную функцию.

Синтез белка осуществляется агрегатами, состоящими из рибосом, молекул информационной и транспортных РНК и называемыми полирибосомами, или полисомами, которые могут находиться в цитоплазме или же быть связанными с мембранными структурами.

### 3.5. Клеточные включения

Запасные вещества прокариот представлены полисахаридами (гликоген, крахмал и гранулеза), липидами, полипептидами, полифосфатами (волютин), отложениями серы (слайд 3.40).

Включения карбоната кальция (известковые тельца) обнаружены в клетках некоторых серобактерий. Предполагают, что они выполняют функцию нейтрализаторов среды, соединяясь с серной кислотой, образующейся при окислении внутриклеточной серы.

Кристаллоподобные включения *Bacillus thuringiensis* называют параспоральными, так как они располагаются в клетке рядом со спорой. Эти включения белковой природы высокотоксичные для насекомых. Кристаллоподобные включения не токсичны для позвоночных животных и растений и это обусловило их широкое применение в сельском хозяйстве для борьбы с насекомыми – вредителями растений.

Все запасные вещества представлены в виде высокомолекулярных полимерных молекул, в ряде случаев отграниченных от цитоплазмы белковой мембраной, т. е. находятся в осмотически неактивном состоянии. Это важно, так как в противном случае сосредоточение в цитоплазме большого числа молекул осмотически активных веществ оказало бы на клетку отрицательное действие.

### 3.6. Генетический аппарат

У прокариот ДНК (нуклеоид) представляет собой компактное образование, занимающее центральную область в цитоплазме и не отделенное от нее мембраной (слайд 3.41). Вся генетическая информация

прокариот содержится в одной молекуле ДНК, имеющей форму ковалентно замкнутого кольца и получившей название бактериальной хромосомы. Длина молекулы в развернутом виде может составлять более 1 мм. Хромосомы прокариот представляют собой высокоупорядоченную структуру, имеющую константу седиментации 1300-2000S для свободной и 3200-7000S для связанной с мембраной формы. В том и другом случае часть ДНК в этой структуре представлена системой из 20-100 независимо суперспирализованных петель. В обеспечении суперспирализованной организации хромосом участвуют молекулы РНК (слайд 3.42).

Согласно существующим представлениям суперспирализованные петли соответствуют неактивным в данное время участкам ДНК и находятся в центре нуклеоида. По его периферии располагаются деспирализованные участки, на которых происходит синтез информационной РНК (иРНК), при этом, поскольку у бактерий процессы транскрипции и трансляции идут одновременно, одна и та же молекула иРНК может быть одновременно связана с ДНК и рибосомами.

Хромосомы большинства прокариот имеют молекулярную массу в пределах  $1-3 \times 10^9$  Да. В группе микоплазм генетический материал представлен молекулами, имеющими наименьшее для клеточных организмов количество ДНК ( $0,4-0,8 \times 10^9$ ), а наибольшее содержание ДНК обнаружено у нитчатых цианобактерий ( $8,5 \times 10^9$ ).

Часто в экспоненциально растущей культуре количество ДНК на клетку может достигать массы 3, 4, 8 и более хромосом. Нередко в клетках при действии на них определенных факторов (температуры, рН среды, ионизирующего излучения, солей тяжелых металлов, некоторых антибиотиков и др.) происходит образование множества копий хромосомы. При устранении воздействия этих факторов, а также после перехода в стационарную фазу в клетках, как правило, обнаруживается по одной копии хромосомы.

Молекула ДНК несет множество отрицательных зарядов, поскольку каждый фосфатный остаток содержит ионизированную гидроксильную группу. В клетках подавляющего большинства прокариот не обнаружено гистонов, поэтому нейтрализация зарядов осуществляется взаимодействием ДНК с полиаминами (спермином и спермидином), а также с ионами  $Mg^{2+}$ . У некоторых археобактерий и цианобактерий обнаружены гистоны и гистоноподобные белки, связанные с ДНК. Содержание пар оснований А+Т и Г+Ц в молекуле ДНК является постоянным для данного вида организма и служит важным диагностическим признаком. У прокариот молярная доля ГЦ в ДНК колеблется в очень широких пределах: от 23 до 75%.

Деление молекулы ДНК (репликация) происходит по полуконсервативному механизму (слайд 3.43). Репликация ДНК начинается в точке прикрепления кольцевой хромосомы к ЦПМ, где локализован ферментативный аппарат, ответственный за репликацию. Контакт ДНК с ЦПМ осуществляется посредством мезосом. Репликация идет в двух

противоположных направлениях. Возникающие дочерние хромосомы остаются прикрепленными к мембране. Репликация молекул ДНК происходит параллельно с синтезом мембраны в области контакта ДНК с ЦПМ. Это приводит к разделению дочерних молекул ДНК и оформлению обособленных хромосом.

Помимо хромосомы, в клетках бактерий часто находятся плазмиды – также замкнутые в кольцо ДНК, способные к независимой репликации (слайд 3.44). Они могут быть настолько велики, что становятся неотличимы от хромосомы, но содержат дополнительные гены, необходимые лишь в специфических условиях. В них кодируются механизмы устойчивости к антибиотикам, разрушения специфических веществ и т. д., *nit*-гены, необходимые для азотфиксации также находятся в плаزمиде. Специальные механизмы распределения обеспечивают сохранение плазмиды в дочерних клетках.

В ДНК бактерий выделяются транспозоны – мобильные сегменты, способные перемещаться из одной части хромосомы к другой, или во внехромосомные ДНК (в том числе в другие клетки). Эти сегменты неспособны к автономной репликации (слайд 3.45).

**Химический состав одноклеточных организмов.** Вес сырой биомассы бактерий определяют после отделения клеток от жидкой питательной среды путем центрифугирования. Осевшая клеточная масса содержит 70-85% воды; таким образом, сухая биомасса составляет 15-30% от сырой массы. Если клетки содержат много запасного материала (липиды, полисахариды, полифосфаты или серу), доля сухой массы больше (слайд 3.46). Сухое вещество бактерий – это в основном полимеры [белки (50%), компоненты клеточной стенки (10-20%), РНК (10-20%), ДНК (3-4%)], а также липиды (10%). Десять важнейших химических элементов представлены в клетках бактерий примерно следующим образом: углерод-50%, кислород - 20%, азот-14%, водород-8%, фосфор-3%, сера-1%, калий-1%, кальций-0,5%, магний-0,5% и железо 0,2%.



# ЛЕКЦИЯ №4. ПРИНЦИПЫ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОКАРИОТОВ

4.1. Положение микроорганизмов в системе живого мира

4.2. Классификация прокариотов

## 4.1. Положение микроорганизмов в системе живого мира

Начиная с Аристотеля, биологи делили живой мир на два царства – растений и животных (слайд 4.4). Во второй половине XIX в. немецкий биолог Э. Геккель (E. Haeckel, 1834-1919) предложил выделить все микроорганизмы, у которых отсутствует дифференцировка на органы и ткани (простейшие, водоросли, грибы, бактерии), в отдельное царство *Protista*.

Данные о различии в строении клеток микроорганизмов, входящих в группу *Protista*, начали накапливаться с конца XIX в, что повлекло за собой деление группы на высшие и низшие протисты в соответствии с двумя типами клеточной организации – эукариотной и прокариотной. Р. Меррей (R. Murray) в 1968 г. предложил все клеточные организмы разделить на два царства: *Prokaryotae* и *Eukaryotae*.

Р. Уиттэкер (R. Whittaker) предложил схему, по которой все живые организмы, имеющие клеточное строение, представлены разделенными на пять царств (слайд 4.5). Такая классификация отражает три основных уровня клеточной организации: *Monera* включает прокариотные организмы, *Protista* – микроскопические эукариоты, многоклеточные эукариоты представлены в свою очередь тремя царствами *Plantae*, *Fungi* и *Animalia*.

Три последние таксономические группы различаются по способу питания: фототрофный тип питания характерен для растений (*Plantae*); грибы (*Fungi*) в основном питаются осмотрофно; животные (*Animalia*) осуществляют голозойное питание.

## 4.2. Классификация прокариотов

Одна из задач систематики прокариот, как и других живых существ, распределение множества организмов по группам (слайд 4.6).

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

В систематике бактерий для наименования объекта используют бинарную номенклатуру К. Линнея. Названия бактериям присваивают в соответствии с правилами «Международного кодекса номенклатуры бактерий» разработанного в 1948 г. комиссией по номенклатуре и



таксономии бактерий. От Ботанического кодекса он отличается тем, что типом вида в нем служит штамм.

Биологическая концепция вида разработана зоологами. Трудность ее применения в микробиологии связана с тем, что прокариоты и многие эукариотические микроорганизмы не обладают полом и критерий репродуктивной изоляции к ним неприменим (слайд 4.7).

Понятие микробиологического вида в настоящее время не удается согласовать с биологической концепцией вида, микробиологи используют его таксономическое определение. Вид бактерий может быть определен как совокупность штаммов с высоким уровнем последовательностей ДНК, а также фенотипических признаков. Различия между штаммами не выходят за пределы вида. Клон – еще более узкое понятие, это культура, выделенная из одной клетки.

Исходная дата для названия таксонов МКНБ принимается 1 января 1980 г. Названия, признанные правильными, были включены в «Одобренные списки названий бактерий», не включенные в них названия потеряли свое положение в номенклатуре.

Существуют 2 типа систематики биологических объектов (слайд 4.8):

1. Филогенетическая в основе которой лежит установление родственных (генетических, эволюционных) связей между организмами.

2. Практическая, или искусственная, цель которой – выявление степени сходства между организмами для быстрой их идентификации и установления принадлежности к определенным таксонам.

Если существующая систематика высших организмов отражает эволюционные связи между ними, то попытка создания на этой же основе систематики прокариот не была успешной. В XX в. проблема систематики бактерий стала настоящей в связи со стремительным увеличением объема знаний об этих организмах.

Вначале основное внимание уделяли морфологическим признакам бактерий. О. Ф. Мюллер (1730-1784) в 1773 г. разделил известные к тому времени 15 видов бактерий на два рода – *Monas* и *Vibrio*. В 1872 г. Ф.-Ю. Кон (1828-1898) разделил бактерии на группы по морфологическим признакам: кокки, короткие палочки, удлинённые палочки, спирали (слайд 4.9). В 1909 г. С. Орла-Йенсен (1870-1949) сделал попытку классифицировать бактерии на основе известных к тому времени физиологических признаков (слайд 4.10).

Важным шагом в развитии систематики прокариот явилось использование признаков, дающих информацию о химическом строении клетки: состав оснований ДНК, аминокислотная последовательность белков, строение рибосом, компонентов клеточной стенки и т. д.

Первые предложенные схемы классификации бактерий были крайне субъективны. В 1957 П. Снитом был предложен нумерический метод Адансона (М. Adanson, 1727-1806). Классификация, построенная на принципах Адансона, - трудоемкий процесс, поэтому свое развитие и практическое применение она получила в связи с развитием вычислительной техники.

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 бактерий решается с помощью Определителя бактерий Берджи, выпускаемого Обществом американских бактериологов (слайд 4.11). Первое издание определителя было выпущено в 1923 г. группой американских бактериологов под руководством Д. Х. Берджи (D. H. Bergey, 1860-1937); девятое издание в 4 томах вышло в 1984-1989 гг., десятое – издается в 2001-2009 гг.

В девятом издании Определителя бактерий Берджи все обнаруженные организмы, отнесенные в царство *Prokaryotae*, разделены на 35 групп. Признаки, по которым осуществляется разделение на группы, относятся к категории легко определяемых и вынесены в названия групп (слайд 4.12).

Представленная в Определителе бактерий Берджи система классификации является строго идентификационной и не решает задачи выявления эволюционных связей между прокариотами.

Важный шаг на пути создания естественной систематики прокариот связан с успехами молекулярной биологии. Оказалось, что бактерии могут быть классифицированы путем сравнения их геномов. Карл Вёзе (1977) разработал наилучшую до этого времени концепцию филогенетического древа не только для бактерий, но и для эукариотов. В качестве филогенетического маркера он использовал последовательность оснований олигонуклеотидов рРНК 16S (у прокариот) и 18S (у эукариот). Эти маркеры наиболее соответствуют необходимым требованиям: универсальности, гомологичности (изофункциональности) и генетической стабильности (слайд 4.13).

Рибосомы обнаружены у всех клеточных форм жизни, что указывает на их древнейшее происхождение; их функции всегда одинаковы; первичная структура характеризуется высокой консервативностью.

К настоящему времени последовательности 16S и 18S рРНК изучены у многих организмов, принадлежащих к разным царствам живой природы. На основании полученных данных были рассчитаны коэффициенты сходства и выявлены три группы организмов: эукариоты, эубактерии (сюда же попали 16S рРНК митохондрий и хлоропластов) и архебактерии.

Хотя клетки архебактерий структурно относятся к прокариотному типу, они построены из макромолекул, многие из которых являются уникальными и не синтезируются ни эукариотами, ни эубактериями. Архебактерии осуществляют ряд биохимических процессов, не свойственных остальным живым организмам и существуют в экстремальных условиях. На основании этого был сделан вывод, что архебактерии представляют собой самостоятельный таксон. В то же время анализ генов показал, что *Eucaryotae* и *Archaeobacteria* имеют общее происхождение и таким образом являются сестринскими таксонами, тогда как *Eubacteria* представляет собой отдельную эволюционную линию, которая ответвилась раньше от общего корня (слайд 4.14).

Итак, для бактерий оказалось возможным построить филогенетическое древо, которое частично подтвердило старые группировки, но также открыло и новые эволюционные линии. Однако вопрос о порядке расхождения основных ветвей дерева остается спорным.

## ЛЕКЦИЯ №5. РАЗНООБРАЗИЕ МИРА ПРОКАРИОТОВ

5.1. Особенности отделов грамотрицательных, грамположительных, микоплазм и архебактерий

5.2. Характеристика некоторых важнейших представителей микробного мира (по Берджи, 9-е издание) (слайд 5.3)

### 5.1. Особенности отделов грамотрицательных, грамположительных, микоплазм и архебактерий

Царство *Procaryotae* подразделяется на отделы по строению клеточной стенки (слайд 5.4). Отделы включают классы (слайд 5.5).

Отдел *Gracilicutes*. Грамотрицательные. Морфология клеток разнообразная – палочки, кокки, извитые и нитчатые формы. Размножаются бинарным делением. Спор не образуют. Передвигаются с помощью жгутиков или скольжением. Отдел подразделяется на 3 класса: нефотосинтезирующие (*Scotobacteria*) и фотосинтезирующие (*Anoxyphotobacteria*, *Oxyphotobacteria*) (слайд 5.6).

Отдел *Firmicutes*. Грамположительные. Клетки кокковидные, палочковидные, ветвящиеся; есть мицелиальные формы. Размножаются бинарным делением. Некоторые образуют эндоспores. У других споры на гифах или в спорангиях. Большинство – неподвижные. Подвижные представители перемещаются с помощью жгутиков. По морфологии делятся на 2 класса: *Firmibacteria* и *Thallobacteria* (слайд 5.7).

Отдел *Tenericutes*. Отсутствует клеточная стенка, клетки окружены ЦПМ. Окрашивание по Граму отрицательное. Клетки плеоморфные, округлые. Размножаются бинарным делением, почкованием, фрагментацией. Характерно образование мелких, растущих в агар колоний. Включает класс *Mollicutes* (слайд 5.8).

Отдел *Mendosicutes*. Клеточная стенка не содержит типичного пептидогликана, может быть построена только из белковых макромолекул или гетерополисахаридов. Окрашивание по Граму отрицательное или положительное. Клетки разной формы: кокки, палочки, нити. Многие плеоморфны. Большинство – строгие анаэробы. Многие имеют жгутики. Характеризуются экологическим и метаболическим разнообразием, способностью жить в экстремальных условиях. Объединены в класс *Archaeobacteria* (слайд 5.9).

В Определителе Берджи бактерии объединены в группы на основании общих признаков, которые устанавливаются при микроскопии: строение клеточной стенки, форма клетки, подвижность. Также используются физиологические признаки: отношение к кислороду и тип метаболизма.

## 5.2. Характеристика некоторых важнейших представителей микробного мира

**Группа 1.** Спирохеты. Включает порядок *Spirochaetales*. Тонкие спиралевидные одноклеточные, 5-250 мкм. Размножаются поперечным делением. Клетки состоят из протоплазменного цилиндра, аксиальной нити и наружной оболочки. Оболочка тонкая и эластичная, что и обеспечивает спирохетам своеобразный способ передвижения. Грамотрицательные. Есть облигатно аэробные, факультативно и облигатно анаэробные формы. Хемоорганогетеротрофы, существенно различающиеся по степени требовательности к субстрату (слайд 5.10).

Свободноживущие спирохеты могут быть обнаружены в водоемах (*Spirochaeta*). Лишь немногие из них патогенны: вызывают возвратный тиф (*Borrelia*), лептоспирозы (*Leptospira*) (слайд 5.11), сифилис (*Treponema*) (слайд 5.12).

**Группа 2.** Аэробные, подвижные спиралевидные или изогнутые грамотрицательные бактерии (слайд 5.13). Семейство *Spirillaceae*. Бактерии обладают жесткой клеточной стенкой, благодаря которой не меняют форму. Хемоорганотрофы, подвижные. Аэробы (*Aquaspirillum*), микроаэрофилы (*Spirillum*, *Azospirillum*) (слайд 5.14).

Спириллы, в основном сапротрофы, но есть патогены человека (слайд 5.15) и паразиты бактерий (*Bdellovibrio*) (слайд 5.16).

**Группа 3.** Неподвижные грамотрицательные изогнутые бактерии.

Семейство *Spiromonaceae*. Изогнутые С-образные, дугообразные, кольцевидные клетки. Есть пигментированные формы. Хемоорганотрофы. Облигатные аэробы (*Spirosoma*), микроаэрофилы, аэротолерантные анаэробы (слайд 5.17).

Обитатели почвы, пресной и соленой воды. Некоторые образуют подвижные скопления клеток.

**Группа 4.** Грамотрицательные аэробные и микроаэрофильные палочки и кокки. Группа представлена 8 семействами (слайд 5.18).

Семейство *Acetobacteriaceae* (уксуснокислые бактерии) объединяет роды *Acetobacter* и *Gluconobacter*. Это подвижные или неподвижные, облигатно аэробные организмы, которые окисляют этанол с образованием уксусной кислоты. Хемоорганотрофы. Уксуснокислые бактерии требовательны к субстратам для роста, нуждаются в отдельных витаминах (слайд 5.19).

Бактерии рода *Acetobacter* способны к полному окислению органических субстратов до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . В этом случае образовавшаяся уксусная кислота представляет собой лишь промежуточный этап, и после исчерпания из среды исходного субстрата бактерии начинают окислять уксусную кислоту, включая ее в механизм конечного окисления – ЦТК. Бактерии рода *Gluconobacter* (единственный вид *G. oxydans*) осуществляют неполное окисление из-за отсутствия «замкнутого» ЦТК.

Встречаются в вине, сидре, кефире, и т. д. Применяются в микробиологической промышленности для получения столового уксуса и в производстве аскорбиновой кислоты. Уксуснокислые бактерии часто развиваются вслед за дрожжами, используя продукт спиртового брожения как субстрат для роста. Чайный грибок представляет собой пищевой союз бактерий *A. xylinum*, *G. oxydans* и дрожжевых грибов (слайд 5.20).

Семейство *Azotobacteriaceae* объединяет свободноживущие азотфиксирующие бактерии (слайд 5.21). Род *Azotobacter* был обнаружен и выделен в чистую культуру в 1901 г. Бейеринком. В молодой культуре это крупные (1,5-2,0 мкм), подвижные палочки, располагающиеся попарно либо в коротких цепочках, объединенных макрокапсулой. С возрастом клетки меняют форму, превращаясь в крупные кокки, часто соединенные попарно и имеющие общую капсулу. В старых культурах характерно образование цист. Типовой вид рода – *A. chroococcum*.

Семейство *Halobacteriaceae* включает облигатные галофильные бактерии, растущие только при высоких концентрациях NaCl (12-30 %). Хемоорганотрофы. Обитатели соленых озер, Мертвого моря, бассейнов для выпаривания соли из морской воды, встречаются в засоленных белковых продуктах (слайд 5.22).

Семейство *Legionellaceae* включает один род (слайд 5.23). Это короткие и длинные палочки, не образующие эндоспор, микроцист, капсул. Подвижные и неподвижные, аэробы. Обитатели воды, ила, термальных загрязненных потоков. Есть патогенные представители (*L. pneumophila*).

Семейство *Neisseriaceae* включает 4 рода – *Neisseria*, *Moraxella*, *Kingella*, *Acinetobacter*. Виды трех первых родов – паразиты (*N. gonorrhoeae* – возбудитель гонореи, *N. meningitidis* – возбудитель менингита), характеризующиеся потребностью в сложных питательных веществах. *Acinetobacter* – сапротрофы, распространенные повсеместно (слайд 5.24).

Семейство *Methylococcaceae* объединяет бактерии, использующие в качестве источника углерода только одноуглеродные органические соединения (метан или метанол) в аэробных или микроаэробных условиях. Представители родов (*Methylomonas*, *Methylococcus* и др.) отличаются по форме клеток и по подвижности. Метилотрофы – обитатели водоемов и почв различного типа, где идут процессы с образованием одноуглеродных соединений. Их выделяют из сточных вод, с гниющих растительных остатков, из рубца жвачных животных (слайд 5.25).

Семейство *Pseudomonadaceae* – одиночные прямые или слегка изогнутые подвижные палочки, не образующие эндоспор, аэробные, не фиксирующие атмосферный азот. Хемоорганотрофы, некоторые виды факультативные хемолитотрофы. Движение осуществляется с помощью полярно расположенных жгутиков. Семейство представлено 4 родами.

Типовой род – *Pseudomonas*, описан в 1900 г. Мигуля (слайд 5.26). Псевдомонады очень неприхотливы, растут на простых минеральных средах. В качестве источника углерода и энергии используют широкий спектр соединений (углеводы, аминокислоты, органические кислоты, спирты,

углеводороды, циклические соединения). Температурные границы 4-40 °С. Большинство – сапротрофы (*P. fluorescens* и *P. putida*), но встречаются патогенные (*P. aeruginosa*) и условно патогенные виды.

Род *Zoogloea* – палочковидные капсульные бактерии, в природных водах агрегируют в свободно плавающие «пальцевидные» или «древовидные» структуры – зооглеи. Представитель микрофлоры активного ила, встречается в загрязненных органикой сточных водах. Образуют макроскопические хлопья (слайд 5.27).

Род *Flavobacterium* – неподвижные палочки, аэробы, окрашены желто-оранжевые цвета. Присутствуют в почве, воде, пищевых продуктах (мясо-молочных), в больницах (слайд 5.28). Род *Xanthomonas* – фитопатогены. Образуют специфический желтый пигмент (слайд 5.29).

Семейство *Rhizobiaceae* – подвижные, хемоорганотрофные, аэробные палочки, которые способны вызывать разрастание тканей, приводящее к образованию клубеньков и галлов на корнях или стеблях различных видов растений (слайд 5.30).

Род *Rhizobium* (клубеньковые бактерии) объединяет бактерии, вызывающие образование клубеньков на корнях бобовых растений и способные фиксировать азот в условиях симбиоза с ними (слайд 5.31).

Род *Agrobacter* – внутриклеточные паразиты, вызывают разрастания на корнях и стеблях растений. Не обладают азотфиксирующей способностью. Индукция опухолей связана с присутствием в клетках бактерий Ti-плазмиды (слайд 5.32).

**Группа 5.** Факультативно анаэробные грамотрицательные палочки. Объединяет 3 семейства (слайд 5.33).

Семейство *Enterobacteriaceae* – подвижные или неподвижные палочки. Некоторые виды образуют капсулы. Хемоорганогетеротрофы. Энергию получают за счет дыхания или брожения. Преобладает брожение смешанного типа (муравьиное).

Представители этого семейства широко распространены в природе. Это обитатели почв, морских и пресных вод, разлагающихся остатков растений и животных; постоянные обитатели кишечника человека (*E. coli* – кишечная палочка) и многих видов животных, птиц, рыб, рептилий (слайд 5.34).

Род *Salmonella* – патогенные виды, вызывающие гастроэнтерит (*S. typhimurium*), брюшной тиф (*S. typhi*). Род *Shigella* – возбудитель бактериальной дизентерии (*S. dysenteriae*) (слайд 5.35). Род *Klebsiella* – капсульные бактерии, *K. pneumoniae* – находят при тяжелой форме пневмонии (слайд 5.36).

Род *Yersinia* (*Y. pestis* – возбудитель чумы). Был открыт Иерсеном и Китагато в 1894 г. Природный резервуар возбудителя эпидемий – дикие грызуны, главным образом крысы. Бактерии передаются человеку через блох и других паразитов. В результате развивается бубонная или легочная чума. Смерть обусловлена действием токсинов.



Род *Proteus* принадлежит к нормальной кишечной флоре, широко распространен в почве и воде (слайд 5.37). Типичные обитатели кишок – *Enterobacter*, *Citrobacter* (слайд 5.38).

Фитопатогенные виды встречаются среди бактерий родов *Erwinia*, *Serratia*, *Hafnia* (слайд 5.39, 5.40).

Семейство *Vibrionaceae* – прямые или изогнутые подвижные палочки. Хемоорганотрофы. Факультативные анаэробы. *Vibrio cholerae* – возбудитель холеры, был открыт Кохом в 1883 в Египте (слайд 5.41). Светящиеся бактерии *Vibrio fischeri*, *Photobacterium* (слайд 5.42, 5.43) испускают синезеленый свет с максимумом 490 нм. Свечение (билюминесценция) чувствительно к кислороду, поэтому может являться показателем загрязнения среды.

Семейство *Pasteurellaceae* – плеоморфные, неподвижные, хемоорганотрофные организмы. Используют энергию дыхания и брожения. Патогенные для позвоночных животных и человека (слайд 5.44).

*Actinobacillus* – паразиты или комменсалы человека, овец, коров, лошадей, птиц. *Haemophilus influenzae* – возбудитель бронхита, пневмонии и др. заболеваний человека, *Pasteurella multocida* – патогенна для птиц.

Подгруппа 4 гетерогенная, включает 7 родов, большинство из которых патогенные для человека (слайд 5.45).

Род *Cardiobacterium* – встречаются в носовой полости. Вызывают эндокардит. Род *Gardnerella* (*G. vaginalis*) – возбудители бактериального вагинита.

Род *Streptobacillus* – присутствуют в глотке крыс, инфицируют человека при укусах. Род *Zymomonas* (*Z. mobilis*) – осуществляют спиртовое брожение. Вызывают порчу пива, сидра. Встречаются в соке агавы, сахарного тростника, меде.

**Группа 6.** Анаэробные грамотрицательные прямые, изогнутые или спиралевидные палочки.

Бактерии этой группы облигатные анаэробы, хемоорганотрофы, неподвижные или подвижные палочки, склонные к плеоморфизму. Тип метаболизма бродильный. Бактерии разных родов отличаются по конечным продуктам брожения. *Bacteroides* превращают глюкозу в янтарную, уксусную, муравьиную, молочную и другие кислоты (слайд 5.46). Представители рода *Butyrivibrio*, *Fusobacterium* образуют бутират (слайд 5.47), *Succinivibrio* – сукцинат, ацетат, формиат и др (слайд 5.48).

Широко распространены в анаэробных экосистемах: в кишечном тракте, рубце жвачных и гниющем иле. Некоторые виды патогенны и вызывают различные поражения кожных покровов, а также других органов и тканей тела.

Виды рода *Bacteroides* относятся к фекальным бактериям человека. *Selenomonas* – обитатели ротовой полости человека и рубца жвачных (слайд 5.49)

**Группа 7.** Бактерии, характеризующиеся диссимиляционным восстановлением серы или сульфата.

Группа включает облигатно-анаэробные организмы. Грамотрицательные и грамположительные. Хемолитогетеротрофы: используют в качестве акцептора электронов молекулярную серу или ее окисленные соединения (сульфатное дыхание). Некоторые виды способны к брожению (слайд 5.50).

Встречаются в сероводородном иле, месторождениях серы, глубинных слоях Черного моря, в рубце жвачных (*Desulfotomaculum ruminis*).

В составе группы бактерии с разной морфологией (слайд 5.51).

**Группа 8.** Анаэробные грамотрицательные кокки.

Группа представлена одним семейством *Veillonellaceae*, с типовым родом – *Veillonella*. Кокки, неподвижные, диаметром 0,3-2,5 мкм, располагающиеся одиночно, попарно, в цепочках или скоплениях. Хемоорганогетеротрофы с высокими потребностями в питательных веществах, паразиты теплокровных животных (слайд 5.52).

**Группа 9.** Риккетсии и хламидии. Облигатные внутриклеточные паразиты. В состав группы включены два порядка: *Rickettsiales* и *Chlamydiales* (слайд 5.53).

Порядок *Rickettsiales*. Плеоморфные – кокки, палочки короткие и длинные, нитевидные и даже мицеллярные формы. Риккетсии по своим размерам сравнимы с некоторыми вирусами (слайд 5.54).

«Метаболические паразиты»: могут осуществлять некоторые биосинтетические процессы, однако они не способны регулировать поглощение и выведение метаболитов.

*Rickettsia prowazekii* – возбудитель эпидемического сыпного тифа. Природными носителями риккетсии являются членистоногие. *R. typhi* – возбудитель эндемического, или крысиного, тифа. От крысы крысе и иногда человеку его передают крысиные блохи. *Coxiella burnetii* – возбудитель лихорадки Q.

Порядок *Chlamydiales* включает семейство *Chlamydiaceae*, род *Chlamydia*. Это облигатные внутриклеточные паразиты позвоночных и человека, вызывают ряд заболеваний: *C. trachomatis* – трахому, *C. pneumoniae* – пневмонию, *C. psittaci* – орнитоз (пситтакоз) (слайд 5.55).

«Энергетические паразиты»: не могут синтезировать высокоэнергетические соединения, и в первую очередь АТФ. Облигатный внутриклеточный паразитизм, очевидно, является результатом регрессивной эволюции.

Хламидии характеризуются сложным циклом развития (слайд 5.56).

**Фотосинтезирующие бактерии**

Бактериальный фотосинтез делится на 2 типа: бескислородный и кислородный. В соответствии с этим все фотосинтезирующие бактерии разделены на два класса: *Anoxyphotobacteria* (10 группа) и *Oxyphotobacteria* (11 группа) (слайд 5.57).

**Группа 10.** Фототрофные бактерии, осуществляющие бескислородный фотосинтез.

В эту группу отнесены фотосинтезирующие бактерии, характеризующиеся специфическим набором пигментов (бактериохлорофиллов и каротиноидов) и особым типом фотосинтеза. Группа включает пурпурные, зеленые бактерии и гелиобактерии (слайд 5.58).

Пурпурные бактерии – одноклеточные организмы разной морфологии. Длина от 1 до 20 мкм, ширина – от 0,3 до 6 мкм. Среди пурпурных бактерий есть неподвижные и подвижные формы. Для клеток характерна хорошо развитая система внутрицитоплазматических фотосинтетических мембран.

Все пурпурные бактерии могут расти на свету в анаэробных условиях, осуществляя фотосинтез. Группа подразделяется на пурпурные серные (слайд 5.59) и несерные бактерии (слайд 5.60).

Зеленые бактерии разделены на две подгруппы: серные и нитчатые зеленые бактерии. Зеленые серобактерии – грамотрицательные одноклеточные неподвижные формы, облигатные фотолитоавтотрофы и строгие анаэробы. Основной источник углерода – углекислота (слайд 5.61).

Нитчатые зеленые бактерии передвигаются скольжением. Факультативные анаэробы, предпочитающие использовать органические соединения при фототрофном метаболизме. Несерные бактерии в анаэробных условиях на свету окрашены в желто-зеленый цвет, в аэробных – в оранжево-красный (за счет  $\beta$ - и  $\gamma$ -каротиноидов). Часто ассоциированы с цианобактериями (слайд 5.62).

Гелиобактерии – строго анаэробные бактерии, облигатные фототрофы, содержащие единственный бактериохлорофилл *g*. Описаны два вида, различающиеся морфологически (слайд 5.63): *Heliobacterium chlorum* и *Heliobacillus mobilis*. Клеточная стенка грамотрицательного типа, но по нуклеотидной последовательности 16S рРНК и составу пептидогликана гелиобактерии близки к грамположительным *Bacillus subtilis*.

**Группа 11.** Фототрофные бактерии, осуществляющие кислородный фотосинтез

Группа представлена эубактериями, содержащими разные наборы фотосинтетических пигментов, но обязательно – хлорофилл *a*; фотосинтез сопровождается выделением молекулярного кислорода. Включает 2 группы организмов: цианобактерии и прохлорофиты (слайд 5.64).

Цианобактерии – грамотрицательные, морфологически разнообразные, одноклеточные, колониальные и многоклеточные нитчатые формы. Некоторые цианобактерии формируют дифференцированные клетки: бaeоциты, гормогонии, акинеты или гетероцисты. Размножаются путем бинарного деления, почкования, множественного деления. Широко распространены в водоемах (слайд 5.65)

Выделено 5 порядков, различающихся морфологическими признаками: *Chroococcales*, *Pleurocapsales*, *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales* (слайды 5.66 – 5.71).

Прохлорофиты выделены в порядок *Prochlorales* с двумя родами *Prochloron* – одноклеточные организмы – и *Prochlorothrix* – нитчатые организмы (слайд 5.72). Это неподвижные или подвижные формы.

Размножаются бинарным делением. Клеточная стенка грамотрицательного типа.

Фотосинтетические пигменты представлены хлорофиллом *a*, *b* и каротиноидами. *Prochloron didemni* – внеклеточный симбионт в ассоциациях с колониальными асцидиями.

**Группа 12.** Аэробные хемолитотрофные бактерии и близкие к ним организмы.

Все представители грамотрицательные. Морфологически разнообразны: палочки, кокки, спириллы. Подвижны и неподвижные. Аэробы. Группа разделена на 3 подгруппы в зависимости от химической природы окисляемых неорганических соединений (слайд 5.73, 5.74).

Подгруппа 1: Бесцветные сероокисляющие бактерии. В подгруппе объединены бактерии, способные окислять неорганические восстановленные соединения серы, образуя в качестве конечного продукта сульфат. Семейство *Thiobacillaceae*. Обитатели почвы, воды, серных ключей или серных месторождений. Их можно обнаружить невооруженным глазом по наличию обильных белых отложений серы, взвесей, тяжей, розеток или пленок (слайд 5.75).

Подгруппа 2: Железо- и марганец-окисляющие и/или осаждающие бактерии, получают энергию в процессе окисления двухвалентного железа или марганца кислородом воздуха. Семейство *Siderocapsaceae* и несколько других родов. Они способны откладывать оксиды железа или марганца вне клетки. В основном обитают в железосодержащих водах (слайд 5.76).

Подгруппа 3: Нитрифицирующие бактерии, получают энергию в процессе окисления аммиака до азотистой кислоты, а затем до азотной кислоты (слайд 5.77).

В подгруппу включены бактерии семейства *Nitrobacteriaceae*:

Секция А – бактерии, окисляющие нитрит. Секция В – бактерии, окисляющие аммиак (слайд 5.78). Обитатели почвы, пресной и морской воды.

**Группа 13.** Почкующиеся и/или стебельковые бактерии (слайд 5.79).

В группу входят бактерии, образующие отростки (стебельки) из слизи, не связанные с цитоплазмой клетки, или нитевидные клеточные выросты – простеки. Многие простекобактерии – олигокарбофилы. При дефиците питательных веществ выросты удлиняются и увеличивают клеточную поверхность.

У некоторых бактерий (*Hyphomicrobium*) выросты участвуют в процессе размножения (слайд 5.80). Бактерии рода *Caulobacter* с помощью выроста прикрепляются к субстрату. Бактерии родов *Nevskia*, *Gallionella* образуют слизистые стебельки.

**Группа 14.** Бактерии, образующие слизистую оболочку (чехол или влагалище). В состав группы входят нитевидные бактерии, окруженные общим влагалищем или чехлом. Чехлы состоят из гетерополисахарида, часто инкрустированного окислами железа или марганца (слайд 5.81).

Клетки размножаются внутри поперечным делением. Выходящие одиночные клетки могут быть подвижные или не способны к активному движению. Аэробы и анаэробы; хемоорганогетеротрофы. Бактерии рода *Sphaerotilus* – типичные обитатели сточных вод. Представители рода *Leptothrix* встречаются в бедных органическими веществами местах с высоким содержанием железа.

**Группа 15.** Нефотосинтезирующие скользкие бактерии, не образующие плодовых тел (слайд 5.82).

Основной по числу представителей порядок *Cytophagales*. В него помещены бактерии, имеющие палочковидную форму, часто плеоморфные. Способны использовать различные полисахариды (агар, целлюлозу, хитин, крахмал, пектин и др.). Источником энергии служит дыхание, но некоторые виды являются факультативными анаэробами. Роды *Cytophaga* и *Sporocytophaga* известны тем, что способны разлагать целлюлозу.

Виды *Flexibacter* – водные бактерии (слайд 5.83). Они состоят из длинных, нерасчлененных, очень гибких клеток. Многие формы содержат каротиноиды. Паразитируют на рыбах, икре, мальках (*Flexibacter branchiophila*).

В порядок *Beggiatoales* объединены нитчатые формы (за исключением рода *Achromatium*), могут быть окружены общим чехлом (слайд 5.84). Бактерии рода *Thiothrix*, *Beggiatoa* растут в водоемах. *Leucothrix* – длинные нити, формируют характерные розетки (слайд 5.85).

**Группа 16.** Скользящие бактерии, образующие плодовые тела: миксобактерии. Включает порядок *Mycobacteriales* – облигатно аэробные хемоорганогетеротрофы. Синтезируют литические ферменты, активно разрушают мертвые растительные остатки (слайд 5.86).

Миксобактерии палочковидные, грамтрицательные, образуют плодовые тела – скопления из клеток и слизи, внутри которых клетки переходят в покоящееся состояние – миксоспоры и микроцисты. По строению плодовых тел можно определять различные роды и виды миксобактерий: *Cystobacter*, *Mycococcus*, *Polyangium*, *Sorangium* (слайд 5.87).

**Группа 17.** Грамположительные кокки. Клетки сферические. Не образуют эндоспор, неподвижные. Хемоорганотрофы. Размножаются делением более чем в одной плоскости. Характер расположения клеток после деления служит одним из систематических признаков для разделения родов. Включает семейства: *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Peptococcaceae* (слайд 5.88).

Семейство *Micrococcaceae* – аэробы, клетки делятся с образованием правильных или неправильных скоплений или пакетов.

Род *Micrococcus* – распространены повсеместно (слайд 5.89). Разлагают органические остатки, содержащие белки, выполняют функцию “мусорщиков” в природе. Род *Planococcus* – распространены в морских местообитаниях. Род *Deinococcus* – высокоустойчивы к  $\gamma$ -радиации (слайд 5.90).

Семейство *Streptococcaceae* – факультативные анаэробы, клетки после деления располагаются одиночно, парами, в гроздьях, тетрадах или цепочках. Метаболизм бродильный, преимущественно с образованием молочной кислоты (слайд 5.91).

Распространены чрезвычайно широко. Встречаются в воде, пыли, в бродящих пищевых продуктах.

Род *Streptococcus*. Обычно присутствуют в ротовой полости и верхних дыхательных путях человека (*S. mutans*, *S. salivarius*). Есть патогенные (*S. pyogenes*) и условно-патогенные виды (слайд 5.92).

Стрептококки молочной группы – *Lactococcus* (слайд 5.93). Фекальные стрептококки – *Enterococcus* (слайд 5.94). Могут быть ассоциированы с теплокровными позвоночными (*Staphylococcus epidermidis*). Есть виды, патогенные для человека и животных (*Staphylococcus aureus*) (слайд 5.95, 5.96). Гетероферментативные кокки – *Leuconostoc* (слайд 5.97).

Семейство *Peptococcaceae* – анаэробы, При брожении образуют CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, низшие жирные кислоты, сукцинат, этанол; молочная кислота не является основным продуктом брожения. В основном сапротрофы, обитатели почвы (*Sarcina*), ротовой полости человека и животных (*Peptococcus*), рубца жвачных животных (*Ruminococcus*). Имеются патогенные виды (*Peptostreptococcus*) (слайд 5.98).

**Группа 18.** Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры.

Есть аэробные (*Sporosarcina*), факультативно-анаэробные (*Bacillus*, *Sporolactobacillus*) и анаэробные палочки (*Clostridium* и *Desulfotomaculum*). Типы спорообразования: бациллярный, клостридиальный и плектридиальный (слайд 5.99).

Род *Bacillus* – подвижные палочки, размером до 25 мкм. Распространены повсеместно, типичные обитатели почвы; продуценты биологически активных веществ (антибиотиков, ферментов). Большинство бацилл – сапротрофы (*B. subtilis*, *B. mesentericus*, *B. cereus* и др.). Есть патогены – возбудитель сибирской язвы *B. anthracis*, возбудитель септицемии гусениц *B. Thuringiensis* (слайд 5.100 – 5.104).

Род *Clostridium*, как правило, не имеют цитохромов и каталазы. Клостридии сбраживают большое число субстратов, по которым различают сахаролитические, пептолитические и пуринолитические (слайд 5.105). Продуктами брожения являются бутират, бутанол, ацетон, 2-пропанол и газы (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>).

Большинство – сапротрофы, обитатели почвы (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*). Некоторые виды – опасные патогенные формы: *C. tetani* – возбудитель столбняка, *C. perfringens* – возбудитель газовой гангрены, *C. botulinum* – ботулизма (слайд 5.106).

**Группа 19.** Грамположительные, не образующие спор палочки правильной формы.

Группа – конгломерат, состоящий из 8 родов: мезофилы; строгие или факультативные аэробы, есть микроаэрофилы и аэротолерантные анаэробы;

хемоорганогетеротрофы, растущие только на сложных средах. Отличаются высокой устойчивостью к рН среды и температуре.

Род *Lactobacillus* – получают энергию в процессе гомоферментативного или гетероферментативного молочнокислого брожения. В составе рода около 50 видов (*L. lactis*, *L. acidophilum*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. brevis*), объединенных в семейство *Lactobacillaceae*. Широко распространены в природе, сапротрофы (слайд 5.107).

Род *Erysipelothrix* – широко распространены в природе, обычно как паразиты млекопитающих, птиц и рыб. Род *Listeria* – широко распространены в природе. Некоторые виды патогенны для человека и животных. *Caryophanon latum* – обладает жгутиками и образует трихомы (слайд 5.108).

**Группа 20.** Грамположительные, не образующие спор палочки неправильной формы. Группа разнообразна по морфологическим и физиологическим признакам.

Род *Actinomyces* – прямые или изогнутые палочки и ветвящиеся нити, не образующие спор, неподвижные. Факультативные анаэробы с бродильным типом метаболизма. Образуют формиат, ацетат, лактат и сукцинат (слайд 5.109).

Обычные обитатели почвы, разрушают многие органические соединения, некоторые виды встречаются в ротовой полости и на слизистых оболочках, патогенны для человека и животных.

Род *Arthrobacter* – бактерии с циклом развития кокк — палочка — кокк. Бактерии рода *Arthrobacter* – основные представители автохтонной микрофлоры почвы. Активно участвуют в разложении органических веществ (слайд 5.110).

Род *Agromyces* – плеоморфные, нитевидные элементы распадаются на кокки и неправильные палочки. Широко распространены и очень многочисленны в почве. Один вид.

Род *Bifidobacterium* – изогнутые, разветвленные, неподвижные палочки. Расположение одиночное, парное, V-образное, цепочками. Грамположительные, анаэробы. Напоминают молочнокислые бактерии. Активно сбраживают углеводы с образованием уксусной и молочной кислоты. Оптимальная температура 37-41 °С. Обитают в кишечнике, встречаются в ротовой полости позвоночных, в сточных водах. Обычно считаются не патогенными (слайд 5.111).

Род *Corynebacterium* – палочки, склонные к морфологической изменчивости с образованием булавовидных, слабоветвящихся клеток, часто располагающихся под углом в виде букв V, Y (слайд 5.112). Энергию получают за счет процессов дыхания или брожения. Обитатели почвы, воды, воздуха, ряд видов является возбудителями болезней растений, человека и животных (*C. diphtheriae*).

Род *Propionibacterium* – неподвижные, микроаэротолерантные, сбраживают углеводы с образованием пропионовой кислоты. Обнаруживаются в сыре, на кожных покровах и в пищеварительном тракте

человека и животных. Используются в производстве сыра. (*P. freudenreichii*). Вызывают воспаление волосяных фолликулов – *P. acnes*.

**Группа 21.** Микобактерии (слайд 5.113). Семейство *Mycobacteriaceae* и род *Mycobacterium*. Микобактерии – грамположительные, неподвижные палочки, прямые или ветвящиеся формы. Синтезируют каротиноидные пигменты. Все – аэробы.

На некоторых стадиях роста характерна повышенная устойчивость к кислотам и спиртам – «кислотоустойчивость», обусловленная высоким содержанием в клеточных стенках миколовых кислот, которые делают поверхность микобактерий воскообразной и сильно гидрофобной.

Большинство – сапротрофы, живущие в почве и использующие различные органические соединения. Некоторые виды патогенны: *M. tuberculosis* – возбудитель туберкулеза, *M. leprae* – возбудитель проказы.

**Актиномицеты (группы 22-29).** Эта группа объединяет организмы с разной морфологией (слайд 5.114): от кокков и палочек до форм, образующих ветвящиеся нити или развитый мицелий (субстратный и воздушный). Большинство – аэробы. Мезофилы (23-30 °C), встречаются термофилы. Гетеротрофы, различные в своих требованиях к субстрату.

Большинство размножаются с помощью спор, образующихся в спорангиях. Споры могут быть подвижными (слайд 5.115). Часто образуют пигменты (слайд 5.116)

Распространены повсеместно. Основное местообитание – почва, обнаруживаются в пресных и морских водоемах, а также в их донных отложениях.

Некоторые представители обитают в организме человека и животных и могут вызывать заболевания.

Актиномицеты объединены в класс *Thallobacteria*. Их систематика основана на морфологических признаках и химическом составе и структуре отдельных клеточных компонентов.

**Группа 22.** Нокардиоформы. Семейство *Nocardiaceae* объединяет бактерии, в цикле развития которых существует мицелиальная стадия. В старых культурах мицелий распадается на палочковидные или кокковидные элементы. Настоящих спор нет. Типовой род *Nocardia* (слайд 5.117).

Нокардии – обитатели почвы, воды. Имеются патогенные для человека и животных виды, обуславливающие нокардиоз (*N. asteroides*, *N. brasiliensis*).

Нокардии являются продуцентами биологически активных веществ (антибиотиков, ферментов, витаминов, аминокислот и др.), участвуют в очистке сточных вод, детоксикации почв (слайд 5.118).

**Группа 23.** Актиномицеты с многоклеточными спорангиями. В эту группу выделены актиномицеты, у которых мицелиальные нити делятся в продольном и поперечном направлениях, в результате чего образуется спорангий. Все представители – хемоорганогетеротрофы с высокими пищевыми потребностями, аэробы.

Род *Frankia* – симбиотические бактерии обитатели корневых клубеньков небобовых растений (ольха, облепиха, лох), клубеньки



характеризуются азотфиксирующей способностью (слайд 5.119). Распространены в почве, воде, обитают на кожных покровах млекопитающих (*Geodermatophilus* и *Dermatophilus*) (слайд 5.120).

**Группа 24.** Актинопланы. В группу объединены водные актиномицеты, имеющие подвижную стадию. В процессе роста образуют развитый мицелий. Морфология спорангиев и спор легли в основу классификации актинопланет на роды (слайд 5.121).

У отнесенных к этой же группе представителей рода *Micromonospora* спорангии отсутствуют.

Все актиномицеты, входящие в состав группы, – аэробные хемоорганогетеротрофы. Основные места обитания: пресная вода, почва, мертвые растительные и животные остатки.

**Группа 25.** Стрептомицеты и родственные формы. Актиномицеты образуют хорошо развитый воздушный мицелий, который не распадается на фрагменты. Колонии часто бывают окрашены, иногда наблюдается выделение пигмента в питательную среду. Размножаются спорами, формирующимися на концах гиф, или кусочками вегетативного мицелия (слайд 5.122).

Актиномицеты этой группы – облигатно аэробные хемоорганогетеротрофы. Стрептомицеты в изобилии встречаются в почве.

Основной род *Streptomyces* насчитывает около 500 видов, для которых характерно образование прямых или спирально закрученных цепочек, состоящих из экзоспор. Среди стрептомицетов известно много видов – продуцентов антибиотиков, в том числе стрептомицина (*S. griseus*), ауреомицина и тетрациклинов (*S. aureofaciens*) и др. Многие стрептомицеты синтезируют антибиотики, активные против бактерий, грибов, водорослей, простейших, фагов, обладающие также противоопухолевым действием (слайд 5.123).

Для представителей рода *Streptoverticillium* характерным является образование спор на боковых ветвях вертикальных гиф воздушного мицелия (слайд 5.124).

**Группа 26.** Мадуромицеты. Аэробны, формирующие развитый мицелий, споры образуются только на воздушных гифах или в спорангиях (слайд 5.125).

**Группа 27.** Термомоноспоры и родственные формы (слайд 5.126). Представители этой группы формируют мицелий. Для типового рода *Thermomonospora* характерный диапазон роста от 40 до 48° С.

**Группа 28.** Термоактиномицеты. Объединяет 1 род *Thermoactinomyces*. (слайд 5.127).

Все представители группы формируют хорошо развитый субстратный и воздушный мицелий. Споры образуются на воздушном и субстратном мицелии. Термофилы, оптимальная температура – 50-60 °С. Аэробные хемоорганогетеротрофы. Основное место обитания – почва, вода, разлагающиеся растительные остатки.

**Группа 29.** Другие формы актиномицетов. В последние годы описано несколько новых актиномицетов, выделенных в отдельные роды, так как еще недостаточно изучены. Объединяет 3 рода: *Glycomyces*, *Kitasatosporia*, *Saccharothrix*.

**Группа 30.** Микоплазмы. Микоплазмы – самые мелкие прокариоты. Относятся к отделу *Tenericutes*, классу *Mollicutes* («мягкокожие»), порядку *Mycoplasmatales*.

Микоплазмы не имеют клеточных стенок. Для них характерен ярко выраженный полиморфизм. Размножаются бинарным делением, почкованием, фрагментацией. Характерным является их рост на средах в виде яичницы «глазуньи» (слайд 5.128).

В основном – хемоорганогетеротрофы. Большинство аэробы, имеются облигатные анаэробы (*Anaeroplasma*), ацидофилы (*Thermoplasma acidophilum*, pH = 1-4) и термофилы (*Thermoplasma*), некоторые способны гидролизовать мочевины (*Ureaplasma*).

Нечувствительны к антибиотикам, специфически действующим на клеточную стенку.

Микоплазмы находят в почве и сточных водах (*Acholeplasma*), обитают на слизистых оболочках человека и животных, в сосудистых тканях растений. Многие паразитические формы микоплазм патогенны: *M. pneumoniae* – возбудитель ОРЗ и пневмоний. Из листьев цитрусовых растений выделена *Spiroplasma citri* (слайд 5.129).

#### **Архебактерии (группы 31-35)**

Со времени открытия архебактерий в 1977 г. количество относящихся к ним организмов и объем знаний о них возрастают стремительно. Архебактериям свойственна типичная прокариотная организация клеток, но они имеют ряд уникальных особенностей (слайд 5.130).

В IX издании Определителя бактерий Берги впервые сделана попытка классифицировать известные архебактерии. Они разделены на 5 групп.

**Группа 31.** Метаногены (слайд 5.131). Это бактерии, главным признаком которых является способность образовывать метан в качестве конечного продукта энергетического метаболизма.

Обычные места обитания – анаэробная зона водоемов, богатых органическими соединениями. Обитатели пищеварительного тракта животных и человека, а также важный компонент микрофлоры рубца жвачных животных.

Метанобразующие бактерии представляют определенный практический интерес как продуценты витамина B<sub>12</sub> и газообразного топлива – метана.

Совместно другими микроорганизмами метанобразующие бактерии обеспечивают протекание в природе важного крупномасштабного процесса – анаэробного разложения органических соединений, в первую очередь целлюлозы.

**Группа 32.** Сульфатредуцирующие археи (слайд 5.132). Кокковидные клетки неправильной формы. В группу отнесены экстремально

термофильные (95 °С), строго анаэробные формы, образующие  $H_2S$  из сульфата в процессе диссимиляционной сульфатредукции. Единственный род *Archaeoglobus*. Выделены из морских гидротермальных экосистем.

**Группа 33.** Экстремально галофильные аэробные археобактерии (слайд 5.133). Галобактерии – хемоорганотрофы, растут при высоких концентрациях  $NaCl$ . Некоторые виды содержат бактериородопсин и способны использовать энергию света для синтеза АТФ. В природе распространены в местах с высокой концентрацией соли (слайд 5.134).

**Группа 34.** Археобактерии, лишенные клеточной стенки (слайд 5.135). В составе группы один род *Thermoplasma*, вид *T. acidophilum*.

Облигатные термофилы и ацидофилы, диапазон температуры 33-67 °С, оптимум – 59 °С; диапазон рН 0,5-4,0.

Морфологически и цитологически сходны с микоплазмами.

**Группа 35.** Экстремальные термофилы гипертермофилы, метаболизирующие серу (слайд 5.136).

Группа разнородных в морфологическом и физиологическом отношении бактерий: палочки, нити, кокки, дисковидные клетки или неправильной дольчатой формы. Подвижные и неподвижные.

Клеточные стенки построены из гликопротеиновых или белковых субъединиц. Отсутствует периплазматическое пространство. Температура для роста 45-110 °С, оптимальная 70-105 °С. *Pyrodictium occultum* обладает самым высоким температурным пределом роста из всех известных прокариот. Он способен расти при 110°, с оптимумом при 105° (слайд 5.137).

Окисление  $S_0$  происходит на наружной поверхности ЦПМ. Хемоавтотрофы и хемогетеротрофы. Доноры электронов –  $H_2$  или органические соединения.

Обнаруживаются в горячих источниках и грунтах в зонах вулканической активности (слайд 5.138). Серозависимые археобактерии выделяются из подводных морских горячих источников, проявляют активную геохимическую деятельность (слайд 5.139, 5.140). Хемолитотрофные виды перспективны для использования в биогидрометаллургии.

# ЛЕКЦИЯ № 6. МИКРООРГАНИЗМЫ И ЭВОЛЮЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС

- 6.1. Гипотезы о происхождении жизни
- 6.2. Возникновение прокариотов и эукариотов
  - 6.2.1. Условия на древней Земле
  - 6.2.2. Возможность образования органических веществ на первобытной земле
  - 6.2.3. Эволюция протоклетки
  - 6.2.4. Эволюция прокариотов
- 6.3. Систематика и филогения прокариотов (слайд 6.3)

## 6.1. Гипотезы о происхождении жизни

Попытки ответить на вопрос, что такое жизнь, вероятно, следует отнести ко времени появления человека. Сведения о том, как различные живые существа возникают из воды и гниющих остатков, можно найти в древних рукописях.

Фалес Милетский (конец VII – начало VI в. до н. э.) считал, что жизнь есть свойство, присущее материи, а материальным первоначалом, из которого естественным путем возник мир, была вода (слайд 6.4).

Демокрит (460-370 гг. до н. э.). Согласно его теории, материя построена из атомов, мельчайших, неделимых, вечных и неизменных частиц, находящихся в движении, а жизнь возникла в результате взаимодействия сил природы, в особенности действия атомов огня на атомы влажной земли.

Противоположное идеалистическое толкование идеи самозарождения жизни связано с именем Платона (428/427 – 347 гг. до н. э.), считавшего, что растительная и животная материя становится живой только тогда, когда в нее вселяется бессмертная душа – "психея". Эту идею воспринял и Аристотель (384 – 322 гг. до н. э.), учение которого легло в основу всей средневековой научной культуры и господствовало около двух тысяч лет (слайд 6.5).

Развитие науки в эпоху Возрождения привело к пересмотру с новых позиций идеи самозарождения живых существ. Опыты Ф. Реди (F. Redi, 1626-1698) серьезно поколебали господствовавшую идею самозарождения макроскопических организмов (слайд 6.6).

После открытия А. ван Левенгуком микроорганизмов именно они стали основным объектом спора о зарождении жизни. Сам А. ван Левенгук отрицательно относился к возможности зарождения микроорганизмов из неживой материи.

Английский натуралист Дж. Нидхем (J. Needham, 1713-1781) поставил серию опытов: кипятил в стеклянных колбах разные настои, затем закрывал обычными пробками. В сосудах появлялись микроорганизмы. Это привело его к заключению о спонтанном возникновении микроорганизмов из неживого органического вещества (слайд 6.7).

Л. Спалланцани (L. Spallanzani, 1729-1799) повторил опыты Дж. Нидхема, закрывая сосуд пробкой не после, а до кипячения, а само кипячение длилось значительно дольше – от 30 мин до 1 ч. В таких сосудах не было обнаружено никаких микроорганизмов. Л. Спалланцани под микроскопом удалось наблюдать деление микроба (слайд 6.8). Все сказанное позволило ему утверждать, что и микроорганизмы возникают не в результате самозарождения, а происходят от себе подобных.

Окончательный конец спору о самозарождении микроорганизмов положил Л. Пастер. Серией опытов в колбах с S-образными горлами он доказал, что микроорганизмы не возникают самопроизвольно (слайд 6.9).

Позднее идеи о самозарождении возникли уже в XX в. по отношению к субмикроскопическим живым частицам – вирусам. Однако было доказано, что вирусы не зарождаются из невирусного материала, а происходят только от себе подобных частиц. Таким образом, хотя теория самозарождения была убедительно опровергнута на разных уровнях организации живых организмов, вопрос о происхождении жизни оставался открытым.

Точно так же не является ответом на вопрос и гипотеза панспермии, согласно которой живые организмы были занесены на Землю из космического пространства (слайд 6.10). Гипотеза была сформулирована в 1865 г немецким исследователем Г. Рихтером (G. Richter) и поддержана С. Аррениусом (S. Arrhenius) и Г. Гельмгольцем (H. Helmholtz). В наше время эту идею модернизировали Ф. Крик (F. Crick) и Л. Оргелл (L. Orgel), предположившие доставку зародышей жизни (микроорганизмов) на Землю из другой, более развитой цивилизации.

В XX в. русский биохимик А. И. Опарин и английский исследователь Дж. Холдейн (J. Haldane) выдвинули предположение, что жизнь возникла в результате взаимодействия органических соединений, образовавшихся в бескислородных условиях на первобытной Земле (слайд 6.11). В результате происходило постепенное усложнение органических соединений, формирование из них пространственно обособленных систем и превращение последних в предшественников жизни, а затем и в первичные живые организмы. В последующие годы эти идеи получили широкое признание.

## **6.2. Возникновение прокариотов и эукариотов**

### **6.2.1. Условия на древней Земле**

Возраст Вселенной определяют как 10-15 млрд лет, а Земля возникла приблизительно 4,5-5,0 млрд лет назад. В последующий период на Земле происходили активные геологические процессы: формирование земной коры, гидросферы и атмосферы (слайд 6.12).

На первобытной Земле основная масса воды находилась в связанном гидратированными породами состоянии, поэтому первоначально Мировой океан содержал меньше 10% того количества воды, которое содержат

современные океаны. Остальные 90% образовались позднее за счет выделения паров воды из внутренних слоев Земли. рН Мирового океана на протяжении всей истории Земли был довольно стабильным, в пределах 8-9. Формирование Мирового океана происходило, таким образом, постепенно, в тесной связи с формированием земной коры.

Атмосфера первобытной Земли принципиально отличалась от современной атмосферы и имела восстановительный характер. Она содержала главным образом водород и его соединения (метан, аммиак, пары воды), в меньшем количестве – сероводород, азот, двуокись углерода и благородные газы. Эта атмосфера была лишена свободного кислорода. Возникновение атмосферы, содержащей  $O_2$ , произошло значительно позднее и связано с жизнедеятельностью фотосинтезирующих организмов.

Исходным материалом для синтеза органических веществ служили широко распространенные во Вселенной химические элементы: углерод, водород, кислород, азот, сера и фосфор.

### **6.2.2. Возможность образования органических веществ на первобытной земле**

Последовательность процессов возникновения органических веществ можно представить следующим образом. В результате действия всех видов энергии (солнечного излучения, электрических разрядов, тепловой энергии и радиоактивного излучения) из химических элементов синтезировались первичные соединения: углеводороды (в первую очередь метан), аммиак, цианистый водород, окись углерода, сероводород, простейшие альдегиды (и прежде всего формальдегид) и т. д. Первичные соединения служили исходными веществами для образования мономеров. Из мономеров путем конденсации возникали полимеры – основные составные компоненты всех живых организмов.

Одним из первых в 1953 г. провел опыты по абиогенному синтезу С. Миллер (S. Miller) (слайд 6.13). Через газовую смесь, содержащую метан, аммиак, молекулярный водород и пары воды, т. е. имитирующую атмосферный состав первобытной Земли, он пропускал электрические разряды (60000 В), а затем анализировал образующиеся продукты реакции. При идентификации продуктов реакции были обнаружены аминокислоты (глицин, аланин, глутаминовая, аспарагиновая кислоты и др.) и органические кислоты (муравьиная, уксусная, пропионовая, гликолевая, молочная). По данным С. Миллера, основными первичными продуктами реакции в зоне разряда являются альдегиды и цианистый водород. Вторичные реакции, происходящие в водной фазе, приводят к образованию из них аминокислот и органических кислот.

В настоящее время в лабораторных условиях осуществлен ряд процессов абиогенного синтеза сложных органических молекул: аминокислот, органических кислот, моносахаров, жирных кислот, пуриновых оснований и АТФ.

Следующий этап предбиологической эволюции – усложнение органических соединений, связанное с полимеризацией мономеров (слайд 6.14). С. Фокс (S. Fox) осуществил абиогенный синтез полипептидов, состоящих из 18 природных аминокислот, с молекулярной массой от 3000 до 10000 Да. Полученные полимеры обладали многими свойствами, сближающими их с природными белками, были названы протеиноидами. Возможность образования полинуклеотидов без участия ферментов была показана Г. Шраммом (G. Schramm).

Таким образом, экспериментально показано, что в условиях первобытной Земли был возможен химический синтез биологически важных соединений (мономеров и полимеров), послуживших исходным материалом для построения всех организмов.

### 6.2.3. Эволюция протоклетки

Следующим этапом эволюции на пути возникновения жизни было формирование определенной структурной организации органических соединений.

С. Фокс, охлаждая растворенные в воде протеиноиды, получил микроскопические частицы, названные им микросферами. Смешивание раствора гуммиарабика и желатины приводило к формированию другого вида микроскопических структур, названных коацерватными каплями. Такие пространственно обособленные открытые системы, построенные из полимеров, были названы протоклетками.

Протеиноидные микросферы имеют сферическую форму, диаметром от 0,5 до 7 мкм (слайд 6.15). Каждая микросфера содержит около 1010 молекул протеиноида. Протеиноидные микросферы обладают определенной стабильностью: не разрушаются при центрифугировании, устойчивы в солевых растворах. Микросферы, образованные из кислых протеиноидов, граммотрицательны; микросферы, в состав которых входят основные протеиноиды, грамположительны. У них есть барьер с избирательной проницаемостью; способность к делению и почкованию; подвижность, способность к наращиванию массы; тенденция к контактированию друг с другом. В протеиноидных микросферах найдена ферментоподобная активность.

Коацерватные капли отделены от раствора четко выраженной поверхностью (слайд 6.16), способны избирательно поглощать из среды некоторые вещества (аминокислоты, сахара, мононуклеотиды) и выделять в среду продукты протекающих в них реакций. Концентрация полимеров в частице на один-два порядка выше, чем в окружающем растворе. Скорости ферментативных реакций в коацерватных каплях существенно выше, чем в гомогенных растворах.

Как из гипотетической протоклетки возникла первичная клетка, способная к самовоспроизведению, до сих пор не известно. В лабораторных условиях не удалось получить самореплицирующуюся систему из простых

предшественников. Некоторые процессы, необходимые для зарождения первичной клетки: появлении асимметрии живых организмов, возникновении и эволюции каталитической активности и матричного синтеза (слайд 6.17).

1. Возникновение оптической активности. Асимметричный синтез клеткой органических веществ происходит на базе уже существующей в них асимметрии. Вопрос сводится к тому, как впервые возник асимметричный синтез. Согласно одной из гипотез, возникновению жизни должно было предшествовать сильное нарушение зеркальной симметрии в виде скачкообразного перехода и формирование только одного типа асимметрических молекул: L-аминокислот и D-сахаров, из которых образуются короткие цепочки молекул – блоков будущих ДНК, РНК и белков.

2. Возникновение и эволюция каталитической активности. В основе метаболизма современных клеток лежит совершенный каталитический аппарат, поэтому эволюционное развитие протоклеток связано с развитием и совершенствованием их каталитических активностей.

3. Возникновение матричного синтеза. В модельных опытах было показано возникновение пространственно обособленных систем, построенных из протеиноидов, с определенным постоянством аминокислотных последовательностей. Возможно, что информация о полипептидах типа протеиноидов была заключена в них самих, а, следовательно, на начальном этапе эволюции протоклетки могли воспроизводиться и передавать информацию потомству без участия нуклеиновых кислот.

Дальнейшее усложнение структуры и совершенствование функции полипептидов приводило к появлению в них определенных аминокислотных группировок, которым была присуща полезная для протоклетки активность. Для дальнейшей эволюции необходимо было создание специального аппарата, который обеспечивал бы в ряду поколений точное воспроизведение полипептидов с определенно закрепленным расположением аминокислотных остатков. Это привело к формированию принципиально нового механизма синтеза – матричного синтеза.

В модельных опытах было показано, что полинуклеотидная цепь может служить матрицей, связывающей свободные нуклеотиды. В результате возникает спиральная структура.

Вопрос о том, каким путем в молекулах полинуклеотидов возникла и закрепилась информация о структуре белков, остается наиболее неясным. Не исключено, что на первых этапах поток информации шел в любом направлении и, таким образом, устанавливались взаимные связи между определенными последовательностями аминокислот в протобелках и нуклеотидов в полинуклеотидах. Позднее поток информации стал однонаправленным (полинуклеотид → протобелок).

Таким образом, дискуссионным остается вопрос о том, на каком этапе эволюционного процесса нуклеиновые кислоты сформировались как информационные молекулы. Согласно одним представлениям на начальном



этапе эволюции роль носителей информации выполняли белковоподобные молекулы, и первые примитивные клетки функционировали без нуклеиновых кислот. Другая гипотеза исходит из того, что первыми возникли нуклеиновые кислоты, а позднее, на базе содержащейся в них информации, возникли белки (гипотеза «генной жизни» Г. Мёллера (H. Muller)).

Формы жизни, возникшие на "белковой основе", были неустойчивыми из-за отсутствия системы передачи информации, использующей свойства нуклеиновых кислот, а "генная жизнь" не могла прогрессивно эволюционировать без участия белков, обладающих каталитическими свойствами. Как произошло возникновение формы жизни, в основе которой лежат белки и нуклеиновые кислоты, пока не известно. Ясно только, что "встреча" обоих типов соединений положила начало пути эволюции, на котором произошло формирование механизмов синтеза белка и нуклеиновых кислот и кодовых взаимодействий между обоими механизмами.

#### 6.2.4. Эволюция прокариотов

В восстановительной первичной атмосфере происходило развитие прокариотических организмов (слайд 6.18). Первыми прокариотами, которые могли появиться в водоемах, богатых органическими веществами, были организмы, существовавшие за счет брожения и обладавшие основными функциями анаэробного обмена (фруктозобисфосфатный и пентозофосфатный пути). Если предположить, что в водоемах имелись тогда и сульфаты, то следующим достижением органической эволюции мог быть эффективный транспорт электронов с созданием протонного потенциала как источника энергии для регенерации АТФ. На этом этапе эволюции, вероятно, возникли производные тетрапиррола, содержащие железо или никель, а также автотрофный способ ассимиляции углерода (путь ацетил-СоА). Как реликты тех времен могут рассматриваться метанобразующие и ацетогенные бактерии, а также бактерии, восстанавливающие сульфаты до сульфида, которые, за рядом исключений, могут использовать  $H_2$ ,  $CO_2$  и некоторые продукты брожения.

После «изобретения» фосфорилирования, сопряженного с переносом электронов, могла возникнуть также фотосистема I – протонный насос, приводимый в действие светом», что позволило использовать свет в качестве источника энергии (слайд 6.19). Первые фототрофные организмы, вероятно, ассимилировали углерод на свету подобно *Rhodospirillaceae*. С приобретением способности фиксировать  $CO_2$  в рибулозобисфосфатном цикле и использовать неорганические доноры электронов ( $H_2$ ,  $H_2S$ , S) выработался тип метаболизма, характерный для пурпурных серных бактерий (*Chromatiaceae*). К еще большей независимости от растворенных в воде веществ привело затем появление фотосистемы II: стал возможен нециклический перенос электронов с использованием воды в качестве их донора. Этот процесс был связан с выделением кислорода. Кислородный фотосинтез привел к тому, что земная атмосфера приобрела окислительный

характер. Представителями первых микроорганизмов, осуществлявших фотосинтез с выделением  $O_2$ , являются цианобактерии.

В результате превращения цитохромов в терминальные оксидазы и использования молекулярного кислорода в качестве акцептора электронов у бактерий стал возможным новый тип метаболизма – аэробное дыхание.

Все фототрофные дышащие прокариоты, известные в настоящее время, существовали уже 2,1 млрд. лет назад; 2,7 млрд. лет назад имелся в небольшом количестве кислород. На протяжении последних 1,2 млрд. лет вся жизнь на Земле зависит от биологического фотосинтеза и от кислорода, выделяемого растениями (слайд 6.20).

Цианобактериям мы обязаны появлением молекулярного кислорода в атмосфере Земли. Однако вначале весь выделяемый ими  $O_2$  поглощался земной корой, в которой происходили интенсивные процессы окисления.

В период до 0,6 млрд. лет назад содержание кислорода в атмосфере увеличилось, вероятно, всего лишь до 2%. И только после того, как растения завоевали сушу, концентрация кислорода в воздухе резко повысилась и достигла современного уровня (21%). Накопление  $O_2$  сопровождалось образованием отложений углерода в форме каменного угля, нефти, природного газа и углеродсодержащих осадочных пород (слайд 6.21).

Первые эукариоты появились приблизительно 1,5 млрд лет назад. Все эукариоты, за очень малым исключением, – аэробные организмы. Таким образом, прокариоты были единственными обитателями нашей планеты в течение 2/3 времени эволюции биосферы. Если прокариоты в течение миллиардов лет развивались сами по себе, то эукариоты никогда не оставались одни. Им приходилось все время противостоять прокариотам. Они предоставляли последним новые экологические ниши, защиту и были их жертвами. Многоклеточные организмы своими высокоразвитыми защитными и иными приспособлениями отчасти обязаны агрессивности прокариот. С другой стороны, эукариоты научились извлекать пользу из тесной ассоциации с прокариотами и поставили их себе на службу в качестве эктосимбионтов (в кишечном тракте, на коже, у жвачных в рубце) и эндосимбионтов (для фиксации азота, продукции биомассы путем фотосинтеза, использования  $H_2S$ , удаления  $H_2$ ).

Согласно современным представлениям окончательное формирование земной коры произошло около 4,6 млрд лет назад. Наши сведения об истории возникновения и развития жизни на Земле ограничены преимущественно последним периодом, длительность которого порядка 600 млн лет. Остальной временной период, составляющий примерно 90% всей истории существования Земли, фактически является чистой страницей в изучении возникновения и развития жизни на Земле.

### 6.3. Систематика и филогения прокариотов

До 1977 г. считалось, что ранние формы живых организмов и их современные потомки-прокариоты представляют собой непрерывную монофилетическую линию. Согласно этому, эукариотическая клетка возникла из прокариотической цианобактерии сравнительно недавно – примерно  $10^9$  лет назад. Этот предковый эукариотический организм мог дать затем начало растениям и – при утрате фотосинтетического аппарата – простейшим, грибам и высшим животным.

Прокариоты исходно определяли на основе негативных критериев, т. е. отсутствия тех свойств, которые имеются у эукариот, и такие признаки, как присутствие 70S-рибосом или пептидогликана, не использовались для описания прокариот. Хотя прокариотам и был придан уровень царства — *Monera*. Гипотеза эндосимбиоза, возрожденная в конце 1960-х гг. Л. Маргулис (Margulis), постулировала, что эукариотическая клетка – это химерная структура, возникшая при слиянии представителей различных эволюционных линий прокариот (слайд 6.22). Анализ последовательностей рРНК дал результаты, которые рассматриваются в пользу этой теории. В настоящее время считается, что митохондрии произошли из аэробных представителей *Proteobacteria*, хлоропласты – из цианобактерий.

Анаэробные бактерии-броидильщики рассматриваются как предки всех живых организмов в обеих предложенных концепциях эволюции прокариот – гипотезе конверсии П. Броне (Brode), и гипотезе сегрегации Маргулис. Результаты филогенетического анализа подтверждают гипотезу конверсии: фотосинтетический аппарат возник на ранней стадии эволюции бактерий. Утрата фотосинтетического аппарата независимо у определенных представителей всех эволюционных линий, кроме двух (зеленых серных бактерий и цианобактерий), и изменения функции цепи циклического транспорта электронов в ответ на изменение условий питания привели к эволюции новых типов метаболизма. С гипотезой конверсии согласуются также сформировавшиеся в последнее время представления о том, что такие типы метаболизма, как брожение, анаэробное дыхание, хемоавтотрофия и аэробное дыхание, не эволюционировали монофилетически, но произошли от разных предковых форм в различных основных эволюционных линиях. Многие фототрофные бактерии, как установлено, близкородственны хемоавтотрофным и аэробным бактериям.

В 1977 г. К. Вёзе (Woese Carl) и С. Фокс (S. Fox) путем анализа 16S и 18S-рРНК установили, что прокариоты не представляют собой единую филогенетическую группу организмов. Две главные эволюционные линии прокариот (эубактерии и архебактерии) были обозначены как царства (слайд 6.23).

В настоящее время существует концепция доменов. Таксон домена был предложен как более высокий по отношению к царству, чтобы подчеркнуть значение подразделения мира живого на три части: *Archaea*, *Bacteria* и

*Eucarya*. Домен *Archaea* разделяется на два царства: *Crenarchaeota* и *Euryarchaeota* (слайд 6.24). Внутри домена *Bacteria* (слайд 6.25) выделено более 15 основных эволюционных линий (~ 20), большинство бактерий относится к двум из них: грамположительным бактериям и *Proteobacteria* (слайд 6.26).

Конечная цель систематики микробов – это создание таксономической схемы, соответствующей эволюции, по признакам гомологии на геномном уровне. Однако пока эта претенциозная цель не будет достигнута, руководства и методические разработки в области систематики и таксономии не должны слишком отрываться от потребностей ежедневной практики прикладной микробиологии, например медицинских учреждений, агентств по охране окружающей среды и биотехнологических производств.

# ЛЕКЦИЯ № 7. ЦАРСТВО ГРИБОВ (FUNGI)

- 7.1. Морфология и физиология грибной клетки
- 7.2. Способы размножения грибов
- 7.3. Экологические группы грибов и их практическое значение (слайд 7.3)

## 7.1. Морфология и физиология грибной клетки

Царство грибов сочетает свойства растений и животных. Общие признаки грибов и растений: неподвижность, верхушечный рост и размножение с помощью спор. Вместе с тем у грибов, как и у животных, отсутствует фотосинтез, в продуктах обмена присутствует мочевины, а в оболочках клеток имеется хитин (слайд 7.4).

Строение грибной клетки типичное для эукариот (слайд 7.5). Основой вегетативного тела грибов является мицелий. Гифы, из которых образуется мицелий, имеют верхушечный рост и обильно ветвятся.

В грибной клетке имеется от одного до нескольких ядер. У ядра двойная мембрана, ядрышко и хромосомы, содержащие ДНК.

У низших грибов гифы не имеют поперечных перегородок (неклеточный мицелий) (слайд 7.6). У высших грибов гифы имеют поперечные перегородки, делящие их на отдельные клетки (слайд 7.7), в каждой из которых находится одно, два или больше ядер (гетерокариоз).

У большинства грибов имеются плодовые тела, имеющие различную консистенцию, окраску и форму. Они также состоят из гиф, только более плотно переплетенных между собой (слайд 7.8). Неблагоприятные условия грибы переносят в форме покоящихся клеток: хламидоспор, артроспор, склероций (слайд 7.9).

Основная масса грибов – аэробы и обладают кислородным дыханием. Некоторые грибы (дрожжи, мукооровые грибы, аспергиллы) могут вызывать различные типы брожения (слайд 7.10).

По типу питания грибы являются гетеротрофами: сапротрофами, паразитами, редко хищниками. Тип питания осмотрофный. При этом происходит выделение ферментов и осмотическое всасывание органических веществ. Наряду с бактериями, грибы – редуценты, разлагающие сложные органические вещества. На грибы приходится утилизация 2/3 связанного углерода. В этом заключается глобальная экологическая роль грибов.

## 7.2. Способы размножения грибов

Вегетативное размножение осуществляется участками мицелия, почкованием клеток (у дрожжей), артроспорами и хламидоспорами (слайд 7.11).



Для дрожжей типичным способом бесполого размножения является почкование; бинарное деление наблюдается редко. Дрожжи, имеющие процесс деления, образуют истинный мицелий, почкующиеся клетки образуют псевдомицелий (слайд 7.12).

Бесполое размножение происходит путем образования бесполок спор (конидий), образующихся в спорангиях (на конидиеносцах). Споры некоторых низших грибов обладают жгутиком и способны к передвижению в воде (зооспоры). Распространение спор происходит после разрыва оболочки конидиеносца (или спорангия). При бесполом размножении образуется огромное количество спор, вследствие чего указанный способ играет важнейшую роль в распространении грибов в окружающей среде (слайд 7.13).

Половое размножение грибов осуществляется путем слияния мужских и женских половых клеток (гамет) с последующим объединением ядер (слайд 7.14). В качестве органов размножения у низших грибов образуются зигоспоры и ооспоры, а у высших – базидии с базидиоспорами или сумки (аски) с аскоспорами. У базидиомицетов произошло угасание типичного полового процесса и оплодотворение осуществляется путем соматогамии.

Если женские и мужские гаметангии образуются на мицелии, развившемся из одной споры, то говорят о гомоталлических грибах (слайд 7.15). У гетероталлических грибов талломы различны в половом отношении, т. е. несут либо только мужские, либо только женские половые органы. У гомоталлических грибов возможно самооплодотворение (аутогамия). В тех случаях, когда самооплодотворению препятствует какого-то рода физиологический барьер, говорят об их несовместимости.

Совершенные грибы имеют стадии бесполого и полового размножения. У несовершенных грибов в жизненном цикле отсутствует (либо не обнаружена) половая стадия. Эта группа грибов не имеет таксономического значения.

Половое и бесполое спороношение сменяются в жизненном цикле грибов закономерно; половое размножение обычно завершает жизненный цикл.

### **7.3. Экологические группы грибов и их практическое значение**

В природе насчитывается свыше 300 тыс. видов грибов, ареал которых охватывает всю Землю. Имеется несколько экологических групп грибов.

Почвенные грибы – участвуют в минерализации органического вещества, образовании гумуса, разрушении лесной подстилки и т.п.; способствуют очищению почвы от патогенных микроорганизмов. Грибы – главные компоненты биоценозов многих почв по числу видов и по биомассе (слайд 7.16).

Грибы-микоризообразователи – формируют симбиотические связи с корнями высших растений.

Грибы-ксилотрофы – разрушители древесины, выделяют ферменты, разлагающие клетчатку и лигнин. Большой вред наносят лесному хозяйству (слайд 7.17).

Энтомопатогенные грибы – вызывают заболевания членистоногих (насекомых, паукообразных, клещей). На их основе созданы биопрепараты, применяемые для уничтожения вредных насекомых и др.

Первичноводные грибы – древнейшая группа грибов, паразиты водных организмов – водорослей, беспозвоночных животных и рыб (слайд 7.18).

Вторичноводные грибы – не имеют подвижных зооспор, однако адаптация к водному образу жизни.

Фитопатогенные грибы – вызывают заболевания растений: спорынья, пыльная головня, ржавчина, корневые гнили. Известны микотоксикозы человека и животных вызываемые грибами, некоторые грибы способны вызывать острые, иногда смертельные пищевые отравления.

Зоопатогенные грибы – возбудители грибковых заболеваний человека и животных (слайд 7.19). Поражают покровы млекопитающих (*Trichophyton*), слизистые оболочки (*Candida*) и внутренние органы (*Aspergillus*).

Грибы-микофилы – паразитируют на мицелии и плодовых телах других грибов. Вредят грибному производству, являются основой биопрепаратов (слайд 7.20).

Лихенизированные грибы – входят в состав лишайников, не встречаются в свободном состоянии и очень медленно растут на искусственных средах.

Грибы-хищники – ловят и переваривают амёб, ракообразных, коловраток, микроскопических нематод и т. д.

Микромицеты вызывают порчу пищевых продуктов, портят смазочные масла и другие нефтепродукты, оптические изделия, лакокрасочные покрытия, вызывают коррозию металлов. Грибы разрушают книги, произведения искусства, и т.п. Однако, большое количество видов грибов – полезные (слайд 7.21).

Грибы принимают активное участие в круговороте веществ в природе, находят практическое применение в хозяйственной деятельности человека.

1. Продуценты биологически активных веществ: органических кислот (*Aspergillus*), ферментов (*Aspergillus*, *Penicillium*), липидов (*Penicillium*), гиббереллинов (*Fusarium*), антибиотиков (*Penicillium*), витаминов (дрожжевые грибы);

2. Грибы используются в пищевой промышленности для созревания сыров (*P. roqueforti*, *P. camamberti*), в виноделии, пивоварении, хлебопечении (дрожжевые грибы); около 150 видов грибов съедобны и используются в питании.

3. Грибы используются в сельском хозяйстве для борьбы с возбудителями болезней растений и вредителями (*Trichoderma*, *Trichotecium*, *Beauveria* и др.).

# ЛЕКЦИЯ № 8. СИСТЕМАТИКА ГРИБОВ

- 8.1. Принцип построения современной системы грибов
- 8.2. Основные таксономические критерии
- 8.3. Характеристика отделов, классов и некоторых представителей царства *Fungi* (слайд 8.3)
  - 8.3.1. Отдел *Muchomycota*
  - 8.3.2. Отдел *Heterocontae*
  - 8.3.3. Отдел *Eumycota* или настоящие грибы (слайд 8.14)

## 8.1. Принцип построения современной системы грибов

Во всех системах грибы выделяются в самостоятельное царство (*Fungi*). Классификация грибов преследует в основном практические цели; однако она учитывает при этом и филогенетические связи.

Общность способов питания вовсе не означает филогенетической общности грибов. В группу организмов, обозначаемых как грибы, входит большое число независимо возникших или очень давно разошедшихся эволюционных линий. Среди них имеются как амeboподобные животные, так и потерявшие хлорофилл водоросли. Три главные эволюционные линии – отделы *Muchomycota* – слизевика, *Heterocontae* – разножгутиковые, *Eumycota* – истинные грибы (слайд 8.4).

## 8.2. Основные таксономические критерии

При определении систематического положения грибов учитывают в первую очередь строение мицелия (наличие перегородок) и тип полового процесса (слайд 8.5). В зависимости от характера полового процесса грибы подразделяют на классы. Дальнейшую идентификацию совершенных грибов проводят, основываясь на морфологических признаках: число жгутиков у подвижных стадий, характер образования плодовых тел, форма плодовых тел, морфология асков и базидий, морфология аскоспор и базидиоспор. У несовершенных грибов учитывают морфологию конидиального спороношения (строение конидиеносцев и конидий), наличие пигмента, образование покоящихся стадий (склероциев, хламидоспор).

## 8.3. Характеристика отделов, классов и некоторых представителей царства *Fungi*

### 8.3.1. Отдел *Muchomycota*

Миксомицеты или слизевика (слайд 8.6). Объединяет организмы, вегетативная фаза которых представлена плазмодием – голый цитоплазматической массой, окруженной перипластом и способной к



амебообразным перемещениям, или псевдоплазмодием – агрегацией амебообразных клеток (миксамеб), также способных к синхронному движению.

При спороношении плазмодий преобразуется в спорангии, в которых формируются покоящиеся споры. Споры прорастают в подвижные зооспоры, которые сливаются, образуя диплоидную клетку. Клетка теряет жгутики и прорастает в плазмодий.

Следовательно, в вегетативной фазе миксомицеты сходны с животными, а в генеративной – с грибами.

**Класс *Myxomycetes*** – истинные миксомицеты (слайд 8.7). Сапротрофные организмы, обитают в лесу, минерализуют древесину, опавшую листву и др.

**Класс *Dictyosteliomycetes*** – клеточные миксомицеты. Вегетативная фаза этих миксомицетов представлена отдельными клетками (миксамебами), которые живут в богатом органическими веществами субстрате (в навозе), питаются бактериями (зоотрофный тип питания) и размножаются делением клеток. При голодании они образуют псевдоплазмодии, формируют столбик со спорангием.

**Класс *Plasmodiophoromycetes*** – паразитические миксомицеты, включает виды, развивающиеся как облигатные внутриклеточные паразиты высших растений (слайд 8.8). *Plasmodiophora brassicae* – возбудитель килы крестоцветных.

### 8.3.2. Отдел *Heterocontae*

Некоторые группы грибоподобных организмов имеют много черт, сближающих их с разножгутиковыми водорослями (слайд 8.9):

- их подвижные клетки гетероконтны или имеют один перистый жгутик;
- половой процесс – оогамия, морфологически сходная с половым процессом некоторых гетероконтных водорослей;
- синтез лизина проходит через диаминопимелиновую кислоту, как у растений, но не как у животных и большинства грибов;
- в клеточной стенке содержится много целлюлозы и очень мало хитина;
- кристы митохондрий трубчатые.

Все это наводит на предположение о том, что эти организмы произошли от потерявших хлоропласты и перешедших к гетеротрофному питанию золотистых или желто-зеленых водорослей.

**Класс *Labyrinthulomycetes***. Они паразитируют на морских водорослях и морской траве зостере. Сходны с миксомицетами, однако у некоторых видов обнаружены гетероконтные зооспоры.

**Класс *Hyphochytriomycetes*** – водные грибы, имеющие подвижные клетки с одним перистым жгутиком. Среди них преобладают паразиты водорослей, водных грибов и беспозвоночных.

**Класс *Oomycetes*.** Оомицеты имеют хорошо развитый неклеточный мицелий (слайд 8.10). Клеточная стенка содержит целлюлозу. Зооспоры с двумя жгутиками. У *Saprolegnia* и родственных видов обнаружена двустадийность образования зооспор – диплания.

Половой процесс оогамный, гаметангиогамия. Оогонии имеют шаровидную форму, толстые стенки и содержат несколько яйцеклеток (оосфер). Антеридии меньше по своим размерам. Оплодотворенная оосфера окружается толстой стенкой и превращается в ооспору. После длительного периода покоя ооспоры прорастают; при этом происходит редукционное деление. Цикл завершается образованием нового спорангия.

Сапролегниевые (*Saprolegniales*) – встречаются в пресных и морских водах как сапротрофы или паразиты водорослей, грибов, рыб, лягушек и т. п. (слайд 8.11).

Пероноспоровые (*Peronosporales*) – облигатные паразиты растений (*Pythium debaryanum*, *Phytophthora infestans* и *Plasmopara viticola*) (слайд 8.12, 8.13).

### 8.3.3. Отдел *Eumycota* или настоящие грибы (слайд 8.14)

**Класс *Chytridiomycetes*.** Это микроскопически малые грибы – самые простые по степени развития вегетативного тела (плазмодий, зачаточный мицелий или хорошо развитый мицелий) (слайд 8.15).

Клеточная стенка у них состоит в основном из хитина. В цикле развития есть жгутиковые стадии (зооспоры и гаметы, имеющие один гладкий жгутик). Им свойственно бесполое размножение зооспорами. Половой процесс разнообразен, у большинства – изогамия.

Большинство хитридиевых грибов – паразиты пресноводных и морских водорослей, грибов, водных растений и животных. Значительно меньшая часть развивается сапротрофно. Многие представители паразитируют на высших наземных растениях при избыточном увлажнении почвы. Среди них известны *Olpidium brassicae*, *Synchytrium endobioticum* (слайд 8.16).

**Класс *Zygomycetes*.** Зигомицеты – наиболее высокоразвитая, перешедшая к наземному образу жизни группа низших грибов (слайд 8.17).

Мицелий неклеточный, хорошо развитый. Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиоспорами, реже конидиями. Половой процесс – зигогамия (гаметангиогамия). В результате слияния двух гаметангиев, в виде мостика соединяют две родительские гифы. За этим следует попарное соединение (+)- и (-)-ядер, а потом их слияние. Ценозигота увеличивается в размерах и, в конце концов, превращается в толстостенную зигоспору. После периода покоя зигоспора прорастает с образованием зародышевого спорангия; ядра при этом претерпевают редукционное деление и многочисленные митозы. Вегетативное тело гриба представляет собой гаплоидную фазу.

Мукоровые грибы (*Mucorales*) обитают на гниющих органических материалах; некоторые из них – копрофилы (слайд 8.18). *Mucor mucedo*

(обычная головчатая плесень), *Rhizopus nigricans* (вульгарная хлебная плесень) – продуценты ферментных препаратов. В отсутствие молекулярного кислорода переходят к брожению; многие из них образуют в таких случаях молочную кислоту или этиловый спирт.

Паразиты насекомых (*Entomophthorales*) вызывают гибель личинок комаров и мух, в связи с чем на их основе разрабатываются методы биологической борьбы с вредными насекомыми. Энтомофторовые грибы формируют конидии. Род *Entomophthora* – поражают насекомых из 12 отрядов (слайд 8.19).

**Класс Ascomycetes.** Сумчатые грибы, или аскомицеты, - один из крупнейших классов, включает около 30% всех известных видов грибов.

Вегетативное тело аскомицетов – разветвленный гаплоидный септированный мицелий, состоящий из многоядерных или одноядерных клеток. Через поры в септах могут мигрировать питательные вещества, вирусы и ядра. Клетки содержат нефиксированное число ядер (слайд 8.20).

У некоторых аскомицетов мицелий может распадаться на отдельные клетки или почковаться (порядок *Endomycetales*).

В состав клеточных стенок аскомицетов входит хитин (20-25%), глюканы – полимеры D-глюкозы (80-90%). У дрожжей, кроме глюканов, обнаружены маннаны. Целлюлоза не обнаружена, за исключением рода *Ophiostoma*.

Основной признак аскомицетов – образование в результате полового процесса сумок, или асков, – одноклеточных структур, содержащих фиксированное число аскоспор, обычно 8. Сумки образуются по типу крючка непосредственно из зиготы или на развивающихся из зиготы аскогенных гифах. Форма аскоспор очень разнообразна (слайд 8.21).

У низших аскомицетов сумки образуются непосредственно на мицелии, а у высших – в плодовых телах. Различают следующие типы плодовых тел: клейстотетий, перитеций и апотеций.

В цикле развития аскомицетов наряду с сумчатой стадией – телеоморфой, присутствует стадия бесполого размножения, или анаморфа. Споры бесполого размножения (конидии) образуются на гаплоидном мицелии на конидиеносцах. Конидиальные спороношения развиваются в период вегетации грибов и служат для их массового расселения.

Анаморфы многих аскомицетов имеют самостоятельные видовые наименования и относятся к классу дейтеромицетов, или несовершенных грибов.

**Подкласс Hemiascomycetidae** (голосумчатые грибы) – включает виды, у которых сумки формируются прямо на мицелии (слайд 8.22). Дрожжевые грибы – порядок *Endomycetales* (слайд 8.23, 8.24, 8.25). Тафриновые грибы – порядок *Taphrinales*, вызывают разрастание тканей пораженных древесных растений (слайд 8.26).

**Подкласс Euascomycetidae** (плодосумчатые грибы) – включает виды, у которых сумки находятся внутри плодовых тел (слайд 8.27). Строение

плодовых тел и расположение в них сумок легли в основу классификации плодосумчатых грибов (слайд 8.28).

1. Группа порядков Плектномицеты – грибы, образующие клейстотеции.

Порядок *Ascosphaerales* – паразиты насекомых (слайд 8.29). Порядок *Eurotiales* – включает телеоморфы грибов *Eurotium*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Talaromyces*, анаморфы которых относятся к родам *Aspergillus* и *Penicillium* (слайд 8.30).

2. Группа порядков Пиреномицеты – грибы, образующие перитеции (слайд 8.31). К пиреномицетам принадлежит много вредоносных грибов, в том числе облигатные паразиты – возбудители настоящей мучнистой росы (*Erysiphe*, *Uncinula* и др. (слайд 8.32)), спорыньи (*Claviceps*) а также сапротрофные виды *Chaetomium*, *Hypocrea* и виды *Neurospora*, известные как объекты генетических исследований.

Возбудители спорыньи злаков имеют сложный цикл развития (слайд 8.33). Склероции содержат сильнодействующие алкалоиды, применяемые в качестве лечебных средств.

3. Группа порядков Дискомицеты – грибы, образующие апотеции. У некоторых лесных грибов они ярко-красные, желтые или оранжевые, у других – черные или коричневые (слайд 8.34). К этой группе принадлежат некоторые лесные грибы, например пецица (*Peziza*), сморчки (*Morchella*) и трюфели (*Tuber*), а также и фитопатогенные грибы (*Sclerotinia*, *Phacidium*, *Lophoderma*) (слайд 8.35, 8.36).

**Подкласс Loculoascomycetidae** (полостносумчатые грибы) – сумки образуются не в плодовых телах, а в сплетении гиф – строме. Пучки созревающих сумок раздвигают гифы стромы, образуя полости, или локулы. Сумки локулоаскомицетов имеют двухслойную оболочку, и из них происходит активное разбрасывание спор. При созревании сумки наружный слой оболочки лопается, а внутренний под действием тургорного давления растягивается и разрывается.

Большинство развиваются на отмерших частях растений сапротрофно, или паразитируют на живых растениях (слайд 8.37).

*Elsinoë* – возбудители антракнозов малины, ежевики; парши цитрусовых. *Venturia* – возбудители парши яблони и груши. *Mycosphaerella* – возбудители белых пятнистостей листьев земляники, томатов и других растений.

**Класс Basidiomycetes.** Базидиомицеты считаются наиболее высокоразвитой группой грибов. Это высшие грибы с хорошо развитым многоклеточным мицелием. Конидиальная стадия встречается редко.

У базидиальных грибов наблюдается дальнейшая эволюция полового процесса: морфологическое упрощение (соматогамия), дальнейшее расширение роли дикариона в жизненном цикле (слайд 8.38).

Гаплоидный мицелий – промицелий – слабо развит и недолговечен. При слиянии гиф развивается вторичный дикариотический мицелий, который преобладает в жизненном цикле гриба (слайд 8.39). При каждом клеточном делении происходит сопряженное деление обоих ядер. У многих

базидиомицетов деление клеток и ядер сопровождается образованием так называемой пряжки. Такой механизм обеспечивает получение новой клеткой по одному дочернему ядру каждого типа. На дикариотическом мицелии формируются базидии, в которых осуществляются кариогамия, мейоз и образование базидиоспор.

Базидии с базидиоспорами могут возникать прямо на мицелии. Но у большинства базидиомицетов они образуются на плодовых телах или внутри них, в специальном слое – гимении (слайд 8.40). Поверхность плодового тела, несущую гимений, называют гименофором. У низших представителей он гладкий, а у более высокоорганизованных имеет форму зубцов, трубочек, пластинок. По расположению гимения различают гименомицеты и гастеромицеты. К гименомицетам относятся шляпочные грибы, трутовики и кораллоподобные формы. У гастеромицетов плодовое тело не открывается.

Базидии различают по строению. Булавовидная одноклеточная – холобазидия, разделенная перегородками – гетеробазидия, четырехклеточная с поперечными перегородками – фрагмобазидия (телиобазидия).

По строению базидии класс подразделяется на 3 подкласса.

**Подкласс *Holobasidiomycetidae*.** К холобазидиальным относятся дрожжевые (*Filobasidium*) и мицелиальные формы – лисички (*Cantharellus*), вешенка (*Pleurotus*), белый гриб (*Boletus*), масленок (*Suillus*), шампиньон (*Agaricus*). Бледная поганка, мухомор (*Amanita*) (слайд 8.41, 8.42).

Трутовые грибы (*Polyporus*) – разрушители древесины, настоящий домовый гриб – *Serpula lacrymans* (слайд 8.43).

Подкласс включает грибы, имеющие дрожжевую стадию в цикле развития. Анаморфы классифицируются в родах *Candida* и *Cryptococcus* (слайд 8.44).

**Подкласс *Heterobasidiomycetidae*.** К гетеробазидиомицетам относятся в основном сапротрофы на гниющей древесине (дрожалковые – *Tremellales*). Образуют кожистые или студенистые плодовые тела (слайд 8.45).

**Подкласс *Teliobasidiomycetidae*.** К телиобазидиальным относятся ржавчинные (*Uredinales*) и головневые (*Ustilaginales*) грибы – исключительно паразиты высших растений (слайд 8.46, 8.47).

Применение методов анализа ДНК к систематике базидиомицетов привело к существенной коррекции их классификации, основанной на морфологических признаках. По данным геносистематики среди базидиомицетов выделены также три подкласса, но с иными границами:

*Urediniomycetidae* (ржавчинные), *Ustilagomycetidae* (головневые) и *Hymenomycetidae* (гименомицеты).

В последнюю группу входят представители морфологических подклассов холобазидиомицетов и гетеробазидиомицетов.

**Класс *Deuteromycetes*** – несовершенные грибы. Представители класса неоднородны с филогенетической точки зрения (слайд 8.48).

Мицелий хорошо развитый, многоклеточный, сходный по строению с мицелием сумчатых грибов. Половой процесс отсутствует, однако имеется парасексуальный процесс. В результате объединения протопластов,

содержащих ядра разного типа, возникают гетерокарионы. Введенное в мицелий чужое ядро размножается, и образовавшиеся дочерние ядра распространяются по мицелию. Время от времени происходят кариогамия и мейоз. Таким образом, парасексуальный цикл обеспечивает рекомбинацию ядерного материала.

Конидии образуются на гаплоидном мицелии, на многоклеточных или реже одноклеточных конидиеносцах. Увеличение продукции конидий достигается путем ветвления конидиеносцев, путем образования расширений конидиеносцев, или же образованием конидий в длинных цепочках. Конидии распространяются пассивно, обычно воздушными течениями.

П. Саккардо (1880) создал систему, основанную на морфологии конидий и конидиогенных структур (слайд 8.49). Эта система служит только практическим целям (для номенклатуры и определения).

В последних системах грибов класс *Deuteromycetes* упразднен как искусственный, и дейтеромицеты под названием митоспоровые грибы (их ядра претерпевают только митотические деления) распределены по порядкам и семействам сумчатых. Грибы, имеющие спороношения, подобные анаморфам сумчатых, помещают в эти таксоны; для иных видов несовершенных грибов единственный путь соотнесения с сумчатыми – степень сходства ДНК.

Несовершенные грибы широко распространены в природе, многие вызывают плесневение и порчу сельскохозяйственного сырья, различных пищевых продуктов и органических материалов. Некоторые являются возбудителями болезней культурных и лесных растений.

Порядок *Blastomycetales* – объединяет анаморфы аскоспоровых и базидиомицетных дрожжевых грибов. Такие дрожжи обычно стабильно размножаются в природе в гаплоидном состоянии без включения полового процесса (слайд 8.50).

Порядок бластомицетов разделяют на два семейства на основании способности к образованию активно отбрасываемых конидий: *Sporobolomycetaceae* и *Cryptococcaceae*.

К аспорогенным дрожжам относятся роды *Candida*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Pullularia* и ряд других. Род *Candida* – типичные представители класса. Используются для получения кормового белка из нефтяных углеводородов и отходов производства. *Candida albicans* вызывает заболевание – кандидоз.

Порядок *Hyphomycetales* – к ним относятся такие важные роды, как *Aspergillus* и *Penicillium*, отличающиеся конидиальной стадией (слайд 8.51).

Грибы из рода аспергилл – одни из наиболее распространенных гифомицетов (слайд 8.52). Их обнаруживают в почвах, на различных продуктах, главным образом растительного происхождения. Большинство аспергиллов – сапротрофы (*A. niger*), но имеются токсинообразователи и паразиты животных и человека (*A. flavus*) (слайд 8.53).

Естественный резервуар грибов рода *Penicillium* – почва, встречаются также на разных субстратах, в основном растительного происхождения (слайд 8.54).

Внимание к пенициллам возросло, когда у них впервые была открыта способность образовывать пенициллин (слайд 8.55). *P. notatum*, *P. chrysogenum* – продуценты пенициллина. Из лесных почв и подстилки выделяется *P. thomii*. Пенициллы из серии *P. roqueforti* и *P. camamberti* обитают в почве, но преобладают в группе сыров, характеризующихся «мраморностью» – Рокфор, Камамбер, Бри (теперь их заменяют быстрее растущим *P. caseicolum*). Есть и вредоносные виды: *P. italicum* и *P. digitatum* вызывают гниение плодов цитрусовых (слайд 8.56).

Фитопатогенные дейтеромицеты. Среди дейтеромицетов известны многие паразиты, вызывающие заболевания растений. Это *Alternaria* – вызывает корневые гнили, черную пятнистость различных растений; *Verticillium* – возбудитель увядания или вертициллез (слайд 8.57); *Botrytis* – возбудитель серой гнили; *Fusarium* – возбудители корневых гнилей и сосудистых микозов сельскохозяйственных и лесных культур (слайд 8.58).

Энтомопатогенные дейтеромицеты – отличаются широкой специализацией. *Beauveria bassiana* – возбудитель белой мускардины. Гриб был найден на многих видах вредных насекомых, таких, как колорадский жук, картофельная коровка, луговой и кукурузный мотылек, вредная черепашка. На его основе был разработан препарат боверин.

Гриб *Metarrhizium anisoplae* – возбудитель зеленой мускардины, впервые найденный и описанный в качестве паразита хлебного жука И. И. Мечниковым. Возбудитель зеленой мускардины поражает более 70 видов насекомых, выделяя токсины, обладающие специфическим действием.

Микофильные дейтеромицеты – обширная экологическая группа. *Darluca filum* – паразит ржавчинных грибов; *Verticillium*, *Gliocladium*, *Trichothecium* – образуют антибиотики, убивающие мицелий фитопатогенных грибов.

Грибы рода *Trichoderma* – хорошо известны как продуценты антибиотиков и высокоактивных ферментов – целлюлаз и хитиназ (слайд 8.59). Они паразитируют на широком круге патогенных и сапрофитных грибов, применяются в производстве препаратов для биологической защиты растений от грибных болезней.

## ЛЕКЦИЯ № 9. ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ

- 9.1. История развития вирусологии
- 9.2. Строение и химический состав вирусов
  - 9.2.1. Строение вирусов
  - 9.2.2. Химический состав вирусов
- 9.3. Этапы взаимодействия вируса и клетки
  - 9.3.1. Вирусы животных
  - 9.3.2. Вирусы растений
  - 9.3.3. Вирусы бактерий
- 9.4. Типы взаимодействия вируса и клетки
- 9.5. Общие методы изучения вирусов (слайд 9.3)

### 9.1. История развития вирусологии

История вирусологии началась с открытия вируса табачной мозаики (ВТМ). В 1892 г. Д. И. Ивановский установил, что сок пораженных мозаичной болезнью растений табака, пропущенный через фарфоровый бактериальный фильтр и свободный от бактерий, сохраняет инфекционность. Д. И. Ивановский доказал, что возбудитель мозаичной болезни неспособен расти на искусственных питательных средах и может размножаться только в клетках растения (слайд 9.4).

В 1898 г. М. Бейеринк, не зная о работах Д. И. Ивановского, обнаружил, что возбудитель мозаичной болезни табака диффундирует через агаровый гель и осаждается спиртом без потери инфекционности. М. Бейеринк назвал этот возбудитель «жидким носителем инфекционности». После работ Д. И. Ивановского и М. Бейеринка начинается серия открытий фильтруемости возбудителей многих заболеваний человека, животных и растений. Этих возбудителей, невидимых в обычный микроскоп, стали называть фильтрующимися вирусами, а затем вирусами.

Используя тот же метод фильтрации, Ф. Леффлер (F. Lofler, 1852-1915) и П. Фрош (P. Frosch, 1860-1928) в 1898 году установили фильтруемость возбудителя ящура (слайд 9.5). Далее открытия вирусов происходили очень стремительно: 1901 год – вирус желтой лихорадки, 1907 – натуральной оспы, 1909 – полиомиелита (слайд 9.6).

В 1917 г. Ф. Д'Эррель (F. d'Herelle, 1873-1949) открыл бактериофаги.

В 1931 году А. М. Вудроф и Э. Дж. Гудпэсчур впервые применили метод выращивания вирусов в развивающемся курином эмбрионе.

Прогресс физико-химических методов привел к тому, что в 1935 г. У. М. Стенли (W. M. Stanley, 1860-1917) впервые выделил вирус табачной мозаики в кристаллическом виде. Благодаря этому появилась возможность изучать химический состав чистых препаратов вируса (слайд 9.7).

В 1939 году А. В. Арден и Г. Руска впервые применили для изучения вирусов электронный микроскоп.



В 1941 году Г.Херст установил, что вирус гриппа вызывает агглютинацию эритроцитов. Этим была положена основа для изучения взаимоотношений между поверхностными структурами вируса и эритроцитов.

Коренной перелом в исследованиях произошел в 1949 г., когда Дж. Эндерсу, Т. Уэллеру и Ф. Роббинсу удалось размножить вирус полиомиелита в клетках кожи и мышц человеческого зародыша. Они добились разрастания кусочков ткани на искусственной питательной среде. Метод культуры клеток стал одним из наиболее важных для культивирования вирусов.

В 1956 году удалось показать, что носителем инфекционности вируса является содержащаяся в нем нуклеиновая кислота. А в 1957 году А. Айзекс и Дж. Линдемэн открыли интерферон (слайд 9.8).

С. Бреннер и Д. Хорн ввели в технику электронной микроскопии метод негативного контрастного окрашивания, сделавший возможным изучение тонкого строения вирусов, в частности их структурных элементов (субъединиц).

В 1964 г. Д. К. Гайдузек (Gajdusek, р. 1923) с сотрудниками доказал инфекционный характер ряда хронических заболеваний центральной нервной системы человека и животных. Основоположник учения о медленных инфекциях человека, в 1976 г. получил Нобелевскую премию по физиологии и медицине совместно с Б. Бламбергом «за открытия, касающиеся новых механизмов происхождения и распространения инфекционных заболеваний» (слайд 9.9).

В то же время американский генетик Б. С. Бламберг (Blumberg, род. 1925) обнаруживает антиген сывороточного гепатита (австралийский антиген), вещество, идентифицируемое при помощи серологических тестов. Этому антигену суждено было сыграть большую роль в вирусологических исследованиях гепатита. Антиген HBsAg без самого вируса был выделен у носителей вируса гепатита В, очищен и оказался безвредной и эффективной вакциной.

В 1967 В. Stollar, Т. Diener, W. Raymer открыли новый тип инфекционного агента, вызывающего заболевания растений – вириоды (слайд 9.10).

В 1970 г. Х. М. Темин (Temin, 1934-1994) и Д. Балтимор независимо друг от друга открыли фермент обратную транскриптазу. В 1975 г. совместно с Дульбекко были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине (слайд 9.11).

В 1980-х калифорнийский биохимик С. Прузинер изучал молекулярные механизмы болезни Крейтцфельда-Якоба – довольно редкого (один случай на 1-2 миллиона населения) дегенеративного заболевания мозга. Ему удалось выделить инфекционный белок, названный в 1982 прионом. В 1997 году Прузинер получил Нобелевскую премию.

В настоящее время интерес к вирусологии объясняется, прежде всего, огромным значением вирусов в патологии человека, животных и растений.

Кроме этого, вирусология вносит существенный вклад в разработку многих общебиологических проблем (генетических молекулярных и т. д.).

## **9.2. Строение и химический состав вирусов**

### **9.2.1. Строение вирусов**

Вирусы можно рассматривать двояко: как болезнетворные агенты и как агенты наследственности. Не все вирусы являются двойственными агентами; некоторые действуют только как болезнетворные, другие – только как агенты наследственности. Какую роль играет вирус, во многих случаях зависит от клетки хозяина и условий внешней среды.

Вирусы – это биологические объекты, имеющие свои особенности:

1. Содержат в своем составе только один из типов нуклеиновых кислот: РНК или ДНК (слайд 9.12).

2. Не обладают собственным обменом веществ. Для размножения используют обмен веществ клетки-хозяина, ее ферменты и энергию.

3. Могут существовать только как внутриклеточные паразиты и не размножаются вне клеток тех организмов, в которых паразитируют (в отличие от бактерий вирус паразитирует на генетическом уровне).

Вопрос о происхождении вирусов является дискуссионным. В настоящее время обсуждаются три гипотезы: 1) вирусы – примитивные доклеточные формы жизни; 2) вирусы возникли из патогенных бактерий в результате их крайней дегенерации (регрессивной эволюции), в связи с облигатным паразитизмом; 3) вирусы возникли из нормальных клеточных компонентов, вышедших из-под контроля клеточных регулирующих механизмов, и превратились в самостоятельные единицы (слайд 9.13).

Наиболее вероятна третья гипотеза. Можно предположить, что на участке ДНК хозяина произошла серия генетических изменений, превративших его в вирусную ДНК. Фрагмент клеточной ДНК перешел к самостоятельной репликации, стал функционировать как матрица для синтеза РНК и белков. Подтверждением гипотезы является тесная связь между клетками и вирусами, а также высокая приспособленность вирусов к использованию клеточных систем.

Объяснить происхождение РНК-вирусов труднее, так как в нормальной клетке не бывает саморепликации РНК.

Вирусы существуют в двух основных формах: внеклеточной и внутриклеточной (слайд 9.14).

Основными компонентами вирусной частицы являются нуклеиновая кислота и капсид. Некоторые вирусы имеют внешнюю оболочку, окружающую их капсиды. По структуре это типичная двухслойная биологическая мембрана (слайд 9.15).

Капсид построен из капсомеров, которые, в свою очередь, состоят из одной (как у ВТМ) или нескольких белковых субъединиц. Для вирионов характерна строгая геометрическая упорядоченность строения.

Вирион или его отдельные части обладают определенной симметрией – спиральной и изометрической.

Спиральный тип симметрии характерен для многих вирусов растений и некоторых фагов (слайд 9.16). Спиральные вирусы подразделяют на палочковидные (ВТМ) и нитевидные (х-, у- и z-вирусы картофеля, вирус желтухи свеклы и др.).

Изометрические капсиды по форме почти идентичны сфере, представляют собой правильные многогранники (слайд 9.17). Могут быть построены в виде тетраэдра, октаэдра или икосаэдра, причем последний тип является наиболее распространенным. Икосаэдр – это правильный многогранник, имеющий 20 граней, 12 вершин и 30 ребер. Капсид защищает центральную часть вириона (ядро), в которой расположена нуклеиновая кислота или нуклеиновая кислота с белком. По этому принципу построены некоторые вирусы растений (мозаики огурцов, некроза табака). К зоопатогенным вирусам с икосаэдрической структурой относятся вирусы группы герпеса, аденовирусы, возбудители полиомиелита и др.

Сложные капсиды имеют большинство бактериофагов (слайд 9.18). Бактериофаги *Escherichia coli* Т-серии (Т-2, Т-4, Т-6) имеют головку и хорошо развитый отросток, состоящий из сократительного чехла и внутреннего полого белкового стержня. Один конец чехла закреплен на стержне, не соединяясь с головкой, а другой заканчивается базальной пластинкой с шипами и нитями. Чехол состоит из белковых субъединиц, уложенных по спирали. Сокращение чехла способствует проникновению ДНК в клетку хозяина

При электронно-микроскопическом анализе строения капсидов на их поверхности удается обнаружить выступы, шипы, которые обычно расположены на каждой из 12 вершин икосаэдра. Эти шипы играют важную роль в инициации инфекции. В литературе описан "волосатый" фаг, у которого от поверхности головки вириона отходят многочисленные фибриллы.

Далеко не у всех вирусов животных вирионы имеют описанные формы. Вирионы рабдовирусов по форме напоминают пулю; их оболочка образуется в результате отпочкования от плазматической мембраны клетки. Вирионы группы оспы имеют форму параллелепипеда с неравными ребрами, полностью формируются в цитоплазме клетки (слайд 9.19).

Размеры вирусных частиц могут достигать нескольких сотен нанометров (слайд 9.20).

### 9.2.2. Химический состав вирусов

Вирусы имеют сравнительно простой химический состав. Непременным компонентом вирусной частицы является нуклеиновая

кислота, белок и зольные элементы (K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu), соединенные с отрицательно заряженными группами нуклеиновой кислоты и белка. Эти три компонента являются общими для всех без исключения вирусов (простых или минимальных). Липиды и углеводы входят в состав сложных вирусов (слайд 9.21).

Различают две большие группы вирусов: ДНК-геномные и РНК-геномные. Большинство вирусов растений содержат РНК. Среди вирусов человека и животных широко представлены обе группы. Большинство бактериофагов являются ДНК-геномными вирусами.

**Вирусная ДНК.** Молекулы вирусных ДНК могут быть двух цепочечными или одно цепочечными, линейными или кольцевыми. Для двуспиральной циклической ДНК характерна суперспирализация, при этом изменяются свойства молекулы, повышается устойчивость к экзонуклеазам. Большинство нуклеотидных последовательностей в вирусном геноме встречается лишь по одному разу (слайд 9.22).

В составе ДНК фагов обнаружены аномальные азотистые основания: вместо цитозина – 5-оксиметилцитозин или 6-метилцитозин, а вместо тимина – 5-оксиметилурацил. Глюкозилирование ДНК некоторых фагов придает ей стабильность, делает нечувствительной к действию ДНКазы.

**Вирусная РНК.** У вирусов РНК выполняет функции вещества наследственности. Может быть двух- или одноцепочечная (слайд 9.23).

Геном одного вируса может быть фрагментированным. Эти фрагменты могут входить в состав одного вириона (моновирussy) или разных вирионов (ковирussy или мультивирussy). Распределение генома одного вируса по разным вирионам позволяет увеличить объем генетической информации без увеличения массы молекулы РНК и вириона в целом. У реовирussy геном состоит из 10 фрагментов, все фрагменты обнаруживаются в составе одного вириона.

У некоторых представителей РНК-вирусов одна и та же вирионная молекула РНК может выполнять функции матрицы для собственной репликации и функции мРНК, ее обозначают как (+) цепь РНК. Молекулы РНК, которые служат матрицей для собственной репликации и не могут транслироваться, обозначают как (-) цепь.

**Вирусные белки.** Белки, входящие в состав вирионов, называют структурными. Количество структурных белков – от 1-2 до 10-30 видов. Белок всех исследованных до настоящего времени вирусов построен из L-аминокислот (слайд 9.24).

У вирусов со сложной организацией вириона обнаружены основные (гистоноподобные), так называемые «внутренние» белки, которые связаны с нуклеиновой кислотой.

Белки выполняют защитную функцию, придают стабильность молекулам нуклеиновой кислоты, облегчают их проникновение в клетку.

Особенности белковых оболочек вирусов:

1. Устойчивость к протеолитическим ферментам. Маскировка концевых аминокислот и другие особенности третичной и четвертичной структур белков придают им высокую устойчивость к действию протеаз.

2. Устойчивость к действию ряда физических и химических факторов. Например, вирус полиомиелита выдерживает изменения рН от 1,6 до 10,0, обработку 0,5 %-м раствором фенола, 50 %-м сернокислым аммонием, а также эфиром, ацетоном, уксуснокислым свинцом. В то же время многие вирусы довольно чувствительны к изменению рН и действию ядовитых веществ. Каких-либо общих закономерностей в этом отношении не отмечено.

**Ферменты вирусов.** Большинство вирусов на стадии вирионов лишено какой ферментативной активности. В составе вирионов миксовирусов содержится нейраминидаза – фермент, вызывающий гидролитическое отщепление нейраминовой кислоты, которая входит в состав оболочек эритроцитов (слайд 9.25).

В составе некоторых вирусов обнаружены ферменты, участвующие в репликации вирусных нуклеиновых кислот: ДНК-зависимая РНК-полимераза, осуществляющая транскрипцию ранних РНК с ДНК (вирус оспоквакцины), РНК-зависимая РНК-полимераза (транскриптаза) и РНК-зависимая ДНК-полимераза (обратная транскриптаза), которые транскрибируют РНК и ДНК с матрицы РНК (онкогенные вирусы).

У бактериофагов обнаружены 2 вируспецифичных фермента: лизоцим и аденозинтрифосфатаза.

**Углеводы.** Единственная группа вирусов, в которой наличие углеводов точно доказано, - вирусы животных. В составе вируса гриппа и классической чумы птиц находятся до 17 % углеводов, олигосахаридов, образованных галактозой, маннозой и другими моносахарами; эти углеводные компоненты находятся в связанном состоянии в составе гликолипидов и гликопротеидов (слайд 9.26).

**Липиды.** Двойной слой липидов образует основную массу наружной оболочки у тех вирусов, у которых она имеется. Чаще всего липиды вирионов близки по составу к липидам клетки хозяина. В вирусах животных липиды могут составлять значительную часть: вирион энцефаломиелита лошадей содержит 54% липидов, вирус гриппа – 18-37%. Небольшое количество липидов обнаружено у бактериофагов и некоторых крупных вирусов растений.

**Полиамины.** Возможно, что их единственная физиологическая функция состоит в нейтрализации отрицательного заряда нуклеиновой кислоты.

### 9.3. Этапы взаимодействия вируса и клетки

Процесс вирусной инфекции состоит из нескольких этапов: адсорбция, проникновение вируса в клетку, репродукция вируса, сборка, выведение вируса из клетки (слайд 9.27).

Взаимодействия у фитопатогенных, зоопатогенных вирусов и фагов проходят по-разному.

### 9.3.1. Вирусы животных

«Воротами инфекции» зоопатогенных вирусов могут быть носоглотка, пищеварительный тракт, кожные покровы. Попав в организм человека или животного, вирусы оказываются на поверхности клеток, где происходит их адсорбция.

**Процесс адсорбции** состоит из двух этапов: неспецифической (обратимой) и специфической (слайд 9.28).

**Проникновение** происходит путем впячивания цитоплазматической мембраны клетки в месте адсорбции вируса (виropексис). Затем наблюдается разрушение белковой оболочки под действием протеаз – эклипс.

**Репродукция вируса** осуществляется с помощью биосинтетического аппарата клетки. Время репродукции у вирусов животных – несколько часов (слайд 9.29).

Первый этап: синтез группы ранних белков (репрессоры клеточного метаболизма, вирус-специфичные полимеразы).

Второй этап: синтез вирус-специфичных белков и нуклеиновых кислот.

Третий этап: синтез группы поздних белков (структурные вирусные белки) в рибосомах клетки.

Затем происходит формирование зрелых вирусных частиц, количество которых в одной клетке может достигать нескольких тысяч.

Если вирус содержит двунитевую ДНК, то синтез мРНК происходит обычным путем, как в нормальной клетке. Синтез вирусной ДНК происходит в ядре клетки, но иногда в цитоплазме (слайд 9.30).

Если вирус имеет одонитевую ДНК, то она сначала превращается в двунитевую ДНК, которая служит матрицей для синтеза мРНК.

Если вирус содержит двунитевую РНК и транскриптазу, вирусная РНК ведет себя аналогично ДНК. Она служит матрицей, как для синтеза мРНК, так и для саморепликации. Оказалось, что у всех до сих пор обнаруженных вирусов этого класса геном сегментирован, т.е. состоит из множества хромосом, каждая из которых кодирует один полипептид.

Если вирус содержит одонитевую (+) цепь РНК, она присоединяется к рибосоме и начинается синтез белка, т. е. вирусная РНК может непосредственно транслироваться (играет роль м-РНК). При этом образуются молекулы вирус-специфичного фермента полимеразы, способной катализировать транскрипцию с вирионной РНК, которую обозначают как (+) цепь, на комплементарную ей (-) цепь РНК. Далее освобождающиеся молекулы (-)РНК служат матрицами для синтеза вирионной РНК, т.е. (+)РНК.

Если вирус содержит одонитевую (-) цепь РНК, она является матрицей для синтеза м-РНК.

Процесс репродукции ретровирусов усложняется тем, что на матрице РНК при участии РНК-зависимой ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы) синтезируется вирус-специфическая ДНК, сначала однонитевая, а затем двунитевая. Последняя служит матрицей для синтеза молекул вирусной РНК, которые вначале выполняют функцию мРНК, а затем, с увеличением числа молекул, соединяются с белком и образуют вирионы.

Синтез вирусных РНК происходит в цитоплазме, но есть вирусы, РНК которых синтезируется в ядре (миксовирусы).

**Принцип самосборки** лежит в основе формирования всех вирусов. Самосборка – это способность белковых молекул к самопроизвольной и упорядоченной агрегации, которая может привести к образованию биологической структуры. Этот физико-химический процесс, необратимый, напоминает кристаллизацию. Однако формирование сферических и сложных вирусов происходит при участии ряда ферментных систем как вирусного, так и клеточного происхождения (слайд 9.31).

**Выход вирусов из клетки.** Вирусы животных покидают клетку путем выталкивания участков цитоплазмы, либо путем выхода отдельных вирионов или небольших их групп (слайд 9.32).

### 9.3.2. Вирусы растений

**Адсорбции** нет (слайд 9.33).

**Проникновение** осуществляется только через поврежденные оболочки клеток. Возможен контактный способ передачи инфекции; от материнского растения к дочернему; через животных, питающиеся на этих растениях.

**Репродукция.** Зависит от типа нуклеиновой кислоты. Как правило, вирусы растений содержат РНК.

**Самосборка.** Вирионы ВТМ могут реконструироваться *in vitro* из РНК и белковых субъединиц.

**Выход.** Зараженные клетки продолжают продуцировать вирус, не подвергаясь лизису и оставаясь жизнеспособными. Благодаря этому в клетках растений концентрация вируса может достигать огромных значений. Вирусы растений переходят из клетки в клетку через межклеточные соединения (по плазмодесмам). Освободившись, вирионы могут заражать новые клетки хозяина, вследствие чего наблюдается быстрое распространение вирусной инфекции.

Ответные реакции зараженных клеток на инфекцию: некротические поражения, бессимптомные инфекции, интенсивное деление и даже опухолевая трансформация (слайд 9.34).

### 9.3.3. Вирусы бактерий

**Адсорбция.** Бактериофаги с отростками адсорбируются на рецепторных участках клеточной стенки с помощью нитей, отходящих от базальной пластинки. Нередко бактериофаги адсорбируются на ворсинках или на жгутиках. На одной бактериальной клетке может адсорбироваться до 300 фаговых частиц (слайд 9.35).

**Проникновение.** Может быть активным – путем инъекции, пассивным – путем трансфекции (слайд 9.36).

Суперинфекция – если бактерию, уже зараженную Т-четным фагом, спустя несколько минут вновь инфицируют этим же фагом, то второй контингент фага не участвует в размножении (так называемое исключение при суперинфекции) и не передает своей ДНК потомству.

**Репродукция.** Время репродукции у фагов – 10-40 мин (слайд 9.37).

**Самосборка.** У сложных бактериофагов сборка трех главных частей вириона – головки, отростка и хвостовых фибрилл – происходит независимо друг от друга, и лишь на конечном этапе эти части объединяются в единую структуру.

**Выход из клетки** осуществляется более или менее одновременно вследствие полного ее разрушения (лизиса), вызываемого вирусными ферментами: «взрывной» тип (слайд 9.38).

Вирус, проникший в клетку, вызывает в ней значительные изменения. Цитопатогенное действие может проявляться в угнетении синтеза клеточных ДНК, РНК, белка и, как следствие, в нарушении основных метаболических процессов клетки.

### 9.4. Типы взаимодействия вируса и клетки

**Абортивная инфекция** – вирус выбрасывается из клетки (слайд 9.39).

**Продуктивная инфекция.**

1). Зараженная клетка может погибнуть, образовав при этом большое количество вируса – литический тип взаимодействия вирусов с клетками (слайд 9.40).

2). Клетка продолжает жить и делиться, синтезируя небольшие количества вируса – персистентная инфекция (слайд 9.41, 9.42).

Во многих случаях вирусы весьма долго взаимодействуют с организмом животного или человека. Различают следующие формы таких инфекций:

– латентные инфекции, хронические инфекции и медленные инфекции.

**Интегративная инфекция.** ДНК вируса после проникновения в клетку соединяется с геномом хозяина и реплицируется вместе с ним – лизогенный тип взаимодействия (слайд 9.43).



Умеренные фаги – способны лизогенизировать заражаемые ими бактерии, вирулентные фаги – у которых такая способность отсутствует (слайд 9.44).

Лизогенные бактерии обладают потенциальной способностью продуцировать фаги, но эту способность нельзя обнаружить ни морфологическим, ни серологическим исследованием. Фаг в таком неинфекционном состоянии, передающийся только дочерним клеткам при делении, называют профагом.

Лизогенные бактерии иммунны к заражению теми фагами, которые присутствуют в них в виде профага.

Лизогенность – устойчивый признак бактериального штамма. Это явление очень широко распространено среди бактерий (слайд 9.45).

При лизогенизации нуклеиновая кислота бактериофага может придавать клетке новые свойства – явление лизогенной конверсии. Например, подвижность, образование токсинов, антибиотиков (слайд 9.46).

Изредка, с вероятностью порядка  $10^{-4}$  профаг может превращаться в вегетативную форму бактериофага. Выделение бактериофага из хромосомы можно вызвать различными воздействиями: нагреванием, перекисью водорода, УФ-лучами, рентгеновскими лучами в малых дозах и другими мутагенными агентами.

**Система интерферона.** Защитные реакции клетки в ответ на проникновение вируса в основном аналогичны ее иммунным реакциям на бактериальную инфекцию (слайд 9.47).

Наиболее специфическая реакция на вирусную инфекцию – выработка антител. Одним из неспецифических защитных факторов может быть система интерферона. Интерферон – индуцибельный белок, обладает антивирусной, антиклеточной и противоопухолевой активностью. Индукторами синтеза интерферона являются вирусы, бактерии, бактериальные токсины, а также ряд физических и химических факторов (слайд 9.48).

Эффективность воздействия интерферона зависит от его концентрации, времени введения и множественности заражения. Наиболее эффективен интерферон на ранних этапах инфекции.

Интерферон блокирует репродукцию РНК- и ДНК-вирусов. Он ингибирует в зараженных клетках синтез вирусных РНК, ферментов, структурных вирусных белков.

**Интерференция вирусов.** Некоторые вирусные инфекции исключают возможность последующего размножения в тех же клетках других неродственных, а в некоторых случаях и родственных вирусов – явление интерференции. В отличие от действия интерферона оно связано не с реакцией генома клетки на вирусную инфекцию, а с тем, что первый вирус образует в клетке специфические продукты, препятствующие размножению в той же клетке другого вируса.

## 9.5. Общие методы изучения вирусов

О присутствии вируса в организме хозяина судят по появлению тех или иных патологических симптомов.

Готовится суспензия из материала, в котором подозревается наличие вируса, например лизат бактерий, кусочек ткани или биологическая жидкость. Очищенную суспензию вводят подходящему хозяину и анализируют его реакцию, либо добавляют к суспензии чувствительных клеток и высевают на питательную среду (метод «бляшек» или негативных колоний) (слайд 9.49).

Для статистической характеристики используется понятие «инфекционная единица» - это наименьшее количество вируса, способное в данном опыте вызвать инфекцию.  $LD_{50}$  – 50%-ая летальная доза или число бляшек в культуре клеток.

Титр вирусной суспензии, выраженный числом инфекционных единиц, содержащихся в единице объема, как правило, соответствует числу вирионов (или числу молекул вирусной нуклеиновой кислоты), способных при условиях данного опыта вызвать инфекцию.

**Серологические методы.** Серология – это раздел иммунологии, изучающий реакции антигена (вируса) со специфическими защитными веществами, антителами, которые находятся в сыворотке крови (слайд 9.50).

Антитела нейтрализуют действие вируса. Они связываются с определенными антигенными веществами, находящимися на поверхности вирусных частиц и вирус теряет патогенные свойства.

Для установления уровня (количества) антител в сыворотке или определения типа данного вируса проводится реакция нейтрализации вируса. Ее можно проводить как на животных, так и на культуре клеток.

Минимальную концентрацию сыворотки, содержащей антитела, достаточную для того, чтобы нейтрализовать вирус, не дать ему проявить цитопатическое действие, называют титром сыворотки, нейтрализующей вирус. Эта концентрация может быть выявлена и с помощью метода бляшек.

**Иммуноблотт** – применяется в диагностике ВИЧ. Определяются специфические белки: поверхностные (gp120, gp41) и кор.

**Метод ПЦР.**

## ЛЕКЦИЯ № 10. КЛАССИФИКАЦИЯ ВИРУСОВ

- 10.1. Характеристика классов ДНК- и РНК-вирусов
  - 10.1.1. Вирусы, содержащие двухцепочечную ДНК (класс I)
  - 10.1.2. Вирусы, содержащие одноцепочечную ДНК (класс II)
  - 10.1.3. Вирусы, содержащие двухцепочечную РНК (класс III)
  - 10.1.4. Вирусы, содержащие плюс-РНК цепь (класс IV)
  - 10.1.5. Вирусы, содержащие «минус»- цепь РНК (класс V)
  - 10.1.6. Ретровирусы (класс VI)
- 10.2. Вироиды
- 10.3. Прионовые инфекции (слайд 10.3)

### 10.1. Характеристика классов ДНК- и РНК-вирусов

Вирусы подразделяются на 6 классов по строению нуклеиновой кислоты:

Класс I – вирусы, содержащие двух цепочечную ДНК.

Класс II – вирусы, содержащие одно цепочечную ДНК.

Класс III – вирусы, содержащие двух цепочечную РНК.

Класс IV – вирусы, содержащие «плюс»-цепи РНК.

Класс V – вирусы, содержащие «минус»-цепи РНК.

Класс VI – вирусы, содержащие обратную транскриптазу (ретровирусы) (слайд 10.4).

#### 10.1.1. Вирусы, содержащие двухцепочечную ДНК (класс I)

**Герпесвирусы.** Семейство *Herpesviridae*.

Двухнитевая ДНК, икосаэдральный нуклеокапсид, волокнистая оболочка. Значительная часть герпесвирусов способны вызывать острые и латентные инфекции, а также обладает онкогенным потенциалом (слайд 10.5).

*Herpes labialis*. Вызывает первичный герпетический гингивостоматит.

Вирус Эпштейна-Барр вызывает инфекционный мононуклеоз – острое инфекционное заболевание, поражающее лимфоидную ткань всего организма. Этот вирус постоянно выделяют из клеток двух видов опухолей человека – лимфомы Беркитта и карциномы носоглотки (слайд 10.6).

Генитальный герпес. Ветряная оспа, опоясывающий лишай.

**Паповавирусы.** Семейство *Papovaviridae*.

Икосаэдральный капсид, без оболочки, ДНК циклическая, замкнутая, двухнитевая. Средний размер около 45 нм (слайд 10.7).

Свое наименование паповавирусы группа получила от названий трех вирусов: вируса папилломы, вируса полиомы и вакуолизирующего обезьяньего вируса, тип 40 (SV40). Вызывают папилломы и полиомы у млекопитающих и человека. SV40 иногда заражает клетки человека.



Папилломавирусы (род *Papillomavirus*) вызывают поражения кожных покровов и слизистых оболочек. Возбудитель передается при контакте через микротравмы на коже. Вирус бородавок человека, как и вирусы папиллом животных, вызывает лишь доброкачественную пролиферацию эпидермиса.

Полиомавирусы (род *Polyomavirus*) включают группу вирусов, патогенных для животных и человека. Инфицируют почки и головной мозг (слайд 10.8).

SV40 – обезьяний вирус – вызывает нефриты.

**Аденовирусы.** Семейство *Adenoviridae*.

Впервые выделены Роу в 1953 г. из тканей миндалин и аденоидов у детей. Икосаэдральный голый капсид, ДНК линейная, двухнитевая. Средний размер вириона 60-90 нм (слайд 10.9).

Наиболее часто вызывают ОРВИ, протекающие по типу гриппоподобных поражений; конъюнктивиты, гастроэнтериты. Аденовирусные инфекции человека достаточно широко распространены. Основные пути передачи – воздушно-капельный и контактный.

**Поксвирусы.** Семейство *Poxviridae*.

Объединяет крупные и сложные вирусы, разделяемые на подсемейства: *Chordopoxvirus* (вирусы оспы позвоночных) и *Entomopoxvirus* (вирусы оспы насекомых).

Геном – двухнитевая ДНК. Оболочки нет. Частицы вирусов натуральной оспы (*variola*) и коровьей оспы (*vaccinia*) имеют вид округленных блоков 250-390 × 200-260 нм. Они состоят из внутреннего тельца, содержащего ДНК, двойного слоя, содержащего белок, эллиптических белковых телец и наружной мембраны. Частицу обвивают плотно прилегающие к ней нити (слайд 10.10).

Эти вирусные частицы очень устойчивы к высыханию и поэтому чрезвычайно инфекционны.

Все стадии размножения поксвирусов происходят только в цитоплазме. Молекулярный вес ДНК таких вирусов больше, чем у любого другого вируса животных, и репродукция данного вируса связана с инициацией активности самых разнообразных ферментов.

Наиболее важным для человека является вирус натуральной оспы, который вызывает одно из древнейших инфекционных заболеваний. Все поксвирусы имеют общий антиген, поэтому людей вакцинируют вирусом, полученным от коров, который у людей вызывает весьма слабые симптомы болезни (слайд 10.11).

**Гепаднавирусы.** Семейство *Hepadnaviridae*.

В семейство включены икосаэдральные вирусы с оболочкой, ДНК – неполная (с разрывом одной цепи) двухнитевая, кольцевая.

Типовой род *Hepadnavirus*, включает возбудителя гепатита В человека. Орган-мишень инфекции – печень, доминирующий симптом – желтуха. Олезнь может протекать в осложненной и хронической форме. Вызывает осложнения – цирроз печени (слайд 10.12).

Вирус гепатита *B* – основная причина одной из самых распространенных форм рака – первичного рака печени. Особенность вируса гепатита *B* состоит в том, что сам по себе он не убивает клетки печени. Заболевание является следствием иммунной атаки организма на собственные клетки печени (слайд 10.13).

Пути передачи – парентеральный (через кровь), половой и вертикальный (от матери к плоду), а также бытовые контакты с больным или хроническим носителем инфекции. Для детей гепатит *B* представляет особую опасность, так как будучи перенесенным в раннем возрасте, он в 50-95% случаев переходит в хроническую форму.

### 10.1.2. Вирусы, содержащие одноцепочечную ДНК (класс II)

**Парвовирусы.** Семейство *Parvoviridae*.

Мелкие вирусы, без оболочки. Икосаэдральный капсид, ДНК однонитевая. Диаметр около 20 нм. Геном представлен одноцепочечной ДНК с молекулярным весом всего  $1,5 \times 10^6$  дальтон. Размножение, по-видимому, полностью зависит от соответствующих систем клетки-хозяина (слайд 10.14).

Существует два основных класса парвовирусов – автономные и дефектные. Все до сих пор известные автономные парвовирусы – это вирусы грызунов; для транскрипции, репликации и других функций эти вирусы используют соответствующие ферменты клетки-хозяина. Дефектные парвовирусы – «аденоассоциированные» – размножаются лишь в клетках, которые заражены одновременно аденовирусом вирусами (слайд 10.15).

Парвовирусы вызывают аномалии развития у эмбрионов и дефекты растущих тканей у новорожденных. Они вызывают также нарушения функции кишечника. К парвовирусам относится возбудитель инфекционной эритемы (слайд 10.16).

### 10.1.3. Вирусы, содержащие двухцепочечную РНК (класс III)

Вирусы данного класса были обнаружены у плесеней, высший растений, насекомых и позвоночных животных. Ни один из этих вирусов не содержит липидов. Их капсиды состоят из двух слоев – внутреннего (сердцевины) и наружного, образующего оболочку вокруг сердцевины. В сердцевине находится множество сегментов двухцепочечной РНК.

**Реовирусы.** Семейство *Reoviridae*.

Семейство объединяет голые вирусы 78-80 нм в диаметре; капсид икосаэдрический. Геном фрагментарный, образован двухнитевой РНК, состоящей из 10-11 отдельных сегментов (слайд 10.17).

Патогенны для позвоночных, насекомых и растений. Вызывают респираторные инфекции, инфекции ЖКТ, клещевую лихорадку.

## 10.1.4. Вирусы, содержащие плюс-РНК цепь (класс IV)

**Пикорнавирусы.** Семейство *Picornaviridae*.

Относительно небольшие безоболочечные вирусы с икосаэдральной симметрией. Средний размер частиц 22-30 нм (слайд 10.18).

Включает вирус полиомиелита, энтеровирусы, устойчивые к низким значениям pH (<3). Риновирусы – возбудители ОРВИ или «простудные вирусы». Вирусы ящура, вызывающие тяжелые эпидемии скота (слайд 10.19).

Вирусный гепатит А – инфекционное заболевание, проявляющегося желтухой, которая вызвана вирусным поражением печени (слайд 10.20). Передается фекально-оральным путем, с загрязненной водой и продуктами. Источниками инфекции являются заболевшие люди. Возбудитель был открыт в 1973 г. Отличается высокой устойчивостью к факторам внешней среды и дезинфекционным средствам. После перенесения вирусного гепатита А развивается пожизненный иммунитет. Существует вакцина.

**Тогавирусы.** Семейство *Togaviridae*.

Сферические оболочечные вирусы с икосаэдральным нуклеокапсидом. Средняя величина 45-75 нм (слайд 10.21).

Вызывают арбовирусные инфекции – обязательно наличие членистоногого переносчика (комары, клещи). Для сохранения популяции наибольшее значение имеют позвоночные (птицы, млекопитающие).

Серологически тогавирусы делятся на две группы (А и В), которые в настоящее время называются альфавирусами и флавивирусами соответственно.

Альфавирусы – вирусы энцефалита лошадей.

**Флавивирусы.** Семейство *Flaviviridae*.

Включает роды *Rubivirus* – вирус краснухи, *Hepacivirus* – вирусы гепатита С, G и флавивирусов. В последний входит 63 вируса, разделяемых на 4 антигенные группы: клещевого энцефалита (переносчик – клещи рода *Ixodes*), японского энцефалита, желтой лихорадки и др (слайд 10.22).

40 % гепатитов, возникающих при переливании донорской крови, обусловлены вирусом гепатита С. У 5-20 % носителей в течение 5-7 лет развивается цирроз печени, переходящий в рак печени. Вирус отличается высокой скоростью мутации. Быстро меняющееся “антигенное лицо” антитела не узнают и не могут уничтожить вирус. Часто приводит к хроническому носительству. Вакцины не существует.

**Коронавирусы.** Семейство *Coronaviridae*.

Объединяет оболочечные вирусы, круглой или овальной формы, диаметром 50-220 нм. Нуклеокапсид спиральный; геном образует (+)РНК. Для человека патогенны кишечные и респираторные коронавирусы (слайд 10.23).

Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), более известен как атипичная пневмония или SARS. Первый случай этого заболевания был

зафиксирован в ноябре 2002 г. в китайской провинции Гуандун. Уровень смертности от ТОРС – около 10 %.

**Калицивирусы.** Семейство *Caliciviridae*.

Семейство объединяет вирусы с голым икосаэдральным капсидом.

В состав семейства входят вирусы насекомых, рыб, земноводных, птиц и млекопитающих. К семейству калицивирусов некоторое время относили и вирус гепатита *E*, однако сейчас данное таксономическое положение этого вируса оспаривается.

Калицивирусная инфекция кошек, или калицивироз – очень заразная вирусная остропротекающая болезнь кошек с преимущественным поражением респираторных органов и ротовой полости (слайд 10.24).

### 10.1.5. Вирусы, содержащие «минус»- цепь РНК (класс V)

**Ортомиксовирусы.** Семейство *Orthomyxoviridae*.

Оболочечные вирусы, средний размер вирионов – 80-120 нм. Тип симметрии – спиральный. Геном сегментированный, состоящий из ряда отдельных минус-цепей РНК (слайд 10.25).

Род *Influenzavirus* включает два вида – вирусы гриппа *A* и *B*. Оба считаются высококонтагиозными возбудителями ОРВИ, часто приобретающими характер эпидемий. Наибольшую опасность представляют вирусы гриппа *A*.

**Парамиксовирусы.** Семейство *Paramyxoviridae*.

Оболочечные вирусы со спиральной симметрией. Геном – линейная однонитевая РНК цепь. Средний размер вириона 100-800 нм.

Включает возбудителей эпидемического паротита (свинка), парагриппа, вирусы кори (слайд 10.26).

**Рабдовирусы.** Семейство *Rhabdoviridae*.

Форма капсида пулевидная, имеется оболочка, спиральный тип симметрии. Средние размеры вириона 180×75 нм (слайд 10.27).

Включает более 60 вирусов, инфицирующих млекопитающих, рыб, насекомых и растения. Для человека наибольшую опасность представляет вирус бешенства – острая инфекция ЦНС, сопровождающаяся дегенерацией нейронов головного и спинного мозга; летальность 100 %.

Вирус везикулярного стоматита (ВВС) патогенен для крупного рогатого скота. Возбудители ВВС размножаются в организме комаров, которые и являются переносчиками.

**Буньявирусы.** Семейство *Bunyaviridae*.

Считается крупнейшим по количеству входящих в него вирусов (около 250). Большинство членов семейства – арбовирусы, а также природно-очаговые. Симметрия спиральная. Все сферические, оболочечные с тремя нуклеокапсидами, каждый из которых содержит три отдельных сегмента РНК. В состав большинства входит РНК-зависимая РНК-полимераза (слайд 10.28).

Круг позвоночных хозяев: грызуны, птицы, жвачные. Переносчики возбудителей – комары *Culicinae*, иксодовые клещи, москиты. Патогенные для человека виды вызывают лихорадки (в т. ч. геморрагические) и энцефалиты (калифорнийский энцефалит).

**Аренавирусы.** Семейство *Arenaviridae*.

В состав семейства включены округлые или полиморфные оболочечные вирусы. Спиральный тип симметрии (слайд 10.29).

Основной хозяин – грызуны, человек – тупиковый хозяин инфекционного цикла. Типовой вид – вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ). Патогенные для человека виды вызывают тяжелые геморрагические лихорадки с высокой летальностью и гриппоподобные поражения.

К семейству относится вирус гепатита дельта. Гепатит *D* встречается только в комбинации с инфекцией вирусом гепатита *B*, поскольку одним из компонентов вируса является белок вируса гепатита *B*. Часто приводит к смертельному исходу. Вакцины нет.

**Филовирусы.** Семейство *Filoviridae*.

Включает род *Filovirus*, объединяющий оболочечные палочковидные ветвящиеся вирусы со спиральным нуклеокапсидом. Средний размер: диаметр 80 нм и длина от 790 нм (вирус Марбург) до 970 нм (вирусы Эбола и Рестон) (слайд 10.30).

Для человека патогенны вирусы Марбург и Эбола. Вызывают тяжелые геморрагические лихорадки, сопровождающиеся тяжелой интоксикацией, сыпью, подкожными и внутренними кровоизлияниями, массивными кровотечениями. Смертность при заболевании вирусом Марбург достигает 25-30% от числа заболевших, а при заболевании вирусом Эбола - до 80-90%.

### 10.1.6. Ретровирусы (класс VI)

**Ретровирусы.** Семейство *Retroviridae*.

Вирусы покрыты оболочкой. Геном образован однонитевой (+)РНК, образующей комплекс из двух идентичных субъединиц. Тип симметрии спиральный или икосаэдральный (слайд 10.31).

В вирионе ретровирусов содержится РНК, однако внутри клетки они существуют в виде ДНК, интегрированной с геномом клетки-хозяина. Размножаясь путем почкования, подобно многим другим РНК- вирусам, поддерживают продуктивную инфекцию, не вызывая гибели клетки-хозяина.

Характерная особенность семейства – наличие обратной транскриптазы (РНК-зависимая ДНК-полимераза).

Обнаружено много самых разнообразных ретровирусов, однако патогенностью для человека обладает ограниченная группа.

Подсемейства *Oncovirinae* – содержит группу онковирусов. Некоторые из них способны вызывать злокачественные опухоли. Лучше других изучены вирус саркомы Рауса и вирусы, вызывающие лейкозы у кур и мышей (слайд 10.32).



*Sputavirinae* – «пенящие» вирусы, синцитиальные вирусы.

*Lentivirinae* – «медленные» ретровирусы, вирусы иммунодефицита человека.

### **Вирус иммунодефицита человека**

СПИД – завершающая стадия хронической инфекции, вызываемой вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). В нашей стране регистрируют ВИЧ-инфекцию вне зависимости от стадии. Всемирная организация здравоохранения лишь ВИЧ-инфекцию в стадии СПИД (слайд 10.33).

В настоящее время выделено 2 типа вируса иммунодефицита человека (ВИЧ):

ВИЧ-1 – это основной возбудитель ВИЧ-инфекции; основные места распространения – Северная и Южная Америка, Европа и Азия.

ВИЧ-2 – это менее вирулентный аналог ВИЧ-1, редко вызывает типичные проявления синдрома приобретенного иммунодефицита и не так широко распространен. Место распространения – преимущественно Западная Африка.

Кроме того, был обнаружен вирус иммунодефицита обезьян (ВИО).

Впервые СПИД был официально зарегистрирован Центром по контролю заболеваний США 5 июня 1981 года. Ретроспективный анализ сывороток, хранящихся в Национальном Центре контроля инфекционных заболеваний, показал, что первые случаи синдрома приобретенного иммунодефицита у человека относятся к 50-м годам нашего столетия, и что заболевание возникло в Африке, а затем распространилось на территории Европы и США.

По данным Всемирной организации здравоохранения на конец 2000 года со времени открытия вируса иммунодефицита человека от СПИДа умерло почти 22 млн. человек, число инфицированных превысило 36 млн. Сейчас можно говорить о пандемии ВИЧ-инфекции.

Строение ВИЧ сложнее, чем у большинства других РНК-содержащих вирусов. Зрелые вирионы достигают в диаметре 100-140 нм. Вирусная частица, обычно сферической формы, одета оболочкой из фосфолипидов, которые она заимствует от клетки-хозяина. В этот фосфолипидный слой наружной оболочки встроены особые белки – гликопротеины: gp 120 КДа и gp 41 КДа.

ВИЧ может поражать Т-лимфоциты-хелперы, макрофаги и особые поддерживающие клетки мозга (нейроглию). Мишенью для вируса становятся клетки, на фосфолипидной мембране которых имеется особый белок – рецептор CD4. Белок gp 120 узнает в оболочке вируса этот рецептор и связывается с ним. В результате такого взаимодействия клетка, имеющая рецептор CD4, начинает втягивать в себя вирус (слайд 10.34).

Наличие в зараженной клетке генов вируса может долгое время никак не сказываться на ее жизнедеятельности. Инкубационный период значительно варьирует; в среднем он продолжается около 10 лет. Однако в дальнейшем значительная часть таких клеток разрушается.

Больной, зараженный ВИЧ, становится беззащитным перед возбудителями различных инфекции. Одним из наиболее ранних признаков заболевания является поражение органов иммунной системы, в частности, лимфатических узлов. Они увеличиваются в размерах, меняется их строение.

При ВИЧ-инфекции отмечается не только уменьшение количества Т-лимфоцитов, но и нарушается их функция. Одновременно происходит поликлональная активация В-лимфоцитов. В крови повышается общее содержание иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов, а также появляются антитела к лимфоцитам. Возникают серьезные аутоиммунные процессы (слайд 10.35).

ВИЧ не стоек во внешней среде. Он инактивируется при нагревании в течение 30 мин. при температуре 54 °С, при кипячении в течение 1-5 мин., а также при резком изменении рН среды. ВИЧ быстро погибает под воздействием дезинфектантов, относительно устойчив к ультрафиолетовым лучам и ионизирующей радиации.

Для ВИЧ характерна выраженная мутационная изменчивость. Она объясняется ошибками переписывания РНК в ДНК с помощью вирусной обратной транскриптазы. Система коррекции таких «генетических» ошибок у вируса отсутствует.

Источником инфекции является больной человек или бессимптомный вирусоноситель. Передача заболевания происходит половым путем, трансплацентарно (вертикально) от матери к плоду, а также парентерально.

Установлено, что ВИЧ не распространяется при механических контактах или воздушно-капельным способом. Возможная роль насекомых как переносчиков вируса не подтвердилась.

Лечение. Появление признаков истощения иммунной системы свидетельствует о приближении летального исхода, который может наступить через несколько месяцев или лет. Однако в последнее время разработаны лекарственные средства, позволяющие повысить продолжительность и качество жизни больных СПИДом (слайд 10.36).

В настоящее время излечивающей терапии не существует, однако противовирусные препараты угнетают или замедляют патологические процессы.

1. Ингибиторы обратной транскриптазы – наиболее известны зидовудин (азидотимидин, или AZT, ретровир) и другие соединения. Ингибиторы ВИЧ-протеазы.

2. Иммуновосстановительная терапия предусматривает пересадку костного мозга, переливание лимфоцитарной массы, подсадку тимусина. Иммунорегуляторные препараты (тимозин, тималин, Т-активин, интерлейкин-2), препараты интерферона (альфа-интерферон и его рекомбинантный аналог – реаферон).

3. Лечение вторичных инфекции, сопровождающих СПИД. Применение антибиотиков (бисептол, клиндамицин, рибавирин, ацикловир и др.).

4. Большое значение в комплексном лечении больных СПИДом имеет психотерапия, различные ее методы, включая гипноз. Это важно в связи с дискриминацией в некоторых странах больных СПИДом. В связи с этим нужно помнить слова бывшего генерального секретаря ООН Переса де Куэльяра: "Крайне важно, чтобы все признали: борьбу мы ведем против СПИДа, а не против людей. Тех, кто страдает, не следует обрекать на еще большие страдания". Замечательные слова академика В. И. Покровского: "Какую цель преследуют люди, которые воинственно настроены против этих больных? Они хотят за счет ущемления свободы другого человека обеспечить себе безопасность безнравственного поведения" (слайд 10.37).

Профилактика. В настоящее время усилия по борьбе с пандемией СПИДа направлены на распространение знаний об особенностях передачи ВИЧ и способах предохранения от инфицирования.

Интенсивная антинаркотическая пропаганда и бесплатное предоставление стерильных шприцев. Использование одноразового инструментария и обращение с тканевыми жидкостями и выделениями организма как с заведомо инфицированными ВИЧ.

Введение в развитых странах с 1985 массового обследования донорской крови с целью выявления маркеров ВИЧ и других инфекций практически исключило риск заражения при переливании крови.

Исследования по разработке вакцины против ВИЧ-инфекции значительно расширены в последние годы, однако все усилия создать эффективную универсальную вакцину пока не принесли успеха. Недостаточная изученность биологии вируса и его выраженная способность мутировать затрудняют разработку эффективных вакцин и лекарственных препаратов. Всемирное распространение эпидемии СПИДа стимулирует исследования по разработке новых средств борьбы с ним.

## 10.2. Вироиды

Возбудителями некоторых опухолей растений являются маленькие «голые», т.е. лишенные белковой оболочки, свободные молекулы РНК – вироиды. Это замкнутые в кольцо одноцепочечные молекулы с длиной цепи примерно в 360 нуклеотидов (мол. масса  $12 \times 10^4$  Да) (слайд 10.38).

Таким образом, они в десять раз меньше инфекционных РНК самых мелких из известных до сих пор вирусов, и, следовательно, это самые мелкие возбудители болезней. Вироиды вызывают болезни картофеля, citrusовых, огурцов, хризантем, хмеля, кокосовых пальм и других растений (слайд 10.39).

## 10.3. Прионовые инфекции

Были открыты в 1982 году американским биологом, профессором Стенли Прюзинером. В 1997 ему была присуждена Нобелевская премия за

открытие принципиально нового типа инфекций – прионов. По степени сложности своего строения прионы относятся к наиболее простым из известных на сегодняшний день инфекционных агентов (слайд 10.40).

Прионы не содержат нуклеиновых кислот и состоят только из измененных белковых молекул хозяина.

Патогенные прион-протеины, способные к трансмиссии, являются мутантами клеточной изоформы нормального прион-протеина. К настоящему времени установлено 18 различных мутаций человеческого гена PrP, которые связаны с различными прионовыми болезнями (слайд 10.41).

Протеин-прион (PrP) представляет собой сиалогликопротеид с молекулярной массой 33-35 кДа, кодируемый единственным геном, расположенным у человека в 20 хромосоме. Прион PrP найден у всех млекопитающих.

Протеин-прион (PrP) существует в двух формах:

– в виде нормальной, неинфекционной формы, которая встречается в головном мозге как в норме, так и у инфицированных больных (клеточный протеин-прион, или PrP<sup>c</sup>);

– изоформа, или PrP-Sc (от «scrapie» - болезнь овец), является патологической, инфекционной формой и накапливается в головном мозге только у больных людей и животных.

Прионы очень устойчивы к различным физико-химическим воздействиям. Наиболее эффективные воздействия оказываются в дозах, которые денатурируют практически все белки.

PrP-с входит в состав наружных клеточных мембран. Предполагается, что прионы принимают участие в межклеточном узнавании и клеточной активации. Некоторые считают, что их функцией является подавление возрастных процессов и поэтому прионовые болезни сходны по своим клиническим и морфологическим характеристикам с геронтологическими заболеваниями.

В настоящее время у человека известны две группы заболеваний, вызываемых прионами: спонгиозные трансмиссивные энцефалопатии и спонгиозный миозит с прион-ассоциированными включениями.

Для прионных болезней характерно образование в нервной ткани вакуолей (окруженных мембраной пузырьков) и амилоидных бляшек (скоплений аномального прионного белка); в итоге постепенно формируется своеобразное губчатое строение ткани мозга («губчатая дегенерация»). Эти изменения постоянно сопровождаются уменьшением числа нейронов различных отделов коры.

Клинические проявления и симптоматика обусловлены вакуолизацией и гибелью нейронов. При развитии клинических проявлений нет ни признаков воспаления, ни биологических аномалий в крови или в энцефало-арахноидальной жидкости, ни тестов, прямых или косвенных, позволяющих уверенно поставить диагноз. Электроэнцефалограмма сомнительна. Клинический диагноз подтверждается только при гистологическом изучении центральной нервной системы.

К настоящему времени установлено прионное происхождение по крайней мере трех неврологических заболеваний человека. Все они относятся к редким: болезнь Крейтцфельда-Якоба; синдром «фатальной семейной бессонницы»; болезнь Куру;

**Болезнь Крейтцфельда-Якоба** характеризуется медленной прогрессирующей гибелью нейронов. Болезнь проявляется обычно у взрослых и характеризуется быстрым развитием деменции. В мозге пораженных наиболее часто наблюдается атрофия коры головного мозга с губкоподобными изменениями (слайд 10.42).

Заражение происходит при употреблении в пищу мяса коров, больных аналогичным заболеванием. Случаи передачи от человека к человеку были описаны при имплантации внутрочерепных электродов, пересадке роговицы и, наиболее часто, при введении гормонов роста, экстрагированных из гипофиза человека.

Средний уровень регистрируемой в мире заболеваемости составляет около 0,5-1,0 на 1 млн. жителей. Средняя продолжительность жизни от начала болезни – шесть месяцев.

**Болезнь Куру** – это неврологическое заболевание, которое встречается исключительно среди жителей племен острова Папуа-Новая Гвинея, среди которых до недавнего времени существовал ритуал каннибализма (слайд 10.43).

С момента первого описания этой болезни Гайдусеком и Зигасом в 1957 году до настоящего времени от болезни Куру погибло более 2 500 человек (почти 10% популяции некоторых деревень). Болезнь фактически исчезла с прекращением ритуального каннибализма.

**Фатальная семейная бессонница** – это наследственно обусловленная, неизлечимая болезнь, описана в 1986 году. Встречается очень редко. Имеет аутосомно-доминантный тип наследования, т.е. поражаются оба пола и отсутствуют носители (слайд 10.44).

К прионным болезням у животных относятся почесуха (скрейпи) у овец и коз, губчатые энцефалопатии у коров («бешенство коров»).

Очень важный аспект, связанный с эпидемиологией прионовых инфекций – это безопасность групп риска, соприкасающихся с зараженным материалом животных или больными людьми. К этой группе относятся ветеринарные и медицинские хирурги, патологоанатомы, ветсанэксперты, работники мясоперерабатывающей промышленности и некоторые другие категории лиц, контактирующие с потенциально возможными источниками инфекционного приона.

# ЛЕКЦИЯ № 11. ПИТАНИЕ И РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ

- 11.1. Способы существования прокариотов
- 11.2. Питание микроорганизмов
  - 11.2.1. Круговорот углерода и кислорода
  - 11.2.2. Круговорот углерода и кислорода
  - 11.2.3. Потребность в макро- и микроэлементах
- 11.3. Способы размножения микроорганизмов
- 11.4. Культивирование микроорганизмов (слайд 11.3)
  - 11.4.1. Рост бактерий в периодической культуре
  - 11.4.2. Рост бактерий в непрерывной культуре

## 11.1. Способы существования прокариотов

Микроорганизмы чрезвычайно разнообразны по своим пищевым потребностям. Они могут существовать за счет усвоения самых различных субстратов. По отношению к источникам углерода их делят на две группы – автотрофы и гетеротрофы (слайд 11.4).

Автотрофы превращают  $\text{CO}_2$  в органические соединения за счет внешних источников энергии. Поэтому разнообразие автотрофных организмов определяется в основном потребляемыми ими источниками энергии. Обычно автотрофы делят на две группы: хемолитоавтотрофы для ассимиляции углерода  $\text{CO}_2$  используют энергию окисления минеральных веществ, фотоавтотрофы для этой цели используют солнечную энергию (слайд 11.5).

Гетеротрофы нуждаются в готовых органических соединениях, которые используются ими и как источник энергии, и как источник углерода.

## 11.2. Питание микроорганизмов

Для роста микроорганизмов необходима вода и растворенные в ней питательные вещества.

**Вода.** Около 80-90 % массы микробных клеток составляет вода. Вода должна находиться в жидкой фазе, так как только в такой форме она доступна микроорганизмам. В отсутствие воды задерживаются или полностью прекращаются метаболические процессы.

**Потребность в химических элементах.** Микробной клетке необходимы макро- и микроэлементы. К первым относятся десять элементов, содержащихся во всех организмах: углерод, кислород, водород, азот, сера, фосфор, калий, кальций, магний и железо (C, O, H, N, S, P, K, Ca, Mg, Fe). Микроэлементы – это марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель,

ванадий, бор, хлор, натрий, селен, кремний, вольфрам и другие. В них нуждаются не все организмы (слайд 11.6).

Большинство элементов вносят в питательную среду в виде солей.

### 11.2.1. Круговорот углерода и кислорода

**Источники углерода.** Среди всех элементов наибольшее значение имеет углерод, содержание которого составляет 50 % сухой массы клетки. Микроорганизмы способны утилизировать практически все известные в природе органические соединения.

Высокой питательной ценностью характеризуются различные сахара, глицерин, маннит, органические кислоты. Плохо усваиваются микроорганизмами более окисленные соединения. Какое бы углеродное соединение ни использовалось микробной клеткой, оно сначала расщепляется до низкомолекулярных веществ, которые затем вовлекаются в биосинтетические процессы. Во время процесса расщепления из химических соединений извлекается энергия, которая в форме АТФ может использоваться микроорганизмами.

Многие виды бактерий обладают способностью при изменении условий внешней среды переключаться с одного типа питания на другой. Их называют миксотрофами (слайд 11.7).

Воздух содержит приблизительно 0,03%  $\text{CO}_2$ , эта концентрация поддерживается относительно постоянной в результате динамического равновесия между фотосинтезом и минерализацией. Постоянство  $\text{CO}_2$  в воздухе поддерживается как физико-химическими, так и биологическими процессами.

**Круговорот углерода.** Циклические превращения углерода и кислорода осуществляются главным образом в результате двух процессов – кислородного фотосинтеза, с одной стороны, и дыхания и горения – с другой (слайд 11.8).

Путем кислородного фотосинтеза окисленная форма углерода ( $\text{CO}_2$ ) переходит в восстановленное состояние, в котором он находится в органических соединениях, а восстановленная форма кислорода ( $\text{H}_2\text{O}$ ) окисляется до молекулярного кислорода ( $\text{O}_2$ ). На суше основными организмами, проявляющими фотосинтетическую активность, являются растения. В океанах одноклеточные фотосинтезирующие организмы играют наиболее важную роль в фотосинтезе. Микроскопические водоросли океана (фитопланктон) способны развиваться в поверхностных слоях воды повсюду, где для них создаются благоприятные условия. Согласно одному из расчетов, общая ежегодная фиксация углерода в океанах достигает приблизительно  $1,2 \times 10^{10}$  т, тогда как фиксация на суше составляет около  $1,6 \times 10^{10}$  т.

Гетеротрофный метаболизм завершает этот цикл путем расщепления органических веществ и образования субстратов для фотосинтеза:  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Водоросли, животные и растения вносят свой вклад в этот процесс за счет дыхательной активности. Однако основную массу органического вещества окисляют бактерии и грибы.

Таким образом, циклические превращения углерода и кислорода тесно связаны между собой посредством кислородного фотосинтеза, с одной стороны, и аэробного дыхания – с другой.

### 11.2.2. Круговорот углерода и кислорода

**Источники азота.** Азот необходим микроорганизмам для синтеза нуклеиновых кислот, белков, полимеров клеточной стенки. В качестве источника азота микроорганизмы используют минеральные и органические соединения и в зависимости от этого делятся на две группы: аминоавтотрофы и аминокетотрофы (слайд 11.9).

Аминоавтотрофные организмы строят азотсодержащие компоненты либо из минеральных веществ, либо из аминных групп, оторванных от органических субстанций.

Наиболее доступными являются ионы аммония  $\text{NH}_4^+$ .  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , которые по мере потребления иона аммония подкисляют среду, что не способствует нормальному развитию клеток.

Менее доступны нитраты, так как азот нитратов для того, чтобы включиться в органические соединения, должен быть предварительно восстановлен до уровня аммиака в энергетически зависимой реакции.

Нитриты для большинства микроорганизмов ядовиты. Они используются только специфическими группами микроорганизмов и в том случае, когда их концентрация в среде очень мала.

Наименее доступен в качестве источника азота атмосферный азот  $\text{N}_2$ . Азотфиксирующие микроорганизмы имеют нитрогеназный комплекс, активирующий инертную молекулу атмосферного азота.

Таким образом, степень усвояемости минеральных источников азота определяется тем, насколько легко они превращаются в аммиак.

Аминокетотрофные микроорганизмы строят белки из готовых аминокислот. Для этого они используют сложные белковые субстраты, пептоны или отдельные аминокислоты. Белки предварительно гидролизуют с помощью протеолитических ферментов, выделяемых в среду. Потребностью в готовых аминокислотах обладают главным образом патогенные микробы, а также молочнокислые бактерии.

Если в питательной среде недостает хотя бы одной аминокислоты, то микроорганизм переходит на аминоавтотрофный способ существования и создает недостающую аминокислоту.

Если источником азота служат белки, пептоны или аминокислоты, то источники углерода не нужны, так как эти субстраты используются одновременно и как источники углерода. Но при использовании минеральных источников азота присутствие углеродного сырья необходимо.



**Круговорот азота** включает 4 стадии: фиксацию азота, аммонификацию, нитрификацию и денитрификацию (слайд 11.10).

Процесс фиксации азота – это в основном биологический процесс. Свыше 90% общей фиксации азота обусловлено метаболической активностью бактерий. Фиксация азота осуществляется свободноживущими и симбиотическими бактериями. Симбиотические – бактерии рода *Rhizobium*. Свободноживущие – цианобактерии (*Anabaena* и *Nostoc*), *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Bacillus polymyxa*, *Clostridium* и другие.

В процессе аммонификации происходит гидролиз белков и нуклеиновых кислот с освобождением аминокислот и органических азотистых оснований, которые затем также расщепляются в результате дыхания и брожения. Аммонификация осуществляется как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Разрушение белка в анаэробных условиях с образованием аминов характерно для бактерий рода *Clostridium*. В присутствии воздуха амины окисляются; другими бактериями с выделением аммиака.

Микроорганизмы, способные к аммонификации, относятся к группе гетеротрофов. Эта группа представлена грамположительными споровыми палочками (*B. subtilis*, *B. Megatherium*, *Clostridium*) и бесспорными формами (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Proteus* и др.)

Нитрификация – превращение аммиака в нитрат – осуществляется в природе бактериями семейства *Nitrobacteraceae*. Они, как правило, развиваются совместно с бактериями, жизнедеятельность которых приводит к образованию исходного субстрата – аммиака.

Нитрификация происходит в два этапа: на первом аммиак окисляется до нитрита, на втором нитрит окисляется до нитрата.

Процесс нитрификации, являясь важным звеном в круговороте азота в природе, имеет как положительные, так и отрицательные стороны.

Денитрификация – процесс восстановления нитратов. Происходит в анаэробных условиях, нитрат используется в качестве конечного акцептора электронов, осуществляется процесс нитратного дыхания. Некоторые бактерии (*Escherichia coli*) способны восстанавливать нитрат только до уровня нитрита, другие (*Pseudomonas denitrificans*) – до газообразного азота.

Этот процесс широко распространен среди бактерий и обнаружен у представителей более 70 родов. В наибольшей степени – у бактерий из родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Все денитрифицирующие бактерии – факультативные анаэробы, переключающиеся на денитрификацию только в отсутствие  $O_2$ , поэтому, вероятно, их приспособление к анаэробным условиям – вторичного происхождения.

### 11.2.3. Потребность в макро- и микроэлементах

Наряду с углеродом и азотом микроорганизмам для синтеза клеточного вещества нужны различные элементы, которые входят в состав органических

соединений. Их присутствие даже в ничтожно малых количествах влияет на свойства микроорганизмов и качество образуемых метаболитов (слайд 11.11).

Сера необходима для синтеза серосодержащих аминокислот и некоторых коферментов. Сера стимулирует протеолитические ферменты. Она обычно потребляется микроорганизмами в виде сульфатов. Некоторые микроорганизмы используют восстановленные соединения серы, в энергетических целях.

Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, АТФ, коферментов, фосфолипидов, тейхоевых кислот и др. Фосфор получают из фосфорнокислых солей, калия или натрия, источником фосфатов также могут служить нуклеиновые кислоты.

Кальций входит в состав эндоспор, изменяет проницаемость протоплазмы.

Магний присутствует в клеточных стенках, мембранах.

Железо содержится в цитохромах, каталазе и других ферментах и играет важную роль в регуляции степени агрегации рибосомальных частиц.

Молибден активирует целую группу ферментов, ответственных за процессы брожения, фиксации азота, нитрификации.

Большинство микроорганизмов обладает способностью самостоятельно синтезировать все необходимые для роста вещества, они называются прототрофами. Микроорганизмы, лишенные способности синтезировать некоторые органические соединения (аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, витамины), называются ауксотрофами (слайд 11.12).

### **11.3. Способы размножения микроорганизмов**

Для большинства прокариот характерно бинарное поперечное деление, приводящее к образованию двух одинаковых дочерних клеток (слайд 11.13).

У большинства грамположительных бактерий и нитчатых цианобактерий деление происходит путем синтеза поперечной перегородки, идущего от периферии к центру. Клетки большинства грамотрицательных бактерий делятся путем перетяжки.

Вариантом бинарного деления является почкование, которое можно рассматривать как неравновеликое бинарное деление (слайд 11.14). Клеточная стенка почки полностью синтезируется заново. При равновеликом бинарном делении материнская клетка, делясь, дает начало двум дочерним клеткам и сама, таким образом, исчезает. При почковании материнская клетка дает начало дочерней клетке, и между ними можно обнаружить морфологические и физиологические различия. В этом случае можно наблюдать процесс старения. Так, для некоторых штаммов *Rhodocrobium* показано, что материнская клетка способна отпочковывать не более 4

дочерних клеток. Дочерние клетки лучше приспосабливаются к меняющимся условиям.

Бинарное деление может происходить в одной или нескольких плоскостях. В первом случае, если после деления клетки не расходятся, это приводит к образованию цепочек палочковидных или сферических клеток, во втором – к клеточным скоплениям разной формы.

Для одной группы одноклеточных цианобактерий описано размножение путем множественного деления (слайд 11.15). Это приводит к образованию мелких клеток, бaeоцитов, число которых у разных видов колеблется от 4 до 1000. Освобождение бaeоцитов происходит путем разрыва материнской клеточной стенки.

## 11.4. Культивирование микроорганизмов

Популяция микроорганизмов, или культура – это совокупность бактерий одного или разных видов, развивающихся в ограниченном пространстве. Выращивание микроорганизмов на питательных средах называется культивированием, а культивирование при определенной температуре – инкубированием.

По степени однородности клеток культуры делят на чистые, смешанные и накопительные (слайд 11.16).

**Чистые культуры** – потомство одной клетки (клон). Чистая культура характеризуется однородностью клеток и колоний. Признаки, которые проявляет культура на жидких и твердых средах, называются культуральными (слайд 11.17).

Методы выделения чистых культур были предложены Р. Кохом в XIX в.

**Смешанные культуры** – это потомство клеток 2-х или нескольких видов. Естественные популяции, как правило, представляют собой смесь различных микроорганизмов. Смешанные культуры также могут быть приготовлены путем объединения чистых культур (слайд 11.18).

**Накопительные культуры.** Накопительными называют такие культуры, в которых преобладают представители одной группы или даже одного вида микроорганизмов.

Для накопления нужны такие условия, при которых данный организм преодолевает конкуренцию остальных. Подбирая ряд факторов (источники энергии, углерода, азота, освещенность, температуру, pH и т.д.), создают определенные условия и инокулируют среду смешанной популяцией, какая имеется, например, в почве или в иле. Наиболее приспособленный к такой среде микроорганизм растет и вытесняет все остальные.

Условия, обеспечивающие преимущественное развитие определенной группы или вида микроорганизмов, называются селективными.

Для культивирования микроорганизмов используют питательные среды различного состава и консистенции (слайд 11.19).

По составу среды бывают натуральные, полусинтетические и синтетические.

По консистенции среды бывают жидкие (бульоны), полужидкие (содержат желатин, агар в малой концентрации) и твердые (агаризованные).

По назначению среды бывают:

– универсальные (предложены Р. Кохом) – на них растет большинство микроорганизмов. Примеры: МПА, МПБ, крахмало-аммиачный, картофельный агар и т.п.

– элективные (предложены С.Н. Виноградским) – они составлены в расчете на предельно жесткие условия, при которых может развиваться только избранный организм. Примеры: среда Эшби, Виноградского.

– накопительные (предложены М. Бейеринком). Для получения максимального эффекта накопления сочетают биофизические, биохимические и биологические методы.

### 11.4.1. Рост бактерий в периодической культуре

Периодическая культура – популяция клеток, растущая в ограниченном пространстве: питательные вещества не поступают, конечные продукты обмена не удаляются.

Кривая, описывающая зависимость логарифма числа живых клеток от времени, называется кривой роста. Типичная кривая роста имеет S-образную форму и различает несколько фаз роста, сменяющих друг друга (слайд 11.20).

1). Лаг-фаза начинается с момента посева бактерий в свежую питательную среду. В этот период клетки адаптируются к данным условиям культивирования и достигают максимальной скорости роста (слайд 11.21).

Продолжительность лаг-периода зависит от многих факторов: биологических особенностей бактерий, возраста исходной культуры, состава питательной среды, температуры культивирования бактерий.

Диауксия – двухфазный рост, наличие двух лаг-фаз. Это обычно происходит на средах, содержащих смесь питательных веществ (слайд 11.22).

2). Экспоненциальная, или логарифмическая (лог-фаза), характеризуется максимальной скоростью деления бактерий (слайд 11.23).

Наращение клеток идет в геометрической прогрессии. Общее количество бактерий определяется по формуле 1:

$$N = N_0 \times 2^n, \quad (1)$$

где  $N$  — общее количество клеток в конце опыта,

$N_0$  — количество клеток в начале опыта,

$n$  — число поколений или генераций.

В микробиологической практике для выражения общего числа клеток чаще пользуются не абсолютными числами, а их логарифмами.

В экспоненциальной фазе процессы роста протекают сбалансированно. Эта фаза многостадийна, так как в начале ее бактерии растут в среде с

избытком субстрата, затем концентрация его понижается, изменяется активность ферментов, возрастает содержание клеточных метаболитов.

3). Линейная фаза роста, характеризуется постоянной скоростью прироста биомассы (слайд 11.24).

Наступление фазы объясняется качественными изменениями состава питательной среды: потреблением питательных веществ, накоплением продуктов метаболизма, дефицитом кислорода в среде, изменением рН среды и т. д.

4). Стационарная фаза роста, характеризуется равновесием между погибающими и вновь образующимися клетками (слайд 11.25).

Скорость роста снижается не только из-за нехватки субстрата, но также из-за большой плотности бактериальной популяции, недостатка  $O_2$ , или накопления токсичных продуктов обмена.

В стационарной фазе наблюдается максимальная величина биомассы и максимальная суммарная численность клеток (урожай, или выход).

В стационарной фазе клетки характеризуются несбалансированным ростом (клеточные компоненты синтезируются с различной скоростью), уменьшением интенсивности обменных процессов, более высокой устойчивостью к физическим и химическим воздействиям.

5). Фаза отмирания, характеризуется уменьшением числа живых клеток. В естественных условиях отмирание бактерий приводит к самоочищению природных сред. Число живых клеток может снижаться, когда в среде накапливаются кислоты, иногда клетки лизируются под действием собственных ферментов (автолиз) (слайд 11.26).

6). Фаза выживания, характеризуется наличием отдельных клеток, сохранившихся в течение длительного времени, жизнеспособностью в условиях гибели большинства клеток популяции. При пересеве таких выживших клеток в свежую питательную среду, после лаг-периода они начинают активно расти и делиться. Выживающие клетки характеризуются низкой интенсивностью процессов метаболизма.

В процессе периодического культивирования постоянно изменяются параметры, определяющие скорость роста популяции микроорганизмов, причем исследователю не всегда известно, какие именно. Несмотря на то, что некоторые внешние факторы могут быть зафиксированы (температура среды, рН, концентрация растворенного кислорода и т. д.), все же многие характеристики микробного роста не управляемы.

Обычному периодическому культивированию свойствен ряд недостатков (слайд 11.27):

- высокие концентрации субстратов в начале процесса ингибируют рост микроорганизмов,
- неэкономичный расход энергетического субстрата.
- накопление ингибирующих продуктов метаболизма.

Рост микробной популяции в периодической культуре, как правило, не соответствует типу развития природных популяций и экосистем и не

позволяет проводить точные количественные эксперименты из-за одновременного изменения большого числа факторов.

### **11.4.2. Рост бактерий в непрерывной культуре**

Принцип проточного культивирования состоит в том, что в ферментер, где производится выращивание бактерий, все время поступает свежая питательная среда и одновременно с такой же скоростью выводится культуральная жидкость, содержащая бактериальные клетки и продукты метаболизма. Регулируя скорость проточной среды, управляют ростом бактериальной популяции (слайд 11.28).

В начале 50-х годов были обоснованы и применены в экспериментах два вида непрерывной культуры – с постоянным протоком питательной среды через культиватор (хемостат) и постоянной оптической плотностью биомассы в культиваторе (турбидостат). Концентрация биомассы в турбидостате стабилизируется по измерению оптической плотности или мутности культуры (слайд 11.29, 11.30, 11.31).

Рост культур происходит в емкости – ферментере при интенсивном перемешивании. Во всей массе культуры условия должны быть совершенно одинаковыми. Этот метод культивирования получил название гомогенно-непрерывного.

При больших потоках условия среды близки к экспоненциальному росту, при малых – приближаются к условиям стационарной фазы. При таком методе может быть воспроизведена любая точка роста периодической культуры.

Повышение скорости потока приводит к тому, что скорость роста культуры окажется меньше коэффициента разбавления и культура вымоется из ферментера. Низкая скорость протока приведет к тому, что рост ускорится, а в ферментере повысится концентрация биомассы и понизится концентрация субстрата.

Непрерывные процессы имеют преимущества перед периодическими:

- специализировать аппаратуру для каждой стадии процесса;
- автоматизировать процесс;
- стабилизировать процесс во времени;
- легко регулировать условия;
- установить особенности физиологического состояния клеток,
- изучить действие разных факторов в любой степени (слайд 11.32).

# ЛЕКЦИЯ № 12. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У ПРОКАРИОТОВ

- 12.1. Конструктивные и энергетические процессы
- 12.2. Энергетический метаболизм прокариотов
- 12.3. Процессы брожения
  - 12.3.1. Молочнокислое брожение
  - 12.3.2. Спиртовое брожение
  - 12.3.3. Маслянокислое брожение
- 12.4. Бактериальный фотосинтез
  - 12.4.1. Строение фотосинтетического аппарата
  - 12.4.2. Фотофизические процессы, лежащие в основе фотосинтеза
- 12.5. Дыхательные процессы (слайд 12.3)
  - 12.5.1. Цикл трикарбоновых кислот
  - 12.5.2. Неполное окисление
  - 12.5.3. Дыхательная цепь
  - 12.5.4. Анаэробное дыхание

## 12.1. Конструктивные и энергетические процессы

Совокупность протекающих в клетке процессов, обеспечивающих воспроизводство биомассы, называется обменом веществ, или метаболизмом. Клеточный метаболизм складывается из двух потоков реакций: энергетического и конструктивного метаболизма (слайд 12.4).

Энергетический метаболизм (катаболизм) – это поток реакций, сопровождающихся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую ( $\Delta\mu\text{H}^+$ ) или химическую (АТФ) форму, которая затем может использоваться во всех энергозависимых процессах.

Конструктивный метаболизм (анаболизм) – поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ строится вещество клеток; это процесс, связанный с потреблением свободной энергии, запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений.

Конструктивные и энергетические процессы протекают в клетке одновременно и тесно связаны между собой по нескольким каналам:

- энергетическому: реакции энергетического метаболизма поставляют энергию, необходимую для биосинтезов.
- восстановительному: источником восстановителя в виде водорода (электронов) служат реакции энергетического метаболизма.
- метаболическому: промежуточные этапы или метаболиты (амфиболиты) обоих путей могут быть одинаковыми. Промежуточные реакции, одинаковые для обоих потоков, – амфиболические.

## 12.2. Энергетический метаболизм прокариотов

Организмы могут использовать не все виды энергии, существующие в природе. Доступными для них являются электромагнитная энергия (свет определенной длины волны) и химическая (восстановленные химические соединения). Способностью использовать энергию света обладает группа фотосинтезирующих организмов. Для всех остальных организмов источниками энергии служат процессы окисления химических соединений.

Часто энергетическими ресурсами служат биополимеры, находящиеся в окружающей среде. Сначала они должны быть гидролизованы до мономерных единиц. Образовавшиеся мономеры подвергаются в клетке дальнейшим ферментативным превращениям:

- путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса (гликолиз),
- окислительный пентозофосфатный путь,
- путь Энтнера-Дудорова,
- цикл трикарбоновых кислот (ЦТК).

Общее для всех катаболических путей – многоступенчатость процесса окисления исходного субстрата.

У прокариотов известны три способа получения энергии: брожение, дыхание и фотосинтез (слайд 12.5).

В процессах брожения образуются нестабильные молекулы, фосфатная группа которых содержит много свободной энергии. Эта группа с помощью соответствующего фермента переносится на молекулу АДФ, что приводит к образованию АТФ. Такие реакции получили название субстратного фосфорилирования (слайд 12.6). Образующийся восстановитель (НАД•Н<sub>2</sub>, восстановленный ферредоксин) переносит электроны на подходящий эндогенный акцептор электрона (пируват, ацетальдегид, ацетон и др.) или освобождается в виде газообразного водорода (H<sub>2</sub>).

В процессе дыхания окисляются восстановленные органические и неорганические вещества, возникающие в реакциях промежуточного метаболизма или являющиеся исходными субстратами. Окисление происходит в результате переноса электронов через локализованную в мембране дыхательную электронтранспортную цепь, состоящую из набора переносчиков, и приводит к восстановлению молекулярного кислорода до H<sub>2</sub>O (аэробное дыхание). В процессе анаэробного дыхания прокариоты могут окислять органические и неорганические вещества с использованием в качестве конечного акцептора электронов целого ряда органических и неорганических соединений (фумарат, CO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> и др.).

Прокариоты осуществляют три типа фотосинтеза:

- зависимый от бактериохлорофилла бескислородный фотосинтез, осуществляемый группами зеленых, пурпурных бактерий и гелиобактерий;
- зависимый от хлорофилла кислородный фотосинтез, свойственный цианобактериям и прохлорофитам;



– зависимый от бактериородопсина бескислородный фотосинтез, найденный у экстремально галофильных археобактерий.

В основе фотосинтеза I и II типа лежит поглощение солнечной энергии различными пигментами, приводящее к разделению электрических зарядов, возникновению восстановителя с низким и окислителя с высоким потенциалом. Перенос электронов между этими двумя компонентами приводит к выделению свободной энергии. В фотосинтезе III типа окислительно-восстановительные переносчики отсутствуют, энергия в доступной для организма форме возникает в результате перемещения  $H^+$  через мембрану.

Изучение у прокариот электронтранспортных цепей, функционирующих в процессах дыхания и фотосинтеза I и II типа, выявило принципиальное сходство между ними, обе они являются окислительными.

Освобождающаяся при переносе электронов энергия запасается первоначально в форме трансмембранного градиента  $\Delta\mu H^+$ , а затем может быть использована для синтеза АТФ – окислительного или фотосинтетического фосфорилирования.

Таким образом, существуют две универсальные формы энергии: энергия высокоэнергетических химических соединений (химическая) и энергия трансмембранного потенциала ионов водорода (электрохимическая).

### 12.3. Процессы брожения

Брожение – это способ получения энергии, при котором АТФ образуется в процессе анаэробного окисления органических субстратов в реакциях субстратного фосфорилирования. Брожение является наиболее примитивным и древним способом получения энергии (слайд 12.7).

В каждом виде брожения можно выделить две стороны: окислительную и восстановительную. Процессы окисления сводятся к отрыву электронов от определенных метаболитов с помощью ферментов (дегидрогеназ) и акцептированию их другими молекулами, образующимися из сбраживаемого субстрата. В процессе брожения, как правило, происходит расщепление углеродного скелета молекулы субстрата.

Энергетической стороной процессов брожения является их окислительная часть. В результате процесса высвобождается часть свободной энергии, и происходит ее запасание в молекулах АТФ.

Примитивность процессов брожения заключается в том, что из субстрата извлекается лишь незначительная доля энергии, которая в нем содержится. Например, в процессе гомоферментативного молочнокислого брожения синтезируются 2 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы; в процессе дыхания при полном окислении молекулы глюкозы образуется 38 молекул АТФ.

**Субстраты.** Сбраживаться могут не все вещества, а только такие, которые имеют не полностью окисленные / восстановленные атомы углерода

и поэтому способны подвергаться сопряженному процессу окисления-восстановления. Это углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины. Полимеры предварительно гидролизуются до мономеров. Наиболее доступным субстратом являются гексозы, в частности глюкоза (слайд 12.8).

**Продукты.** Продуктами брожений являются органические кислоты, спирты, ацетон, а также  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ . Обычно в процессе брожения образуется несколько продуктов. В зависимости от того, какой основной продукт накапливается в среде, различают молочнокислое, спиртовое, маслянокислое, пропионовокислое и другие виды брожений.

### 12.3.1. Молочнокислое брожение

**Гомоферментативное молочнокислое брожение.** Начинается с гликолитического пути, 10 из 11 реакций у этих процессов идентичны (слайд 12.9).

Основными субстратами служат моносахара (глюкоза) и дисахара (мальтоза, лактоза). Брожения более сложных субстратов проходят через путь предварительного расщепления их до глюкозы или продуктов ее превращения (глюкозо-6-фосфата).

Конечный выход энергии на окислительном этапе распада глюкозы составляет 2 молекулы АТФ на 1 моль глюкозы. Помимо этого образуется 2 молекулы ПВК и 2 молекулы восстановленного переносчика ( $\text{НАД-H}_2$ ).

Молекула ПВК – достаточно окисленное соединение и может служить акцептором электронов. В этом случае при участии фермента лактатдегидрогеназы 2 электрона переносятся с  $\text{НАД-H}_2$  на молекулу пировиноградной кислоты, что приводит к образованию молочной кислоты (2).

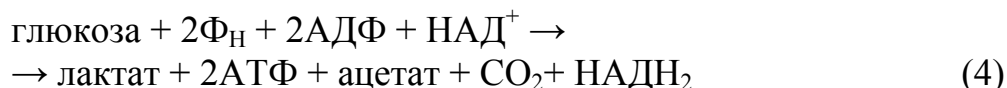
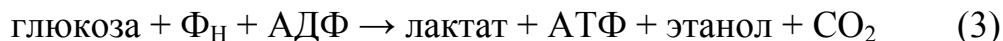


**Гетероферментативное молочнокислое брожение.** Начинается с пентозофосфатного пути. Этот путь позволяет использовать в качестве энергетического материала не только гексозы, но и пентозы, а также синтезировать рибозы, необходимые для построения нуклеиновых кислот и других соединений (слайд 12.10).

Конечные продукты брожения – С2- и С3-фрагменты: 3-ФГА и ацетилфосфат. 3-ФГА претерпевает ряд ферментативных превращений, идентичных таковым гликолиза, и через пируват превращается в молочную кислоту (слайд 12.11).

Судьба двухуглеродного фрагмента различна: двухступенчатое восстановление ацетилфосфата приводит к накоплению в среде этанола; окислительный путь превращения ацетилфосфата завершается образованием уксусной кислоты.

В качестве конечных продуктов образуются молочная и уксусная кислоты, этиловый спирт, глицерин,  $\text{CO}_2$  и др (слайд 12.12). Образование уксусной кислоты из ацетилфосфата сопряжено с синтезом АТФ. Если брожение идет с образованием этанола, то выход энергии равен 1 молекуле АТФ на молекулу сброженной глюкозы (3); если образуется уксусная кислота, то общий энергетический баланс процесса составляет 2 молекулы АТФ на молекулу глюкозы, т. е. такой же, как при гликолизе (4):



### Молочнокислые бактерии

Гомоферментативное молочнокислое брожение осуществляют молочнокислые бактерии, относящиеся к родам *Lactococcus* и *Pediococcus*, а также некоторые представители рода *Lactobacillus* (слайд 12.13).

Гетероферментативные молочнокислые бактерии *Leuconostoc mesenteroides* сбраживают глюкозу в молочную кислоту, этанол и  $\text{CO}_2$ .

У других гетероферментативных молочнокислых бактерий больший удельный вес занимает накопление уксусной кислоты: *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*.

Большинство молочнокислых бактерий имеют два пути сбраживания углеводов: гликолитический и пентозофосфатный. Сбраживание гексоз, как правило, протекает по гликолитическому пути, а пентоз – по окислительному пентозофосфатному. Это имеет место у представителей рода *Lactobacillus*: *L. casei*, *L. plantarum*, *L. xylosis*.

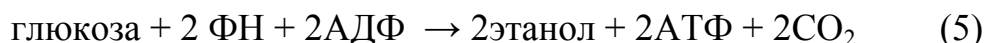
### 12.3.2. Спиртовое брожение

Процесс спиртового брожения идет по пути гликолиза до образования ПВК. Затем, в результате ее окислительного декарбоксилирования при участии ключевого фермента спиртового брожения пируватдекарбоксилазы образуется, уксусный альдегид (слайд 12.14).

Особенность реакции заключается в ее полной необратимости.

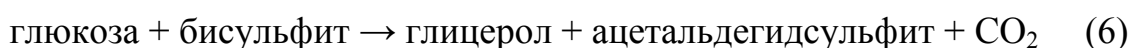
Образовавшийся ацетальдегид становится конечным акцептором водорода и восстанавливается до этанола с участием НАД<sup>+</sup>-зависимой алкогольдегидрогеназы.

В итоге из 1 молекулы гексозы образуются 2 молекулы этилового спирта и 2 молекулы углекислоты. Сбраживание 1 молекулы глюкозы приводит к образованию 2 молекул АТФ (5).



**Формы брожения по Нейбергу (слайд 12.15)**

В присутствии бисульфита основным продуктом брожения будет глицерин. Оказалось, что бисульфит образует комплекс с ацетальдегидом, и последний не может больше функционировать как акцептор электронов. Следствием этого является передача электронов от НАД-Н<sub>2</sub> на фосфодиоксиацетон, восстановление его до 3-фосфоглицерина и дефосфорилирование, приводящее к образованию глицерина. Кроме глицерина в среде происходит накопление ацетальдегида (в комплексе с бисульфитом), этанола и СО<sub>2</sub>, но образование последних двух продуктов подавлено (6).



Спиртовое брожение протекает обычно при рН 3-6. Если его проводить в щелочной среде, например в присутствии NaHCO<sub>3</sub> или Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, также происходит накопление глицерина. Оказалось, что в щелочных условиях ацетальдегид участвует в реакции дисмутации с образованием уксусной кислоты и этилового спирта. Акцептором электронов, как и в предыдущем случае, служит фосфодиоксиацетон, который преобразуется в глицерин (7).



В условиях свободного доступа кислорода воздуха процесс спиртового брожения ингибируется и активируется дыхание – «эффект Пастера».

**Микроорганизмы, осуществляющие спиртовое брожение:** *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Mucor*, *Sarcina ventriculi*, *Erwinia amylovora*, *Zygomonas mobilis*. В анаэробных условиях у высших растений также отмечено накопление этилового спирта (слайд 12.16).

**12.3.3. Маслянокислое брожение**

В маслянокислом брожении происходят реакции конденсации: С<sub>2</sub>-соединений, в результате чего образуется С<sub>4</sub>-акцепторная кислота. В качестве конечных продуктов в процессе брожения возникают соединения различной степени восстановленности. Характерным продуктом брожения является масляная кислота (слайд 12.17).

Превращение глюкозы до пирувата осуществляется по гликолитическому пути. Ключевая реакция – разложение пирувата до ацетил-КоА и СО<sub>2</sub>.

Путь, ведущий к синтезу масляной кислоты, начинается с реакции конденсации двух молекул ацетил-КоА. Он не связан с получением клеткой энергии, функция – акцептирование водорода, образовавшегося в процессе гликолиза. Другое направление – превращение ацетил-КоА, ведущее к

синтезу ацетата, именно с этим путем связано дополнительное получение энергии (при этом синтезируется молекула АТФ).

Основным источником выделяемых при брожении газообразных продуктов ( $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2$ ) служит реакция окислительного декарбоксилирования пирувата.

Выведение уравнения маслянокислого брожения и определение его энергетического выхода затруднительно из-за лабильности процесса, состоящего из двух основных ответвлений: одного – окислительного, ведущего к образованию ацетата и АТФ, другого – восстановительного. Количественное соотношение между обоими ответвлениями зависит от многих внешних факторов (слайд 12.18).

В целом на 1 моль сбрасываемой глюкозы образуется 3,3 моля АТФ. Это наиболее высокий энергетический выход брожения из всех рассмотренных выше типов.

**Маслянокислые бактерии.** Осуществляют такой тип брожения бактерии, относящиеся к роду *Clostridium*. Некоторые клостридии наряду с кислотами накапливают в среде нейтральные продукты (бутиловый, изопропиловый, этиловый спирты, ацетон). Это дало основание выделить как вариант маслянокислого брожения ацетоно-бутиловое брожение (слайд 12.19).

У клостридиев, осуществляющих ацетоно-бутиловое брожение, образование масляной кислоты происходит на первом этапе брожения. По мере подкисления среды (до рН ниже 5) и повышения в ней концентрации жирных кислот индуцируется синтез ферментов, приводящих к накоплению нейтральных продуктов, в первую очередь н-бутанола и ацетона.

Изучение физиологии группы клостридиев, осуществляющих ацетоно-бутиловое брожение, привело к открытию В. Н. Шапошниковым явления двухфазности этого процесса, которое позднее было обнаружено в большинстве типов брожений, характеризующихся сложным набором конечных продуктов.

## 12.4. Бактериальный фотосинтез

Фотосинтез – это способ образования АТФ, при котором в качестве источника энергии используется свет. АТФ образуется при переносе энергии света, поглощенного фотосинтетической пигментной системой через цепь переноса электронов, этот процесс называется фотофосфорилированием (слайд 12.20).

Фотосинтез осуществляется разными группами бактерий: пурпурными и зелеными бактериями, гелиобактериями, цианобактериями и прохлорофитами, которые различаются по набору фотосинтетических пигментов (слайд 12.21).

В целом фотосинтетические пигменты бактерий обеспечивают поглощение света с длиной волны 300-1100 нм (слайд 12.22).

Структура пигментов представлена двумя классами химических соединений: тетрапирролами (хлорофиллы, фикобилипротеины) и полиизопреноидными цепями (каротиноиды).

**Хлорофиллы** бактерий, осуществляющих бескислородный фотосинтез (пурпурные и зеленые бактерии, гелиобактерии) получили общее название бактериохлорофиллов. Идентифицировано 6 основных видов бактериохлорофиллов: *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *g*.

Все пурпурные бактерии содержат какую-либо одну форму бактериохлорофилла: *a* или *b*. Основными хлорофилльными пигментами зеленых бактерий являются бактериохлорофиллы *c*, *d* или *e*. Кроме них в клетках всех зеленых бактерий в небольшом количестве содержится бактериохлорофилл *a*. Необычный бактериохлорофилл *g* с максимумом поглощения 790 нм обнаружен у облигатно анаэробных фотосинтезирующих бактерий, выделенных в группу гелиобактерий.

Бактерии, осуществляющие кислородный фотосинтез (цианобактерии и прохлорофиты), содержат хлорофиллы, характерные для фотосинтезирующих эукариотных организмов. У цианобактерий – это хлорофилл *a*, у прохлорофитов – хлорофиллы *a* и *b*.

**Фикобилипротеины** – красные и синие пигменты, содержащиеся только у цианобактерий: аллофикоцианин, аллофикоцианин *B*, а также значительные количества фикоцианина. Некоторые цианобактерий содержат также фикоэритрин.

**Каротиноиды.** Это большая группа химических соединений, представляющих собой продукт конденсации остатков изопрена. Набор и количество отдельных каротиноидов определяют окраску пурпурных бактерий, густые суспензии которых имеют пурпурно-фиолетовый, красный, розовый, коричневый, желтый цвета. Каротиноидные пигменты поглощают свет в синем и зеленом участках спектра. Эти пигменты, как и хлорофиллы, локализованы в мембранах и связаны с мембранными белками.

Пигментные наборы фотосинтезирующих эубактерий позволяют им использовать весь диапазон длин волн падающей на Землю солнечной энергии.

### 12.4.1. Строение фотосинтетического аппарата

Фотосинтетический аппарат состоит из трех основных компонентов (слайд 12.23):

- 1). Светособирающих пигментов, поглощающих энергию света и передающих ее в реакционные центры;
- 2). Фотохимических реакционных центров, где происходит трансформация электромагнитной энергии в химическую;
- 3). Фотосинтетических электронтранспортных систем, обеспечивающих перенос электронов, сопряженный с запасанием энергии в молекулах АТФ.

Два компонента фотосинтетического аппарата – реакционные центры и электронтранспортные системы – всегда локализованы в ЦПМ (слайд 12.24). Локализация светособирающих пигментов в разных группах фотосинтезирующих бактерий различна. У пурпурных бактерий, гелиобактерий и прохлорофит светособирающие пигменты интегрированы в мембраны. В клетках зеленых бактерий и цианобактерий – находятся в особых структурах (хлоросомах зеленых бактерий и фикобилисомах цианобактерий).

### 12.4.2. Фотофизические процессы, лежащие в основе фотосинтеза

В темноте молекула хлорофилла находится в стабильном невозбужденном состоянии, а ее электроны – на основном энергетическом уровне. Когда квант света попадает на молекулу хлорофилла, порция энергии этого кванта поглощается одним из электронов, который переходит на новый, более богатый энергией уровень, а молекула хлорофилла переходит при этом в возбужденное состояние. В зависимости от того, какова энергия поглощенного кванта, электрон может перейти на разные энергетические уровни: квант синего света поднимает электрон на второй синглетный уровень, квант красного света – на первый. Время жизни молекулы хлорофилла в возбужденных синглетных состояниях очень коротко (на втором синглетном уровне –  $10^{-12}$ – $10^{-13}$  с, на первом –  $10^{-9}$ – $10^{-7}$  с), после чего молекула возвращается в исходное стабильное состояние, и энергия, поглощенная электроном, теряется им в виде тепла, флюоресценции или фосфоресценции.

Основная масса хлорофилла и других фотосинтетических пигментов клетки представляет собой антенну, улавливающую световую энергию. Энергия возбуждения мигрирует в направлении от пигментов, поглощающих свет более коротких длин волн, к более длинноволновым формам и от последних поступает в реакционные центры.

В то время как основная масса фотосинтетических пигментов способна только поглощать энергию света и передавать ее соседним молекулам, небольшая часть молекул хлорофилла участвует в осуществлении фотохимической реакции. Процесс этот происходит в реакционных центрах, состоящих из первичного донора электронов, первичного акцептора и одного или более вторичных акцепторов электронов. Кроме того, в составе реакционных центров обнаружены молекулы каротиноидов и полипептидов.

При поглощении кванта света реакционным центром первичный донор электронов ( $D$ ), которым всегда является длинноволновая форма молекулы хлорофилла или бактериохлорофилла, возбуждается, переходит в новое состояние ( $D^*$ ), в котором становится активным восстановителем, и переносит электрон на первичный акцептор электронов ( $A$ ). Чтобы предотвратить возвращение электрона на  $D^+$ , вторичный акцептор ( $B$ )

принимает электрон от первичного акцептора и стабилизирует таким способом разделение зарядов. Для дальнейшей стабилизации этого разделения вторичный донор электронов ( $E$ ), в качестве которого почти всегда выступают цитохромы типа  $c$ , отдает электрон на молекулу первичного донора ( $D^+$ ) (слайд 12.25).

Эти реакции происходят в реакционном центре и являются «первичными» химическими реакциями фотосинтеза. Таким образом, индуцированные светом перемещения электрона в реакционном центре в конечном итоге приводят к переносу его на вторичный акцептор с отрицательным потенциалом.

После того, как вторичный акцептор захватывает электрон, он передается на переносчики электронов, и по этим переносчикам электрон может возвращаться на «свое» место в молекуле хлорофилла. Последним переносчиком, с которого электроны поступают на хлорофилл реакционного центра, в большинстве случаев служат цитохромы типа  $c$ . Возвращение электрона – темновой процесс. Электрон перемещается по цепи переносчиков в соответствии с электрохимическим градиентом. Имеет место циклический транспорт электронов.

Электрон, «оторванный» от первичного донора реакционного центра, может по цепи, состоящей из других переносчиков, не возвращаться к молекуле хлорофилла, а передаваться на такие клеточные метаболиты, как НАД(Ф)<sup>+</sup> или окисленный ферредоксин, которые используются в реакциях, требующих восстановителя. Таким образом, электрон, покинувший молекулу хлорофилла, выводится из «системы». Возникает однонаправленный незамкнутый электронный поток, получивший название нециклического пути переноса электронов. У пурпурных и зеленых нитчатых бактерий функционирует только циклический светозависимый поток электронов. У остальных групп эубактерий фотоиндуцируется как циклический, так и нециклический перенос электронов.

Фосфорилирование, сопряженное с циклическим потоком электронов, получило название циклического фотофосфорилирования. Соответственно, нециклическим фотофосфорилированием называют синтез АТФ, сопряженный с нециклическим электронным транспортом.

При циклическом электронном транспорте восстановитель не образуется, поскольку электрон, покинувший молекулу хлорофилла, в конечном итоге вновь возвращается к ней. Образование восстановителя возможно только на путях нециклического переноса электронов.

Нециклический транспорт электронов приводит к тому, что в молекуле хлорофилла возникает электронная «вакансия», которую необходимо заполнить, чтобы молекула пигмента могла функционировать. Для этой цели сформировался поток электронов, донорами которых являются легко окисляемые экзогенные вещества. Это могут быть как органические, так и неорганические соединения. В последнем случае это в основном различные восстановленные соединения серы, а также молекулярный водород (слайд 12.26).



У пурпурных и зеленых нитчатых бактерий, у которых функционирует только светозависимый циклический электронный транспорт, нет необходимости в заполнении электронной «вакансии» в молекуле хлорофилла. В то же время проблема получения фотохимическим путем восстановителя не решена.

Конкретные пути, ведущие к получению восстановленного НАД или ферредоксина, зависят от окислительно-восстановительного потенциала экзогенных доноров электронов.

Таким образом, на определенном этапе эволюции эубактерий сформировался способ получения энергии, в основе которого лежит использование энергии света, и для функционирования этого пути необходимы определенные экзогенные вещества. Следующий принципиально важный шаг на пути эволюции фотосинтеза и фотосинтезирующих организмов – способность использовать воду в качестве донора электронов (слайд 12.27).

Природа решила эти проблемы путем создания дополнительной пигментной системы, обозначаемой как фотосистема II (слайд 12.28).

Известны две группы эубактерий, у которых фотосистема II уже сформировалась. Это цианобактерии и прохлорофиты. Формирование II фотосистемы у них связано с появлением новых фоторецепторов и образованием новых типов фотохимических реакционных центров (слайд 12.29).

1). Возник новый вид хлорофилла – хлорофилл *a*, функционирующий как светособирающий пигмент и в модифицированных формах входящий в состав реакционных центров: II фотосистемы –  $P_{680}$ , I фотосистемы –  $P_{700}$ .

2). Возникли новые пигменты антенны: фикобилипротеины и хлорофилл *b*.

Обнаружено, что в фотоокисленном состоянии хлорофилл *a* реакционного центра II фотосистемы имеет окислительно-восстановительный потенциал порядка +1000...+1300 мВ, т. е. настолько положительный, что может быть восстановлен за счет электронов воды. Необходимым компонентом системы разложения воды является марганец. Очевидно также, что путь электронов от воды до  $P_{680}$  включает больше, чем один этап.

Таким образом, фотосистема II была достроена к фотосистеме I для того, чтобы стало возможным использование воды в качестве донора электронов. Побочный продукт этого процесса – молекулярный кислород. Фотосинтез, осуществляемый при функционировании двух фотосистем и сопровождающийся выделением  $O_2$  из воды, стал одним из основных типов энергетического метаболизма у высших форм жизни и занимает доминирующее положение в энергетической системе живого мира.

Обнаруженные у фотосинтезирующих бактерий типы фотосинтеза различаются организацией аппарата, природой экзогенных доноров электрона и выделяемыми окисленными продуктами. Общим для всех типов фотосинтеза является способность превращать энергию света в доступные клетке формы энергии, которая потребляется затем во всех энергозависимых

процессах, в том числе и для биосинтезов. Использование ее для ассимиляции  $\text{CO}_2$  – только один из вариантов обеспечения энергией конструктивного метаболизма у фототрофных эубактерий.

## 12.5. Дыхательные процессы

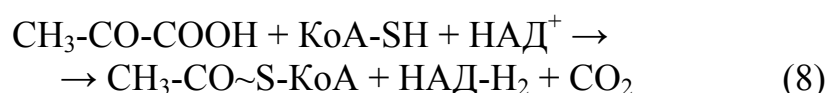
Дыхание – это энергодающий процесс, в ходе которого донорами электронов служат органические или неорганические соединения, а акцепторами – неорганические. Обычно конечным акцептором электронов служит молекулярный кислород (слайд 12.30). Однако при анаэробном дыхании в качестве конечного акцептора выступают сульфаты, нитраты и карбонаты (фумарат).

Выход свободной энергии при полном окислении какого-либо органического соединения гораздо больше, чем при его сбраживании. У микроорганизмов, использующих в энергетических процессах кислород, превращения начинаются с тех же реакций, которые характерны для анаэробов. Но пируват не используется в качестве конечного акцептора водорода, а подвергается дальнейшему окислению с выделением значительного количества энергии (слайд 12.31).

Пируват занимает центральное положение в промежуточном метаболизме. У большинства аэробов он подвергается действию ферментного комплекса пируват-дегидрогеназы, включающего три фермента, которые осуществляют:

- декарбоксилирование,
- дегидрирование с переносом водорода на НАД,
- присоединение ацетильной группы и образование ацетил-КоА.

Так происходит окислительное декарбоксилирование пирувата (8).



Дальнейшее превращение ацетил-КоА происходит в цикле лимонной кислоты или, по имени открывшего ученого, цикле Кребса.

### 12.5.1. Цикл трикарбоновых кислот

ЦТК имеет двойное назначение. Основная функция его заключается в полном окислении вовлекаемого органического субстрата и отщеплении водорода. Другая функция цикла – снабжение клетки предшественниками для биосинтетических процессов. Исходным субстратом ЦТК служит ацетил-КоА, образующийся при окислительном декарбоксилировании пирувата. В дальнейшем осуществляется серия последовательно протекающих реакций взаимопревращения ди- и трикарбоновых кислот (слайд 12.32).

В результате одного оборота цикла происходят 2 декарбоксилирования, 4 дегидрирования и 1 фосфорилирование. Итогом 2 декарбоксилирований является выведение из цикла 2 атомов углерода, т. е. ровно столько, сколько его поступило в виде ацетильной группы. В результате 4 дегидрирований образуются 3 молекулы НАД-Н<sub>2</sub> и 1 молекула ФАД-Н<sub>2</sub>. В результате фосфорилирования образуется 1 молекула АТФ. В процессе этих превращений весь водород оказывается на определенных переносчиках и задача теперь – передать его через другие переносчики на молекулярный кислород (слайд 12.33).

### 12.5.2. Неполное окисление

Уксуснокислые бактерии, выделенные в роды *Gluconobacter* и *Acetobacter*, могут получать энергию, осуществляя неполное окисление ряда органических соединений (этиловый спирт в уксусную кислоту) (слайд 12.34).

Дальнейшая судьба полученных в результате неполного окисления продуктов различна. Некоторые уксуснокислые бактерии не способны к последующим превращениям образовавшихся соединений. Эти бактерии, объединенные в род *Gluconobacter* (единственный вид *G. oxydans*), глюкозу окисляют до глюконовой кислоты, этанол – только до ацетата, который дальше не может ими окисляться из-за отсутствия замкнутого ЦТК.

Вторую группу составляют бактерии, способные к полному окислению органических субстратов до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О. Бактерии этой группы объединены в род *Acetobacter*, типичным представителем которого является *A. peroxydans*.

Неполное окисление сахаров осуществляют и грибы с образованием большого разнообразия продуктов – молочной кислоты, фумаровой, янтарной, яблочной, муравьиной, уксусной, щавелевой, глюконовой. Например, *Aspergillus niger* превращает до 60 % глюкозы в лимонную кислоту, что используется в микробиологической промышленности (слайд 12.35).

Органические кислоты, выделяемые грибами, образуются либо непосредственно в реакциях цикла Кребса, либо путем преобразования кислот этого цикла. При недостатке энергетического материала продукты неполного окисления используются этими же организмами как субстрат для дыхания и полностью окисляются до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О.

### 12.5.3. Дыхательная цепь

Аэробы могут осуществлять более эффективную регенерацию АТФ. Они обладают особым аппаратом: дыхательной (электрон-транспортной) цепью и ферментом АТФ-синтазой (слайд 12.36).

Обе системы у прокариотов находятся в плазматической мембране, у эукариотов – во внутренней мембране митохондрий. Компоненты дыхательной цепи погружены в двойной липидный слой.

Отданные субстратами протоны и электроны переносятся на плазматическую мембрану или на внутреннюю мембрану митохондрий. Через мембрану они транспортируются таким образом, что между внутренней и внешней сторонами мембраны создается электрохимический градиент с положительным потенциалом снаружи и отрицательным внутри. Этот перепад заряда служит движущей силой для регенерации АТФ. В процессе синтеза АТФ протоны переходят обратно с наружной стороны мембраны на внутреннюю.

Синтез АТФ за счет энергии транспорта электронов через мембрану называют окислительным фосфорилированием или фосфорилированием в дыхательной цепи (слайд 12.37).

Электроны с восстановленных переносчиков поступают в дыхательную цепь, где проходят через ряд этапов, опускаясь постепенно на все более низкие энергетические уровни, и акцептируются соединением, служащим конечным акцептором электронов.

НАД(Ф)-зависимые дегидрогеназы катализируют отрыв водорода от молекул субстратов и передают его на стартовый переносчик дыхательной цепи – НАД(Ф)-Н<sub>2</sub>-дегидрогеназу. Акцептором водорода от НАД(Ф)-Н<sub>2</sub> являются флавиновые дегидрогеназы (ФАД). Водород с них поступает в дыхательную цепь на уровне хинонов (убихинон – Q).

До кофермента Q осуществляется перенос атомов водорода. Далее, стоящий первым в цепи цитохром отрывает электрон от атома водорода и передает на систему цитохромов. Протоны в дальнейшем транспорте по дыхательной цепи не принимают участия и выделяются в среду.

В митохондриях обнаружено пять цитохромов (*b*, *c*, *c*<sub>1</sub>, *a*, *a*<sub>3</sub>), различающихся между собой спектрами поглощения и окислительно-восстановительными потенциалами. По цепочке цитохромов, набор которых специфичен для каждого вида микроорганизмов, электроны передаются на конечный цитохром (*a*+*a*<sub>3</sub>), называемый цитохромоксидазой. Последний передает электроны на молекулярный кислород с образованием ионов O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Выделенные в среду протоны водорода связываются с ионами O<sub>2</sub><sup>-</sup> с образованием воды.

Таким образом, в результате полного расщепления глюкозы в клетке аэробов выделяется в среду углекислый газ и вода. Содержащийся в конечных продуктах кислород имеет различное происхождение – в состав образующейся воды входит кислород воздуха, в состав углекислого газа – кислород окисляемого субстрата или кислород воды.

Система переноса построена таким образом, что происходит постепенное выделение энергии, заключенной в электроне, в результате чего в трех местах выделяется энергия в количестве, достаточном для образования АТФ.

Первое место образования АТФ находится между НАДН<sub>2</sub> и ФАД<sup>+</sup>, второе – на уровне цитохрома *c* и третье – на конечном этапе дыхательной цепи. Таким образом, место включения электронов от разных субстратов в

цепь их дальнейшего транспорта определяет число синтезируемых молекул АТФ (слайд 12.38).

Таким образом, энергетический выход при окислении молекулы глюкозы приводит к образованию 38 молекул АТФ.

**Ингибиторы дыхательной цепи.** Амитал и ротенон блокируют перенос электронов на участке до цитохрома *b*, действуя предположительно на НАД(Ф)-H<sub>2</sub>-дегидрогеназу. Антимидин *A* (антибиотик, продуцируемый *Streptomyces*) подавляет перенос электронов от цитохрома *b* к цитохрому *c*<sub>1</sub>. Цианид, окись углерода и азид блокируют конечный этап переноса электронов от цитохромов *a*+*a*<sub>3</sub> на молекулярный кислород, ингибируя цитохромоксидазу.

#### 12.5.4. Анаэробное дыхание

Бактерии, осуществляющие анаэробное дыхание, относятся к факультативным или облигатным анаэробам. Донорами электронов у них могут служить органические или неорганические соединения сульфаты, нитраты, карбонаты, фумарат. В результате образуются соответствующие восстановленные продукты: сероводород, нитрит, азот, ацетат, сукцинат (слайд 12.39).

Описаны анаэробные бактерии, способные окислять органические соединения, используя в качестве конечного акцептора электронов Fe<sup>3+</sup> или Mn<sup>4+</sup>.

Диссимиляционная нитратредукция (нитратредуктаза). Происходит в анаэробных условиях и в присутствии субстратов. Осуществляется бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus*, *Thiobacillus*.

Нитратное дыхание отличается от нитрификации тем, что в этом процессе функционирует только первая стадия: образование нитрита, который может накапливаться в культуральной жидкости. Осуществляется бактериями кишечной группы (*Enterobacter*, *Escherichia*) и др.

Диссимиляционная сульфатредукция (сульфатредуктаза). Осуществляется сульфатредуцирующими бактериями (*Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio* и др.). В природе они встречаются в сероводородном иле.

Карбонатное дыхание. Осуществляют ацетогенные бактерии (*Clostridium acetivum*, *Acetobacterium woodii*). Автотрофы, способны к росту в присутствии водорода (окисляют) и углекислого газа.

Фумаратное дыхание широко распространено у гетеротрофов. Обнаружено у энтеробактерий, *Vibrio*, *Bacteroides* и пропионовых бактерий.

У микроорганизмов существует большое разнообразие в составе дыхательной цепи:

- могут отсутствовать некоторые цитохромы;
- цепь может быть разветвленной или укороченной;
- донорами электронов могут служить органические и неорганические соединения.

– конечными акцепторами электронов могут быть органические или неорганические соединения (анаэробное дыхание);

– в анаэробных дыхательных цепях цитохромоксидазы заменены соответствующими редуктазами.

Итак, дыхательные цепи бактерий существенно отличаются от аналогичной системы, функционирующей в эукариотных клетках. Они менее стабильны по составу и значительно менее эффективны энергетически (слайд 12.40).

# ЛЕКЦИЯ № 13. БИОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ У ПРОКАРИОТОВ

- 13.1. Мономеры конструктивного метаболизма
- 13.2. Ассимиляция углекислоты гетеротрофами и автотрофами.
- 13.3. Усвоение минеральных соединений азота
  - 13.3.1. Фиксация азота
  - 13.3.2. Ассимиляционная нитратредукция
- 13.4. Синтез аминокислот
- 13.5. Регуляция метаболизма (слайд 13.3)
  - 13.5.1. Регуляция на уровне транскрипции
  - 13.5.2. Регуляция путем изменения каталитической активности

## 13.1. Мономеры конструктивного метаболизма

Независимо от способов получения энергии и возможности использования различных источников углерода, азота и других элементов все микроорганизмы должны построить однотипные строительные блоки: аминокислоты для построения белков, нуклеотиды для синтеза нуклеиновых кислот, углеводы для синтеза полисахаридов, жирные кислоты, спирты и другие мономеры для построения различной степени сложности молекул. Кроме названных предшественников макромолекул клетке микроорганизмов необходимо еще синтезировать около 20 различных активных группировок для ферментов и переносчики электронов (слайд 13.4).

Синтез малых молекул – строительных блоков для синтеза полимеров и кофакторов – связан с активностью 1/5 части всех клеточных генов. Это предполагает, что центральные интермедиаты метаболизма, из которых построены блоки, синтезируются как продукты центрального метаболизма. Интермедиаты центральных метаболических путей, из которых синтезируются строительные блоки, называют центральными или основными метаболическими предшественниками.

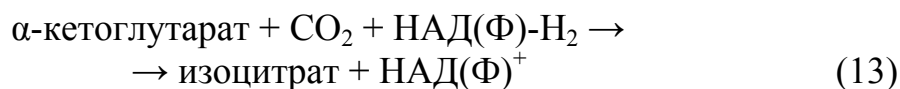
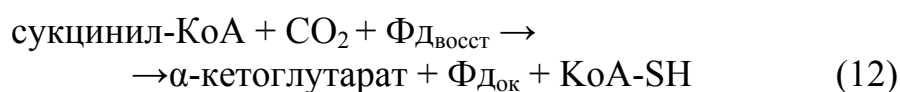
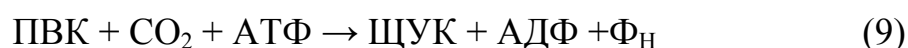
Клетки предпочтительно используют готовые строительные блоки. В этом случае их синтез из простых субстратов может быть подавлен. Многие бактерии не способны синтезировать все необходимые строительные блоки – ауксотрофы. Соединения, по которым микроорганизмы ауксотрофные, – факторы роста – должны присутствовать в среде обитания. Облигатные паразиты могут обладать неполным биосинтетическим потенциалом. В то же время прокариоты-симбионты часто обеспечивают организм-хозяин незаменимыми аминокислотами или витаминами.

К основным метаболитам-предшественникам относятся ацетил-СоА, пируват, оксалоацетат (ЩУК), фосфоенолпируват (ФЕП), 2-оксоглутарат, гексозофосфаты, пентозофосфаты и др (слайд 13.5). Это промежуточные продукты, образующиеся в трех важнейших путях обмена: гликолизе, цикле Кребса, и пентозофосфатном цикле (слайд 13.6).

## 13.2. Ассимиляция углекислоты гетеротрофами и автотрофами.

Углекислота у прокариотов активно используется по путям как конструктивного, так и энергетического метаболизма. В конструктивном метаболизме она выполняет две основные функции: присоединение углекислоты в качестве  $C_1$ -группы к молекуле клеточного метаболита приводит к удлинению ее углеродного скелета; кроме того, при этом происходит регулирование общего уровня окисленности-восстановленности клеточных метаболитов, поскольку включение  $CO_2$ -группы в молекулу приводит к заметному повышению степени ее окисленности.

Основным путем включения  $CO_2$  в вещества клетки у хемогетеротрофных прокариотов служат реакции карбоксилирования (слайд 13.7):



В реакциях участвуют ферменты: пируваткарбоксилаза (9), ФЕП-карбоксилаза (10), малатдегидрогеназа (11),  $\alpha$ -кетоглутаратсинтаза (12), изоцитратдегидрогеназа (13).

Автотрофы обладают высоко развитой биосинтетической способностью независимо от того, используют ли они в качестве источника энергии окисление минеральных соединений (хемосинтетики) или энергию света (фотосинтетики). Из одного углеродсодержащего соединения  $CO_2$  они строят все клеточные метаболиты. Основные биосинтетические процессы осуществляются у них в циклических системах реакций.

**Цикл Кальвина**, или восстановительный пентозофосфатный цикл. Он является основным путем фиксации  $CO_2$  у всех высших фотосинтезирующих организмов, функционирует в группе пурпурных бактерий, цианобактерий и прохлорофит (слайд 13.8). Последовательность ферментативных реакций, приводящих к фиксации углекислоты и образованию из нее молекулы гексозы, была расшифрована М. Кальвином (М. Calvin) с сотрудниками в 50-



х гг. В этом цикле впервые акцептором CO<sub>2</sub> выступает вещество углеводной природы – активированная молекула пентозы (рибулозо-1,5-дифосфат).

Специфическими ферментами цикла Кальвина являются:

- фосфорибулокиназа и
- рибулозодифосфаткарбоксилаза.

Эти ферменты синтезируются только микроорганизмами, обладающими способностью усваивать CO<sub>2</sub> в реакциях цикла Кальвина. Первый из них связан с активированием молекулы акцептора путем фосфорилирования, а второй катализирует реакцию акцептирования рибулозо-1,5-дифосфатом молекулы CO<sub>2</sub> и последующее гидролитическое расщепление образовавшейся гексозы на 2 молекулы 3-фосфоглицериновой кислоты (3-ФГК), одна из которых в карбоксильной группе содержит углерод из CO<sub>2</sub>.

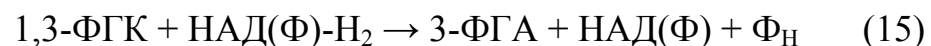
Цикл Кальвина – сложный путь, включающий некоторые реакции гликолиза и пентозофосфатного пути. Его можно условно разделить на три этапа:

фиксация CO<sub>2</sub>,

восстановление фиксированного CO<sub>2</sub> и  
регенерация акцептора CO<sub>2</sub> (слайд 13.9).

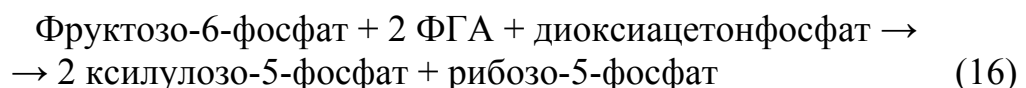
1). Фиксация CO<sub>2</sub> происходит в результате одной реакции, катализируемой ключевым ферментом рибулозодифосфаткарбоксилазой, при этом образуются две молекулы 3-ФГК.

2). Образовавшиеся молекулы 3-ФГК затем подвергаются серии последовательных ферментативных превращений, которые включают реакции, известные в гликолитическом пути, но идущие в обратном направлении (14, 15):



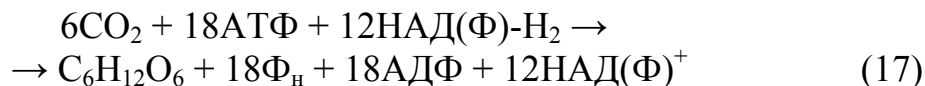
Реакция восстановления 1,3-ФГК до 3-ФГА (15), катализируемая 3-ФГА-дегидрогеназой, у пурпурных и зеленых бактерий зависит от НАД-Н<sub>2</sub>, а у цианобактерий и высших растений – от НАДФ-Н<sub>2</sub>.

3). 3-ФГА превращается во фруктозо-1,6-дифосфат под действием двух ферментов гликолиза. Однако чтобы функционировал этот механизм, необходимо постоянное воспроизведение молекул-акцепторов CO<sub>2</sub>. Остальные ферментативные реакции цикла служат для регенерации рибулозо-1,5-дифосфата и катализируются ферментами, большинство из которых функционирует в окислительном пентозофосфатном пути (16):



Затем пентозофосфаты превращаются в рибулозо-5-фосфат, который фосфорилируется вторым ключевым ферментом цикла Кальвина фосфорорибулокиназой, и таким образом регенерируется акцептор  $\text{CO}_2$ .

Суммарное уравнение восстановительного пентозофосфатного цикла можно изобразить следующим образом (17):



Для синтеза 1 молекулы глюкозы из  $\text{CO}_2$  необходимо 6 оборотов цикла.

Восстановительный пентозофосфатный цикл является основным механизмом автотрофной ассимиляции углекислоты. У большинства фотосинтезирующих бактерий он функционирует с помощью фотохимически образованными АТФ и восстановителями. У большой группы хемоавтотрофных бактерий этот путь фиксации  $\text{CO}_2$  сочетается с темновыми окислительными процессами получения энергии.

**Цикл Арнона**, или восстановительный цикл трикарбоновых кислот. Был обнаружен у зеленых серобактерий (слайд 13.10). В его основе лежат реакции восстановительного карбоксилирования органических кислот. В этом цикле углекислота фиксируется в четырех ферментативных реакциях, две из которых идут при участии фотохимически восстановленного ферредоксина, а одна – таким же путем образованного НАД- $\text{H}_2$ . В результате одного оборота цикла из 4 молекул  $\text{CO}_2$ , 10 [Н] с использованием энергии (3 молекулы АТФ) синтезируется молекула ЦУК – конечный продукт цикла.

Все реакции, в которых происходит фиксация  $\text{CO}_2$  в цикле, функционируют как механизмы хемогетеротрофной фиксации  $\text{CO}_2$  или аналогичны им. Таким образом, реакции фиксации  $\text{CO}_2$  принципиально не новы, они заимствованы из гетеротрофного метаболизма. Шагом вперед можно считать создание определенной последовательности ферментативных реакций, замыкающихся в цикл.

**Глюконеогенез.** Если прокариоты выращивать на средах, где источник углерода – одно-, двух- или трехуглеродные соединения, то необходимые сахара они должны синтезировать из имеющихся в среде источников углерода (слайд 13.11). Ключевым интермедиатом в процессе биосинтеза различных углеводов является глюкозо-1-фосфат. Он образуется из ФЕП, т.е. из неуглеводного источника. Вот почему образование  $\text{C}_6$ -углеводов из неуглеводных предшественников получил название глюконеогенеза. Таким путем могут синтезироваться свободная глюкоза, другие моносахариды, дисахариды, полисахариды и др.

Глюкоза при необходимости может трансформироваться в другие моносахариды: галактозу, маннозу, фруктозу, глюкуроновую кислоту, при участии соответствующих ферментов. Глюконеогенез характерен для гетеротрофных микроорганизмов. Предшественниками могут быть промежуточные продукты цикла Кребса, ацетил-КоА, аминокислоты.

Из синтезированных или поступающих в готовом виде из питательной среды сахаров микроорганизмы могут синтезировать полисахариды. В результате процессов полимеризации и конденсации образуются такие полимеры, как клетчатка, крахмал, хитин, целлюлоза и др. Эти процессы требуют затраты большого количества энергии.

Характерной особенностью синтеза полисахаридов является необходимость затравки. Это короткий сегмент того же полисахарида, который будет синтезироваться; он служит акцептором новых мономерных фрагментов.

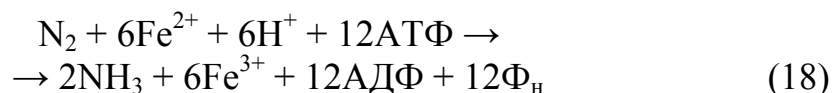
### 13.3. Усвоение минеральных соединений азота

#### 13.3.1. Фиксация азота

Микроорганизмы способны фиксировать свободный азот из воздуха. Прежде чем такой окисленный элемент станет составной частью аминокислот он должен быть восстановлен. Основными компонентами системы фиксации азота являются сильные восстановители: АТФ, ферредоксин или флаводоксин и нитрогеназный комплекс (слайд 13.12).

**Нитрогеназа** – двухкомпонентный ферментный комплекс, каждый компонент которого неактивен в отдельности (слайд 13.13). Молекулярные массы компонентов различны: у большого компонента – 150...270 кДа, малого – 50...70 кДа. Большой компонент – железо-молибден-протеин (молибдоферредоксин), малый – железо-протеин (азоферредоксин).

Восстановление  $N_2$  до  $NH_3$  с участием нитрогеназы происходит по следующей суммарной реакции (18):



Кислород репрессирует синтез нитрогеназы. Ее активность проявляется при низкой концентрации кислорода в газовой среде. Даже аэробные азотфиксаторы осуществляют процесс фиксации азота в микроаэробных условиях. Так, свободноживущий азотфиксатор *Azotobacter* образует слизь, препятствующую диффузии кислорода в клетки. К тому же азотобактер часто находится в ассоциации с не азотфиксирующими аэробами (слайд 13.14).

Клубеньки, где происходит фиксация азота бактериями рода *Rhizobium*, ограничивают доступ молекулярного кислорода. Эту же функцию выполняет леггемоглобин, активно связывающий кислород и контролирующий его поступление в бактериоиды. У цианобактерий стенка гетероцисты надежно отделяет фермент от выделяемого ими кислорода в процессе фотосинтеза.

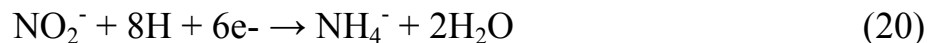
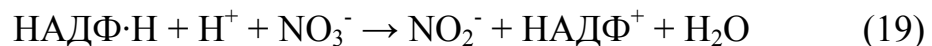
Нитрогеназа восстанавливает не только азот, но и неспецифические для нее субстраты: оксиды азота, цианиды, ацетилен и другие соединения с тройной связью.

Образование нитрогеназы связано с наличием в клетках азотфиксирующих микроорганизмов *nif*-плазмиды, содержащей *nif*-ген, регулирующий синтез этого белка. Передача *nif*-плазмиды от одного вида бактерий к другому может привести к появлению азотфиксирующей способности у новых видов микроорганизмов.

Способность микроорганизмов фиксировать азот атмосферы и обогащать им почву нашла применение в сельском хозяйстве. На основе использования таких микроорганизмов, как клубеньковые бактерии и азотобактер, получают бактериальные удобрительные препараты нитрагин и азотобактерин.

### 13.3.2. Ассимиляционная нитратредукция

Многие микроорганизмы способны восстанавливать нитраты до аммиака – ассимиляционная нитратредукция (слайд 13.15). В этом случае нитрат вначале восстанавливается в нитрит с помощью фермента нитратредуктазы. Донором электронов у бактерий выступает НАД-Н<sub>2</sub>, а у грибов – НАДФ-Н<sub>2</sub>. Нитратредуктаза (*M* = 800 кДа) – тетрамер, состоящий из двух димеров, одна субъединица димера имеет молекулярную массу 150 кДа, другая – 50 кДа. Это также молибденсодержащий фермент. Реакция восстановления нитратов в присутствии нитратредуктазы протекает в две стадии (19, 20):



Аммиак, образующийся различными путями в природе, включается в состав органических соединений, и прежде всего – аминокислот, благодаря трем главным реакциям: аминирования, амидирования и переаминирования.

### 13.4. Синтез аминокислот

Большинство прокариот способны синтезировать все аминокислоты, входящие в состав клеточных белков, но есть виды, нуждающиеся в большинстве аминокислот. В качестве исходных углеродных скелетов для биосинтеза аминокислот служит небольшое число промежуточных соединений различных метаболических путей. Введение в молекулу некоторых из них аминного азота приводит к образованию аминокислот. Однако в большинстве случаев исходные соединения должны подвергнуться значительным перестройкам, чтобы сформировать углеродный остов молекулы будущей аминокислоты.

Аммиак включается в состав аминокислот, благодаря трем главным реакциям: аминирования, амидирования и переаминирования (слайд 13.16).

Реакции аминирования приводят к образованию из пировиноградной кислоты аланина, а из  $\alpha$ -кетоглутаровой – глутаминовой кислоты (слайд 13.17).

Реакции амидирования ведут к образованию глутамина и аспарагина из глутаминовой и аспарагиновой кислот. Глутаминовая кислота и глутамин прямо или косвенно служат донорами амино- и амидогрупп при синтезе практически всех аминокислот и других азотсодержащих органических соединений. Аспарагин используется только для синтеза белковых молекул (слайд 13.18).

Во все остальные аминокислоты азот вводится посредством реакций переаминирования, катализируемых соответствующими аминотрансферазами, во всех реакциях одним из участников является глутаминовая кислота (слайд 13.19).

Еще одним путем включения азота аммиака в состав органических соединений является реакция, катализируемая карбамоилфосфат-синтетазой и приводящая к образованию карбамоилфосфата. Дальнейшее использование азота карбамоилфосфата происходит по двум путям: для синтеза пиримидинов и аргинина (слайд 13.20).

Особенностью биосинтеза аминокислот является использование общих биосинтетических путей. Так, 19 из 20 аминокислот, входящих в состав белков, можно по способу их происхождения разделить на 5 групп. Только одна аминокислота (гистидин) образуется по отдельному биосинтетическому пути (слайд 13.21).

Вновь синтезированные аминокислоты включаются в белки под контролем генетического аппарата клетки.

### 13.5. Регуляция метаболизма

Многообразие обменных процессов, необходимых для синтеза различных веществ и роста клеток, требует их хорошей координации. Регуляция метаболизма – управление скоростью биохимических процессов путем обратимого изменения количества ферментов, участвующих в этих процессах, или их активности. Регуляция клеточного метаболизма происходит на двух уровнях:

- на уровне биосинтеза ферментов,
- на уровне изменения их активности (слайд 13.22).

**На уровне биосинтеза** ферментов регулируются, как правило, многие метаболические процессы (анаболизм и катаболизм). Как выяснилось, экспрессия генов у прокариотов регулируется главным образом на уровне транскрипции. Ферменты и другие белковые посредники можно подразделить на два основных класса: конститутивные и индуцибельные.

Многие ферменты образуются непрерывно вне зависимости от условий среды и наличия в клетке соответствующих субстратов; такие ферменты называют конститутивными. Синтез других белков резко ускоряется в

присутствии их субстратов. Такое явление было названо индукцией, а сами белки – индуцибельными.

Образование катаболических ферментов регулируется путем индукции. Все другие катаболические ферменты, которые клетка способна синтезировать, не должны образовываться, пока в них нет надобности (слайд 13.23).

Если в питательной среде содержится только один субстрат, то в клетках образуются ферменты, необходимые для расщепления именно этого субстрата. Соответственно говорят об индукции ферментов, индуцирующем субстрате и индуцируемых (индуцибельных) ферментах. Для синтеза большинства ферментов, участвующих в катаболизме субстратов, требуется индукция.

Образование анаболических ферментов регулируется путем репрессии. В присутствии конечного продукта или при его накоплении снижается скорость синтеза всех ферментов, специфичных для данного биосинтетического пути. Если в среде имеются одновременно два субстрата, то бактерия обычно «предпочитает» тот субстрат, который обеспечивает более быстрый рост. Синтез ферментов, расщепляющих второй субстрат, репрессируется; в этом случае говорят о катаболитной репрессии (слайд 13.24).

**Регуляция на уровне активности** ферментов свойственна, как правило, только ключевым ферментам клеточного метаболизма. Каталитическая активность ферментов может подвергаться изменениям: повышаться (под действием положительного эффектора) или снижаться (под действием отрицательного эффектора). При ингибировании конечным продуктом (ретроингибировании) этот продукт подавляет активность первого фермента, участвующего в данной цепи реакций (слайд 13.25).

Оба типа регуляции – индукция и репрессия, с одной стороны, и изменение активности фермента, с другой, приводят к почти одинаковому результату: они влияют на «пропускную способность» того или иного метаболического пути. Индукция и репрессия действуют медленно, и их можно рассматривать как механизмы грубой регуляции. Изменение активности ключевого фермента проявляется мгновенно; это уже тонкая регуляция.

### 13.5.1. Регуляция на уровне транскрипции

**Механизмы индукции и репрессии.** Для их реализации необходима высокая степень организации генетического аппарата клетки и существование в геноме специальных кластеров, так называемых оперонов или регулонов. Опероном называют группу функционально связанных между собой генов. Его образуют следующие участки: промотор, оператор, структурные гены и терминатор (слайд 13.26).

Белки, кодируемые генами одного оперона, это, как правило, ферменты, катализирующие разные этапы одного метаболического пути. Транскрипция генов оперона ведет к синтезу одной общей молекулы мРНК.

Промотор представляет собой последовательность оснований, распознаваемую ДНК-зависимой РНК-полимеразой; он служит местом связывания РНК-полимеразы, и от него начинается транскрипция

Оператор представляет собой нуклеотидную последовательность, расположенную между промотором и структурными генами. Он тоже взаимодействует с регуляторным белком-репрессором, от которого зависит, будет ли подавлена транскрипция или она произойдет.

За синтез регуляторных белков ответственны гены-регуляторы, которые, вероятно, являются конститутивными. Они могут располагаться по соседству с соответствующим опероном, но это не обязательно.

За прекращение (терминацию) синтеза мРНК у конца оперона или отдельного гена также ответственна специфическая область – ДНК-терминатор.

Различают индуцибельные и репрессибельные опероны. Опероны, управляющие катаболизмом лактозы, галактозы и арабинозы, являются индуцибельными, т. е. максимальная частота их транскрипции достигается только тогда, когда в питательной среде присутствует внешний эффектор – лактоза, галактоза или арабиноза. Синтез ферментов индуцибельных оперонов включается посредством индукции (слайд 13.27).

Опероны, управляющие синтезом аргинина, гистидина или триптофана, являются репрессибельными, т.е. максимальная частота транскрипции достигается только при отсутствии в клетке соответствующих низкомолекулярных эффекторов аргинина, гистидина и триптофана (слайд 13.28).

### 13.5.2. Регуляция путем изменения каталитической активности

Более быстрое приспособление клетки к резко меняющейся метаболической ситуации достигается путем изменения каталитической активности ферментов (слайд 13.29).

Скорости реакций, катализируемых ферментами, различны и зависят от температуры, рН, количества и активности ферментов, концентрации субстрата и других факторов. Многие вещества, не являющиеся субстратами, могут активировать ферменты (активаторы), другие – тормозить их (ингибиторы). Наиболее часто свойства активаторов проявляют такие кофакторы, как ионы кобальта, магния, марганца, цинка. Аллостерические ферменты активируются преимущественно органическими соединениями.

**Механизмы регуляции.** Скорость ферментативной реакции, т.е. количество субстрата, превращаемое в единицу времени, зависит как от концентраций фермента ( $E$ ) и субстрата ( $S$ ) или продукта ( $P$ ), так и от сродства фермента к субстрату ( $K_m$ ), а также от максимальной скорости реакции ( $V_{max}$ ).  $K_m$  – это константа Михаэлиса-Ментен; она равна той

концентрации субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной. Максимальная скорость реакции достигается при избытке субстрата, т. е. тогда, когда фермент насыщен субстратом.

Уравнение Михаэлиса-Ментен описывает поведение многих ферментов в зависимости от изменений концентрации субстратов (21).

$$V = V_{max} [S] / K_m + [S] \quad (21)$$

**Простые ферменты.** Для большинства ферментов характерна гиперболическая кривая насыщения субстратом. Скорость реакции зависит только от концентраций субстрата и продукта и гиперболически возрастает с повышением концентрации субстрата, т.е. удовлетворяет условиям соотношения Михаэлиса-Ментен. Такие ферменты называют простыми или «гиперболическими» ферментами.

**Регуляторные ферменты.** Свойства регуляторных ферментов более сложны. Кривые насыщения субстратом для большинства этих ферментов часто становятся сигмоидными. У таких кривых имеется область значительно большей крутизны, чем у кривых насыщения для простых ферментов. В этой области регуляторные ферменты очень чувствительны – даже небольшого изменения концентрации субстрата достаточно, чтобы сильно изменить скорость реакции.

Сигмоидная форма кривой указывает на то, что фермент построен из субъединиц, между которыми существуют кооперативные взаимодействия. Регуляторные ферменты состоят из двух или более, чаще всего из четырех, субъединиц (слайд 13.30). Кроме каталитических центров, распознающих и связывающих субстраты, у регуляторных ферментов есть и другие стереоспецифические участки – так называемые аллостерические центры. Это места связывания эффекторов, изменяющих сродство фермента к субстрату. Имеются особые участки для связывания положительных эффекторов (активаторов) и для отрицательных эффекторов (ингибиторов). Под влиянием эффекторов изменяется форма кривой насыщения (степень ее «сигмоидности»).

Аллостерические эффекторы представляют собой низкомолекулярные соединения – это либо конечные продукты биосинтеза, либо вещества, концентрация которых может отражать состояние клеточного метаболизма, например АТФ, АДФ, АМФ, ацетил-СоА, фосфоенолпируват и NADH.

**Модели кооперативности.** Попытки объяснить кооперативность между субъединицами ферментов сводятся к двум гипотезам: «симметричной» модели (Моно) и «последовательной» модели (Кошленд).

В основу обеих моделей положено представление о том, что ферменты могут существовать в различных формах – в активной форме (с высоким сродством к субстрату) и в неактивной (с малым сродством к субстрату). Разница между гипотезами касается того, как происходит конформационное изменение.



Согласно симметричной модели (слайд 13.31), фермент представлен только двумя конформационными состояниями, находящимися в динамическом равновесии; промежуточных состояний нет, существуют только симметричные олигомеры. Поскольку каждая молекула имеет несколько участков для связывания субстрата, небольшого числа молекул субстрата достаточно для того, чтобы привести намного большее число таких участков в состояние высокой каталитической активности; таким образом, облегчается связывание и других молекул субстрата. В этом и состоит кооперативный эффект. Отрицательный эффектор оказывает обратное действие.

В последовательной модели предполагается (слайд 13.32), что фермент приобретает каталитически активную конформацию только в результате взаимодействия с субстратом. Если фермент состоит из нескольких субъединиц, то конформационное изменение одной из них, вызванное субстратом, последовательно передается другим субъединицам и облегчает им связывание добавочных молекул субстрата. Возможно образование несимметричных олигомеров с субъединицами, имеющими разную конформацию. Присутствие активаторов способствует переходу в активную форму, а отрицательные эффекторы его затрудняют.

# ЛЕКЦИЯ № 14. ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ

- 14.1. Действие физических факторов
- 14.2. Действие химических факторов
- 14.3. Действие биологических факторов: симбиоз и антибиоз
- 14.4. Патогенность и вирулентность
- 14.5. Условно-патогенные микроорганизмы (слайд 14.3)

Для прокариотов, как группы в целом, характерна способность к существованию в гораздо большем диапазоне условий внешней среды, чем для эукариотных организмов.

Все факторы внешней среды, оказывающие влияние на существование микроорганизмов, можно разделить на три группы: физические, химические и биологические (слайд 14.4).

Из физических факторов наибольшее значение имеют температура, влажность, осмотическое давление, гидростатическое давление, лучистая энергия, электричество, ультразвук.

Важнейшими среди химических факторов являются реакция среды, окислительно-восстановительные условия, питательные и токсические вещества.

Среди биологических факторов – это взаимодействие микроорганизмов между собой, с растениями и животными (слайд 14.5).

## 14.1. Действие физических факторов

**Температура.** Это один из наиболее мощных факторов, определяющих возможность существования и интенсивность развития микроорганизмов. Приспособления, сформированные у прокариотов для перенесения неблагоприятных условий, в том числе и температурных, - это споры и цисты.

Выделяют три кардинальные точки, определяющие интенсивность роста микробов: минимальную, оптимальную и максимальную (слайд 14.6).

По отношению к температуре микроорганизмы делят на три группы: психрофилы, мезофилы и термофилы.

Психрофилы растут при температуре от  $-10$  до  $+20^{\circ}$  и выше. В свою очередь психрофилы делятся на облигатных и факультативных. В природе большинство психрофилов представлено факультативными формами.

Способность психрофилов расти в условиях низких температур связывают с особенностями их ферментных белков и мембранных липидов. Обязательное условие – нахождение воды в жидком состоянии. Замораживание препятствует росту и размножению микроорганизмов,

поэтому широко используется в лаборатории и служит одним из способов хранения микробных культур.

Большинство известных видов относится к мезофилам, у которых оптимальные температуры роста лежат между 25 и 40 °С, а температурный диапазон, в котором возможен рост, находится между 10 и 45-50 °С. Это обширная группа микроорганизмов, объединяющая сапротрофные и паразитные формы, встречающиеся в почве, воде, воздухе, организме животных и человека.

Группу термофилов делят на 4 подгруппы:

1. Термотолерантные виды растут в пределах от 10 до 55-60 °С, с оптимумом 35-40 °С. Основное их отличие от мезофилов – способность расти при повышенных температурах.

2. Факультативные термофилы имеют максимальную температуру роста 50-65 °С, оптимум близок к верхней границе роста. Особенность этой группы прокариот – способность к росту в области от 20 до 40 °С.

3. Облигатные термофилы способны расти при температурах около 70 °С и не растущие ниже 40 °С. Оптимальная температурная область облигатных термофилов примыкает к их верхней температурной границе роста.

4. Экстремальные термофилы растут при температурах от 60 °С до 110 °С. оптимум в области 80-105 °С. К экстремальным термофилам относятся исключительно археи, не имеющие аналогов среди мезофилов, например представители родов *Thermoproteus*, *Pyrococcus*, *Pyrodictium* и др.

Липиды термофилов имеют более высокие температуры плавления, достигается возрастанием содержания насыщенных жирных кислот в мембранах. Многие исследователи считают, что определяющая роль в термофилии принадлежит белкам, в первую очередь ферментным, и их конформационным изменениям.

Микроорганизмы, имеющие широкие температурные пределы, называются эвритермными. Они обычно обитают в условиях, где температура значительно варьирует. Другая группа – stenothermные организмы – имеют узкие температурные пределы, ее представители обычно находятся в зонах с относительно постоянной температурой.

Человек в своей практической деятельности давно использует бактерицидное действие высокой температуры, на котором основаны большинство способов стерилизации.

**Осмотическое давление.** Концентрация веществ, растворенных во внешней по отношению к микроорганизмам среде, определяет осмотическое давление среды, которое имеет большое значение для процессов жизнедеятельности микробов. Понижение водного потенциала за счет засолки, засахаривания, сушки служит способом сохранения пищевых продуктов от развития организмов (слайд 14.7).

Организмы, развивающиеся при высокой концентрации органических веществ, называют осмоотолерантными, в большинстве это обитатели сиропов. Среди них много эукариотов (мицелиальные грибы и дрожжи).

Соленость тоже действует на клетки как осмотический фактор. Считается, что обитатели пресных вод чувствительны к 3,5%-ной концентрации NaCl, как в морской воде, и в описание организмов обычно входит такой тест. Обитатели ультрапресных вод развиваются в среде с содержанием солей ниже 100 мг/л, в том числе в дистиллированной, дождевой воде или в воде сфагновых болот. Примером могут служить *Caulobacter*, *Spirillum*.

Морские организмы развиваются при солености, равной 2-4 %.

Галофилы развиваются при солености, существенно превышающей соленость морской воды. К умеренным галофилам относятся организмы, имеющие верхний предел солености до 15%.

Экстремальные галофилы развиваются вплоть до насыщения воды NaCl при 30%-ной солености.

Галофильные бактерии требуют ионов натрия для стабильности клеточной мембраны и активности ряда ферментов. Эта потребность в ионах натрия является строго специфичной. Натрий нельзя заменить калием или другим ионом. При уменьшении концентраций NaCl в среде клеточная стенка таких бактерий разрушается и клетки лизируются.

От морских галофилов следует отличать обитателей высокоминерализованных континентальных вод с повышенным содержанием соды (примерно 25%). Поскольку такие воды обычно имеют и высокое значение pH и содержат NaCl, обитателей их относят к галоалкалофилам.

**Излучения.** Эффекты, вызываемые облучением живых организмов, зависят от длины волны излучения и его дозы (слайд 14.8).

Наибольшей длиной волны (более 1500 нм) характеризуются радиоволны. Несколько более короткими (до 760 нм) являются инфракрасные волны. Часть спектра от 760 до 380 нм состоит из лучей, видимых глазом. Еще более короткие (от 380 до 200 нм) волны составляют ультрафиолетовую радиацию. Наиболее коротковолновой является ионизирующая радиация, включающая X-лучи,  $\gamma$ -лучи, космические лучи.

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

Радиоволны не оказывают биологического действия, при адсорбции инфракрасных лучей организмом происходит нагревание. Часть инфракрасных лучей (длина волны менее 1000 нм) и видимый свет действуют на фотосинтезирующие микроорганизмы благоприятно, являясь основным источником энергии. Все остальные бактерии лучше развиваются в темноте.

Фотосинтез, сопровождающийся выделением O<sub>2</sub>, возможен в диапазоне от 300 до 750 нм. Для бактерий, способных к осуществлению бескислородного фотосинтеза, диапазон излучений увеличивается в сторону более длинных волн.

От губительного действия видимого света микроорганизмы предохраняет способность образовывать пигменты.

Действие коротковолнового излучения на организмы приводит к возникновению мутаций или вызывает смертельный исход. Адсорбционный пик для ДНК и РНК наблюдается при 260 нм. Поэтому УФ-радиация с длиной волны 260 нм обладает наиболее выраженным бактерицидным действием: в молекуле ДНК происходит димеризация тимина, вследствие чего подавляется репликация ДНК и клетка теряет способность к делению.

Многие микроорганизмы имеют специфические ферменты, которые могут исправлять повреждения, расщепляя димер тимина. Эти ферменты активизируются видимым светом, вследствие чего весь этот процесс получил название фотореактивации.

Ионизирующая радиация действует на микроорганизмы менее специфично, хотя тоже в основном оказывает влияние на ДНК и вызывает либо бактерицидный, либо мутагенный эффект.

Среди бактерий имеются как очень чувствительные к ионизирующей радиации организмы (*Pseudomonas fluorescens*), так и резистентные к этому виду лучистой энергии формы (*Micrococcus*, *Streptococcus*). *Deinococcus radiodurans* обнаруживают в воде атомных реакторов, в продуктах, обработанных ионизирующей радиацией. Споры *Bacillus* и *Clostridium* высоко устойчивы к ионизирующей радиации.

## 14.2. Действие химических факторов

**Реакция среды (рН)** является важным фактором, определяющим возможность существования прокариот. Влияние ионов водорода на микроорганизмы может быть как прямым, так и косвенным. Последнее связано с воздействием ионов водорода не на бактерии, а на определенные компоненты среды, доступность многих неорганических ионов и метаболитов, стабильность макромолекул, равновесие электрических зарядов на поверхности клетки. Реакция среды оказывает влияние на образование и активность микробных ферментов.

У большинства микроорганизмов оптимум рН = 6-7 и лишь немногие могут расти при рН ниже 2 и выше 10. В зависимости от отношения к кислотности среды прокариоты могут быть разделены на группы (слайд 14.9).

Большинство прокариотов, предпочитающих нейтральные или слабощелочные условия.

Плесневые грибы, дрожжи и некоторые бактерии хорошо развиваются при кислой реакции рН = 5-6. Такие микроорганизмы называют ацидофильными. Существуют как факультативные ацидофилы (дрожжи, грибы), так и облигатные (*Thiobacillus thiooxidans*).

Гнилостные бактерии, напротив, хорошо растут в нейтральной и слабощелочной среде. Оптимум рН для них равен 7-7,6. Существуют

бактерии, которые, лучше развиваются при щелочной реакции. Например, холерный вибрион имеет оптимум  $pH=9$ . Подобные микроорганизмы называют алкалифильными.

Встречающиеся в природе щелочные условия обычно связаны с почвами. Таковы почвы, обогащенные щелочными минералами, экскрементами животных, разлагающимися белками.

От реакции среды зависит устойчивость микробов к действию других факторов. Так, в кислой среде усиливается отрицательное воздействие высокой температуры, в силу чего в кислых растворах свертываемость белков при нагревании происходит легче, чем в нейтральной и щелочной среде.

Отношение микроорганизмов к кислотности среды широко используется для консервирования пищевых продуктов.

**Окислительно-восстановительный потенциал.** Микроорганизмы различаются по своей потребности к молекулярному кислороду: облигатные аэробы, облигатные анаэробы, факультативные анаэробы, микроаэрофилы (слайд 14.10).

Прокариоты, для роста которых необходим кислород, называют облигатными аэробами. К ним относится большинство прокариотных организмов. Некоторые представители этой группы не способны к росту при концентрации  $O_2$ , равной атмосферной, но могут расти, если содержание  $O_2$  в окружающей среде будет значительно ниже (порядка 2%). Такие облигатно аэробные прокариоты получили название микроаэрофилов.

Потребность прокариот в низкой концентрации  $O_2$  в окружающей среде связана с их метаболическими особенностями. Это объясняется ингибирующим действием молекулярного кислорода на активность нитрогеназы азотфиксаторов, а также гидрогеназы у бактерий, окисляющих водород.

Известны прокариоты, для метаболизма которых  $O_2$  не нужен. Такие организмы получили название облигатных анаэробов. К ним относятся метанобразующие архебактерии, сульфатвосстанавливающие, маслянокислые и некоторые другие бактерии. В естественных условиях бескислородными зонами являются грязевые отложения, болота, насыщенные водой почвы, пищеварительные каналы животных, подземные нефтехранилища и др.

Многие из облигатных анаэробов не выносят присутствия даже незначительных количеств молекулярного кислорода в среде и быстро погибают. Такие организмы называют строгими анаэробами. К числу строгих анаэробов относятся представители родов *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Butyrivibrio*, *Methanobacterium* и др., Маслянокислые, молочнокислые бактерии, обладающие метаболизмом только анаэробного типа, могут расти в присутствии воздуха, и выделены в отдельную группу аэротолерантных анаэробов.

Губительное воздействие кислорода на облигатные анаэробы обусловлено тем, что в живой клетке в присутствии кислорода образуется

пероксид водорода, который в больших концентрациях ядовит для бактериальной клетки. Для обезвреживания пероксида водорода клетки аэробных бактерий вырабатывают каталазу, разлагающую  $H_2O_2$  на воду и молекулярный кислород. У анаэробов и факультативных анаэробов каталаза отсутствует, что и является одной из причин их неспособности жить в аэробных условиях.

Совместное развитие анаэробов с облигатными аэробами, активно потребляющими молекулярный кислород, приводящее к образованию зон с низкой концентрацией  $O_2$ , создает возможности и для развития строго анаэробных видов.

Описаны прокариотные организмы, которые могут расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Такие организмы получили название факультативных анаэробов, или факультативных аэробов. В зависимости от наличия или отсутствия  $O_2$  в среде они могут переключаться с одного метаболического пути на другой (молочнокислые бактерии, стрептококки, стафилококки, энтеробактерии). В аэробных условиях они получают энергию в процессе дыхания. В анаэробных условиях источником энергии для них служат процессы брожения или анаэробного дыхания.

**Химические вещества** по-разному действуют на микроорганизмы. Характер действия – стимулирующий или подавляющий – определяется их природой, концентрацией, биологическими свойствами микроорганизма (слайд 14.11).

Вещества-стимуляторы – витамины, аминокислоты, микроэлементы и пр. Так, аммиак на развитие многих бактерий оказывает неблагоприятное воздействие, а для нитрификаторов – это необходимый энергетический материал.

Антимикробные вещества губительно влияют на микроорганизмы. Из неорганических соединений сильным антимикробным действием обладают соли тяжелых металлов – ртути, серебра, свинца. Взаимодействуя с белками протоплазмы, они вызывают коагуляцию белков. Некоторые антимикробные вещества инактивируют ферменты микробов.

Среди органических соединений сильным антимикробным действием обладает этиловый спирт, формальдегид, фенол и др.

Антимикробные вещества, получившие широкое применение для подавления патогенных микробов, называются дезинфицирующими, а прием использования их – дезинфекцией (слайд 14.12). Наибольшее применение для дезинфекции находит 0,5-5,0%-я хлорная известь, 2%-й раствор йода, 1-5%-й раствор карболовой кислоты и др.

Различают бактериостатическое, бактерицидное, бактериолитическое действие, которое соответственно останавливает рост бактерий, убивает клетки, разрушает их.

Возникновение устойчивости к тяжелым металлам, антибиотикам, дезинфектантам, которые широко применяются на практике, включает генетические изменения, часто обусловленные плазмидами.

### 14.3. Действие биологических факторов: симбиоз и антибиоз

Микроорганизмы в природе существуют в тесных ассоциациях друг с другом и с высшими организмами – животными и растениями.

Все формы сосуществования микроорганизмов условно делят на две категории: симбиотические и антагонистические. В некоторых случаях партнеры могут не оказывать друг на друга никакого влияния (нейтрализм).

**Симбиоз** – это длительные естественные ассоциации организмов, сформировавшиеся в процессе приспособления к среде путем естественного отбора. В результате симбиоза оба партнера извлекают выгоду от совместного существования (слайд 14.13).

Типы симбиоза выделяют по нескольким признакам: по обязательности симбиотической связи (факультативный и облигатный); по расположению (эктосимбиозы и эндосимбиозы), по характеру отношений между симбионтами (мутуализм, комменсализм, паразитизм).

Симбиотические взаимоотношения в сообществах микроорганизмов могут проявляться как синтрофные (слайд 14.14). Под синтрофией понимается явление совместного роста двух или более видов микроорганизмов на среде, недоступной каждому виду в отдельности. Если продукты метаболизма одного вида микробов являются пищевым или энергетическим субстратом для другого вида микроорганизмов, такая форма взаимоотношений называется метабиозом.

Примером высокоразвитого симбиоза микроорганизмов и грибов могут служить лишайники (слайд 14.15).

В ризосфере многих растений часто бывает больше бактерий, чем в остальной почве. По-видимому, росту бактерий способствуют здесь питательные вещества, выделяемые корнями.

Микориза – тесная ассоциация корней с грибами. Польза такой ассоциации для гриба состоит в том, что он получает от растения продукты ассимиляции, а для растения – в более эффективном поглощении минеральных веществ (фосфата, связанного азота) из почвы (слайд 14.16).

В случае симбиоза клубеньковых бактерий *Rhizobium* с бобовыми растениями оба ассоцианта получают преимущества от сожительства. Разновидность такого симбиоза называют мутуализмом, или кооперацией (слайд 14.17).

Многие морские рыбы имеют особые светящиеся органы (слайд 14.18), в которых растут светящиеся бактерии (*Photobacterium fisheri*).

Примером мутуалистического симбиоза являются взаимоотношения микрофлоры рубца жвачных животных с организмом хозяина.

Комменсализм – форма симбиоза микробов с макроорганизмом, при которой симбионты пользуются защитой или пищей за счет макроорганизма, не причиняя ему ни пользы, ни вреда, например, нормальная микрофлора тела.



Полезные функции кожной флоры становятся очевидными когда применяемые антибиотики поражают и кожные бактерии. В этом случае начинается размножение дрожжей (*Candida albicans*) и других патогенных грибов.

2. **Антибиоз** – антагонистические взаимоотношения проявляются в подавляющем влиянии одного или нескольких членов микробного сообщества друг на друга. Различают антагонизм пассивный (конкурентный) и активный (слайд 14.19). Особой формой антагонизма являются паразитизм и хищничество (слайд 14.20).

Пассивный антагонизм – взаимодействия, при которых разные микроорганизмы используют одни и те же питательные вещества, конкурируя за пищу и жизненное пространство. В этой борьбе преимущества получают быстрорастущие организмы, нетребовательные к источникам питания. За короткое время они захватывают большую поверхность и тем самым затрудняют доступ к ней других микроорганизмов.

Активный антагонизм обусловлен выделением бактерицидных веществ: антибиотиков, кислот, спиртов, аммиака и др.

Резистентность микроорганизмов к антибиотикам может быть естественной или приобретенной. Естественная устойчивость обусловлена отсутствием у микроорганизмов «мишени» для действия антибиотика. Приобретенная устойчивость может быть обусловлена мутациями в хромосомных генах.

Другими, наиболее резко выраженными формами антагонистических взаимоотношений являются паразитизм и хищничество. Различие между ними в том, что хищники умертвляют свою жертву немедленно, тогда как паразиты питаются за счет живого организма, который остается живым в течение более длительного времени.

Бактерии *Bdellovibrio* являются паразитами грамотрицательных бактерий.

Примером хищников являются грибы рода *Dactylaria*.

## 14.4. Патогенность и вирулентность

Одним из проявлений биологического антагонизма является патогенность микроба. Патогенность – это потенциальная способность микроорганизмов вызывать инфекционный процесс. Патогенность, как видовой признак микроба, генетически детерминирована и кодируется многими генами. В то же время степень выраженности патогенных свойств проявляется в фенотипе по-разному (слайд 14.21).

Для количественного выражения патогенности применяется термин «вирулентность». Высоковирулентные штаммы способны вызывать гибель животного при заражении несколькими микробными клетками, у штаммов с пониженной вирулентностью, смертельные дозы выражаются сотнями тысяч и миллионами особей.

Вирулентность микробов определяют экспериментальным путем на восприимчивых животных. Единицей измерения вирулентности является минимальная смертельная доза – *Dlm* (*Dosis letalis minima*). Это то наименьшее количество живых микробов, которое при определенном способе заражения вызывает за определенное время смертельное заболевание восприимчивого животного стандартной массы и возраста.

Поскольку животные обладают индивидуальной чувствительностью к патогенному микробу, то для более точной характеристики вирулентности устанавливают безусловно смертельную дозу – *Dcl* (*Dosis certa letalis*) или среднюю смертельную дозу –  $LD_{50}$  (*Dosis letalis 50%*) – это наименьшее количество микробов, которое вызывает гибель половины зараженных животных. Последняя единица является наиболее объективным критерием вирулентности патогенных микробов, так как обеспечивает наименьшую ошибку в оценке этого свойства.

Вирулентность не является стабильным признаком микроба. Она может изменяться в зависимости от возраста культуры, условий ее выращивания, состава питательной среды. С другой стороны, вирулентность микроба определяется резистентностью макроорганизма, и, следовательно, может изменяться в зависимости от вида и возраста животного, условий его содержания.

**Факторы патогенности.** Это свойства, обеспечивающие способность проникать и распространяться в макроорганизме, противостоять его защитным приспособлениям и вызывать заболевания (слайд 14.22).

1). Инвазивность. Для того чтобы проникнуть в макроорганизм, патогенный микроб должен преодолеть его слизистые оболочки, кожные покровы и другие тканевые барьеры.

2). Антифагоцитарная активность. Это специфические вещества, которые подавляют реакцию хемотаксиса фагоцитов, блокируют прикрепление микробных клеток к фагоцитам и их поглощение, противодействуют внутриклеточному перевариванию поглощенных микробов, вызывают лизис фагоцитов.

Антифагоцитарные функции могут выполнять капсулы, слизистые образования, оболочечные антигены.

3). Токсигенность – способность вырабатывать токсические вещества – является более поздним эволюционным приобретением патогенных микробов. Все токсические вещества микроорганизмов делятся на внеклеточные и внутриклеточные (экзотоксины и эндотоксины). Токсигенные свойства находятся под контролем *tox*-генов, локализованных в хромосоме или внехромосомных генетических структурах.

4). Адгезивность как фактор патогенности. В ходе эволюции патогенные микроорганизмы приспособились к проникновению в макроорганизм через определенные ткани, где они находят благоприятные условия для своего развития и которые именуются входными воротами инфекции. Мутантные варианты патогенных бактерий, лишенные адгезинов, не обладают патогенными свойствами.

## 14.5. Условно-патогенные микроорганизмы

Представители нормальной микрофлоры препятствуют развитию попавших в организм болезнетворных микробов, синтезируют факторы роста или расщепляют сложные углеводы. Однако, в случае ослабления защитных функций организма, некоторые представители нормальной микрофлоры кишок и верхних дыхательных путей (чаще условно-патогенные бактерии) способны проникать в кровь и вызывать инфекцию. К условно-патогенным микроорганизмам относятся *E. coli*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *P. vulgaris* и др., обитающие на коже и слизистых оболочках ротовой полости и ЖКТ (слайд 14.23). В здоровом организме нормальная микрофлора создает конкурентные условия для патогенных микробов, подавляя их рост и размножение, и оказывает стимулирующее влияние на развитие и функционирование иммунной системы.

Потенциально-патогенные свойства условно-патогенные микробы проявляют при ослаблении защитных сил организма, когда они могут вызывать различные заболевания. Эти нарушения могут быть обусловлены применением антибиотиков, особенно широкого спектра действия, иммунодепрессантов, повышением общего уровня радиации и другими факторами

Потенциально-патогенные свойства проявляются почти у всех представителей нормальной микрофлоры человека. Так, из облигатной микрофлоры кишок одни лишь бифидобактерии считаются непатогенными. Кишечная палочка – постоянный обитатель толстых кишок – может явиться причиной цистита, холецистита, пиелита, септицемии.

Среди облигатных обитателей полости рта в развитии патологических процессов принимают участие вейлонеллы, стрептококки и др.

# ЛЕКЦИЯ № 15. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭКОСИСТЕМЫ

- 15.1. Экологические ниши и экосистемы
- 15.2. Численность и разнообразие микроорганизмов в экосистемах:
  - 15.2.1. Водные экосистемы
  - 15.2.2. Загрязнение водоемов
  - 15.2.3. Почвенные экосистемы
  - 15.2.4. Загрязнение почвы
  - 15.2.5. Микрофлора воздуха
  - 15.2.6. Загрязнение атмосферы
- 15.3. Санитарно-микробиологическая оценка микрофлоры объектов внешней среды (слайд 15.3)

## 15.1. Экологические ниши и экосистемы

Основной единицей в экологии является экосистема. В нее входят как биотические, так и абиотические компоненты. Биотические компоненты микробных экосистем составляют популяции микроорганизмов. Это, как правило, смешанные популяции нескольких видов. Под абиотическими компонентами следует понимать физические и химические условия экосистемы, в которой живут микроорганизмы (слайд 15.4).

Размеры микробных экосистем разнообразны. Это может быть, например, пруд, озеро или корневая система дерева. Возможны и такие малые экосистемы, как ротовая полость человека, рубец жвачного животного или участок кишечника.

**Местообитание.** В пределах экосистемы для каждого вида можно описать его местообитание: это тот участок или жизненное пространство, в котором обычно живет данный организм (или популяция).

Для каждого организма можно указать как минимум одно местообитание, в котором он обычно встречается, где он благополучно растет и развивается и где его с большой вероятностью можно встретить вновь и выделить. Местообитанием могут быть донные отложения моря, плодородная гумусная почва, носовая полость или кишечник человека. В рамках определенной экосистемы микроорганизм имеет, как правило, только одно местообитание; но вообще он может иметь и несколько таких мест, каждое в отдельной экосистеме. Например, бактерии рода *Rhizobium* растут как в почве, так и в растениях.

**Экологическая ниша.** Понятие «экологическая ниша» отражает функцию какого-то вида или популяции в сообществе организмов. Экологическая ниша характеризует «профессию» вида, которая обусловлена потребностями в пище, подвижностью, способом размножения, биохимическими возможностями и т. д.

Экологические ниши могут быть узкими и широкими, что связано с узкой (специалисты) или широкой (генералисты, например, псевдомонады) специализацией организмов по метаболическим возможностям.

Согласно правилу Гаузе, два вида со сходными пищевыми потребностями не могут занимать одну экологическую нишу. Поэтому реализованная экологическая ниша, т.е. занимаемая организмом в действительности, всегда оказывается более узкой, чем потенциальная.

**Обитатели экосистемы.** Согласно концепции, выдвинутой Н.С. Виноградским в 1925 г., микроорганизмы, встречающиеся в экосистеме, можно подразделить на две категории – автохтонные и аллохтонные (слайд 15.5). Автохтонные микроорганизмы являются типичными обитателями данной экосистемы (например, почвы, кишечника) и присутствуют там всегда. Под аллохтонными (или зимогенными) микроорганизмами понимают такие, наличие которых зависит от случайного повышения концентрации питательных веществ или от добавления определенных веществ. Такие виды чужды данной экосистеме, присутствуют в ней временно или пребывают в состоянии покоя.

## 15.2. Численность и разнообразие микроорганизмов в экосистемах

### 15.2.1. Водные экосистемы

Типичными водными экосистемами являются океаны, моря, озера, водохранилища, пруды и проточные водоемы. Вода является естественной средой обитания микроорганизмов. Микрофлора природных вод различается по качественному и количественному составу (слайд 15.6).

**Микрофлора пресных водоемов.** Средой обитания для микроорганизмов внутренних водоемов являются водная толща и иловые отложения. Микрофлора озер и водохранилищ представлена множеством видов, относящихся к различным систематическим группам, и зависит от поступления питательных веществ в водоем. Распределение бактерий зависит от экологических, географических условий.

Наиболее распространенные в водной массе озер средней полосы бактерии родов *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*. Большинство видов принадлежит к бесспорным палочкам, среди которых встречаются извитые формы (*Spirochaeta*, *Spirillum*) и скользящие бактерии (*Cytophaga*, *Cellvibrio*, *Flexibacter*). В большинстве это сапротрофы, но могут встречаться патогенные и условно-патогенные виды (слайд 15.7).

Каждый водоем имеет характерные особенности распределения микроорганизмов, как по вертикали, так и по горизонтали (слайд 15.8). Количество микроорганизмов изменяется в зависимости от метеоусловий и времени года. Зимой микрофлора воды беднее, чем летом.

Численность бактерий в водоемах различного типа зависит от степени эвтрофирования. В олиготрофных водоемах общее содержание бактерий

составляет десятки и сотни тысяч клеток в 1 мл, в мезотрофных – колеблется от 500 тыс. до 1,5 млн. в 1 мл. В евтрофных водоемах численность бактерий может достигать десятков миллионов клеток на 1 мл. Определение численности и видового разнообразия микроорганизмов в водоемах осложняется тем, что основная масса бактерий представлена некультивируемыми формами (НФБ), которые не растут на стандартных питательных средах. Поэтому для изучения микрофлоры водоемов используют люминисцентно-микроскопические и генетические методы исследования.

Подземные воды, родниковые и воды глубоких артезианских колодцев содержат единичные микробные клетки, чем ближе к поверхности расположены грунтовые воды, тем обильнее их микрофлора.

Состав микрофлоры и микрофауны в проточном водоеме служит хорошим индикатором степени его загрязнения. Если в водоеме еще встречаются дафнии – значит, вода чистая. Присутствие нитчатых бактерий *Sphaerotilus natans* указывает на сильное загрязнение органическими веществами, а запах сероводорода свидетельствует об анаэробной сульфатредукции.

**Микрофлора морей и океанов.** Морской фитопланктон представляет значительный интерес ввиду его повсеместного распространения и большого значения в биологической продуктивности Мирового океана. Значительное скопление в поверхностном слое мельчайших морских организмов вызывает изменение его окраски, которое называют цветением моря. Оно бывает красного, коричневого, желтого, молочно-белого и др. цветов. Наблюдается цветение в виде обширных пятен или полос большой протяженности, часто хорошо видимых из космоса (слайд 15.9).

Морские бактериальные сообщества представлены как гетеротрофной, так и автотрофной микрофлорой (слайд 15.10). Следует отметить роль автотрофных микроорганизмов, а именно цианобактерий, обладающих истинным фотосинтезом. К фототрофным бактериям относят также серные пурпурные и зеленые, которые обитают в органических придонных отложениях. Специфичность морского бактериального населения выражается в преобладании грамотрицательных бактерий (*Chromobacterium*, *Bacterium*, *Pseudomonas*).

Бактерии родов *Photobacterium*, *Vibrio* обычны для покровов рыб, а также встречаются в большом количестве в кишечном тракте и специализированных светящихся органах морских животных.

В морских водах также обычны грамположительные кокки родов *Micrococcus* и *Sarcina*, спорообразующие бактерии *Bacillus*, плеоморфные виды *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Azotobacter* и некоторые виды актиномицетов.

В морской воде и иле содержится от 10 млн. до 3 млрд. клеток в 1 мл. Основная масса расположена в прибрежных зонах. На глубине 1 км встречаются единичные представители, а до 4 км они практически отсутствуют.

### 15.2.2. Загрязнение водоемов

Одной из важных экологических проблем, стоящих перед человечеством, является загрязнение вод Мирового океана.

Морские воды загрязняются в результате захоронения различных отходов, выброса мусора и нечистот с кораблей, частых аварий. В Тихий океан ежегодно сбрасывается около 9 млн. т отходов, в воды Атлантики – свыше 30 млн. т. Океаны и моря загрязняются такими вредными для них веществами, как нефть, тяжелые металлы, пестициды, радиоизотопы. Газообразные токсические вещества, как окись углерода, двуокись серы, поступают в морскую воду из атмосферы. В городах близ береговой линии в морской воде нередко обнаруживается патогенная микрофлора. Степень загрязненности постоянно растет. Способности воды к самоочищению порой оказывается недостаточной, чтобы справиться с постоянно увеличивающимся количеством сбрасываемых отходов.

К числу наиболее вредных химических загрязнений относятся нефть и нефтепродукты. Ежегодно в океан попадают десятки млн. т нефти. Нефтяная пленка изменяет все физико-химические процессы: повышается температура поверхностного слоя воды, ухудшается газообмен, рыба уходит или погибает. Меняются гидробиологические условия в океане, оказывается влияние на баланс кислорода в атмосфере, а значит непосредственно на климат. Уменьшается первичная продукция океана. Очень ядовиты растворимые компоненты нефти (слайд 15.11).

Летучие соединения постепенно испаряются, но для удаления основной части нефтяных пятен требуется вмешательство человека. Наиболее эффективным и распространенным способом очистки поверхностей морей и океанов является механический сбор нефти. Существуют также химические способы очистки (дисперсия, осаждение), возможно сжигание нефти. Помимо этого в воде идет работа углеводородоксилирующих микроорганизмов.

Основные представители микробов, участвующих в очистке сточных вод от нефтепродуктов – бактерии из родов *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, дрожжи родов *Candia*, *Rhodotorula* (слайд 15.12).

Развитие городского хозяйства и благоустройство населенных мест приводит к тому, что сточные воды становятся очень серьезным видом загрязнения окружающей среды. Они являются переносчиками болезней человека: брюшного тифа, дизентерии, холеры; содержат значительное количество кислородопоглощающих веществ. В современных условиях увеличивается опасность и таких эпидемических заболеваний как холера, брюшной тиф, дизентерия и др.

Другим опасным загрязнителем не только грунтовых, но в ряде случаев и артезианских вод являются нитраты. Источник загрязнения – применение высоких доз минеральных удобрений. Очистка сточных вод, проводимая на

предприятия и городских очистных сооружениях, позволяет с помощью микрофлоры активного ила утилизировать и обезвредить все загрязняющие вещества (слайд 15.13).

### 15.2.3. Почвенные экосистемы

Почва является естественной средой обитания микроорганизмов, включает три фазы: твердую, жидкую и газообразную (слайд 15.14).

Основное место обитания микроорганизмов – твердая фаза, содержащая запасы питательных веществ. До 90% микроорганизмов находится в адсорбированном состоянии на поверхности почвенных частиц. Адсорбция клеток повышает устойчивость микроорганизмов к воздействию неблагоприятных факторов, предотвращает их вымывание, способствует сохранению постоянства процессов круговорота веществ в почве.

Жидкая фаза – почвенный раствор – образует вокруг почвенных частиц водные пленки, содержащие минеральные, органо-минеральные и органические вещества. Соотношение их неодинаково в почвах различных типов, меняется по горизонтам и по сезонам года.

Газообразная фаза – это воздух почвенных пор, не заполненных водой. Поры составляют 25-70% объема почвы. Состав почвенного воздуха отличается от атмосферного тем, что содержит в 10-100 раз больше углекислого газа и значительно меньше кислорода (в 2-4 раза). Содержание воздуха в почве зависит от ее влажности: газ и вода в почве – антагонисты.

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

Из внешних факторов, существенно влияющих на развитие микроорганизмов в почве, основным является температура (слайд 15.15). Лучше всего почвенные микроорганизмы развиваются при температуре 15-25 °С, но могут встречаться термофильные (оптимум 50 °С) и криофильные, развивающиеся при температуре, близкой к 0 °С. Микроорганизмы обитают главным образом в самом верхнем, или перегнойном, горизонте почвенного профиля, отличающегося большой амплитудой колебаний температур, зависящей от времени года, характера местности и даже от времени суток, от температуры воздуха, поэтому почвенные микроорганизмы обладают большой пластичностью в отношении температур.

Почвы различаются по содержанию воды: слишком сухие и слишком влажные ограничивают рост и развитие микроорганизмов. Оптимальной для большинства микроорганизмов является влажность, равная 50-60% максимальной влагоемкости.

Засоленные почвы беднее микроорганизмами, однако, некоторые грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium* хорошо развиваются на субстратах с 20-



30% NaCl, некоторые почвенные микроорганизмы развиваются при высоких концентрациях минеральных солей (осмофильные).

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

Почвенные микроорганизмы неодинаково распространены по горизонтам почвы. Наибольшее количество микроорганизмов обитает в верхнем 10-сантиметровом слое почвы. Чем глубже расположен горизонт почвы, тем меньше в нем микроорганизмов (слайд 15.16).

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

Из микробиологических процессов, происходящих в почве, наибольшее значение имеют минерализация растительных и животных остатков, образование гумуса и его разложение. В растительном опаде содержатся сахара, аминокислоты, белки, которые быстро потребляются микроорганизмами. Минерализация нерастворимых в воде соединений (целлюлозы, гемицеллюлозы) идет медленно, с участием немногих видов, прежде всего грибов. Лигнин – главный исходный продукт для образования гумуса – является наиболее устойчивым соединением и разлагается микроорганизмами очень медленно – месяцы и годы.

Почвенные микроорганизмы условно подразделяются на несколько групп. Микроорганизмы, разлагающие свежий растительный опад, С.Н.Виноградский назвал зимогенной микрофлорой (слайд 15.17). К зимогенным представителям принадлежат многие вездесущие почвенные бактерии (*Bacillus*, *Pseudomonas* и др.). Если в почве мало легкоразлагаемых питательных веществ, зимогенные микроорганизмы переходят в покоящуюся форму или погибают.

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

К автохтонным обитателям экосистем относятся обычно высокоспециализированные организмы, такие как нитрифицирующие, или олиготрофные бактерии (*Microcystis*, *Hyphomicrobium*, *Agrobacter*, *Caulobacter* и др.).

В разных типах почв соотношение групп бактерий неодинаково, изменяется и видовой состав представителей различных групп. Количественные показатели содержания микроорганизмов зависят от метода исследования.

#### 15.2.4. Загрязнение почвы

Почва подвергается колоссальному антропогенному воздействию, поступающие в почву загрязнители оказывают неблагоприятное воздействие на свойства почвы, ее плодородие, урожайность возделываемых культур. Однако и сама почва может служить местом очистки различного рода загрязнений; ее самоочищение в значительной степени зависит от деятельности почвенных микроорганизмов (слайд 15.18).

Большую угрозу для почвы представляют загрязнения нефтью, пестицидами, тяжелыми металлами. В результате перегрузки могут происходить значительные нарушения процессов самоочищения. Ингибирующее действие тяжелых металлов показано для протекания таких микробиологических процессов, как дыхание почвы, разложение целлюлозы, азотфиксацию, процессы аммонификации и нитрификации.

В почвах загрязненных углеводородами нефти выявлены представители родов бактерий *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и аспорогенных дрожжей родов *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, *Torulopsis*, *Trichosporon*. В последнее время предлагается использование методов генной инженерии для создания высокоактивных культур углеводородокисляющих микроорганизмов (слайд 15.19).

К деградации пестицидов способны микроорганизмы различных таксономических групп. Это бактерии родов *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Bacterium*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, актиномицеты рода *Nocardia*, грибы родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Phaseolis*, *Stachybotrys*.

На основе комменсализма и в условиях кометаболизма, или соокисления, может происходить полная минерализация пестицидов в природе.

#### 15.2.5. Микрофлора воздуха

Воздух не является местом обитания микроорганизмов, но служит местом их повсеместного распространения: там, куда поступает воздух, могут быть и микроорганизмы. Обилие солнечных лучей приводит к их массовой гибели, а отсутствие источников питания исключает возможность размножения. Однако в атмосфере всегда содержится определенное количество жизнеспособных клеток. Повсеместное распространение микроорганизмов воздушными потоками составляет часть так называемой микробиологии атмосферы. Фактор географической изоляции, столь важный для животных и растений, для бактерий и грибов практически не имеет значения.

Количество микроорганизмов в воздухе уменьшается по мере удаления от поверхности земли. Верхняя граница жизни пока не установлена.

Видовой состав микрофлоры атмосферы носит случайный характер и потому сильно колеблется. Среди микроорганизмов преобладают пигментные формы (*Streptococcus*, *Sarcina*) и дрожжи, которые более устойчивы (за счет наличия каротиноидов) к УФ-лучам, а также споры бактерий и грибов (слайд 15.20).

Очень богат микроорганизмами воздух закрытых помещений, особенно таких, где неизбежно массовое скопление людей, сопровождающееся поднятием пыли.

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

### 15.2.6. Загрязнение атмосферы

Изменения состава воздуха, отмечаемые на больших пространствах, не всегда вызваны действиями человека, они могут быть результатом биологических процессов в местах, не затронутых антропогенным влиянием. Так, например, над огромными площадями, занятыми хвойными лесами, происходит скопление терпенов и изопренов, над болотами скапливается метан, над очагами гнилостных процессов  $H_2S$  и  $NH_3$ ; вулканы выбрасывают весьма существенные количества  $SO_2$ ,  $H_2$ ,  $CO$  и  $H_2S$ . То же можно сказать о пыли и аэрозолях, состоящих из спор, пыльцы, органических и минеральных частиц, поднимаемых пыльными или песчаными бурями, а также поставляемых выбросами вулканического происхождения. Так что провести четкую грань между антропогенным и природным загрязнением воздуха не представляется возможным. Однако, загрязнение атмосферы веществами, которые до индустриализации вовсе отсутствовали или имелись лишь в весьма незначительных количествах, за последние десятилетия приняло угрожающие размеры. В результате воздействия ряда веществ появляются заболевания: аллергические, генетические, респираторные.

Загрязнение атмосферы – это в первую очередь локальная проблема, но вещества, поступающие из локального источника, рассеиваются в атмосфере и постепенно удаляются под воздействием разного рода стоков (слайд 15.21).

Набор веществ, загрязняющих воздух, очень широк. Органические загрязнения представлены в первую очередь широким набором углеводородов, в том числе канцерогенных. В их окислении активно участвуют микроорганизмы. Газообразные неорганические вещества –  $SO_2$ ,  $H_2S$ ,  $NO_2$ ,  $Cl_2$ ,  $CO$ ,  $SiF_4$ ; радионуклиды, а также сажа, токсичная пыль, обогащенная оксидами металлов, свинцом, мышьяком. Для некоторых из этих веществ установлены предельно допустимые концентрации (ПДК).

Важнейшим природным компонентом, обеспечивающим удаление CO из атмосферы, считается почва с присутствующими в ней карбоксибактериями. Активным является верхний хорошо аэрируемый слой почвы 10-15 см.

Таким образом, почти все перечисленные газы образуются при различных технических процессах и изучение их распределения в атмосфере, путей удаления представляет обширную область знаний. Вместе с тем, при глобальных расчетах техногенная продукция составляет лишь более или менее значительную часть от природной продукции. Лучшее понимание микробных механизмов удаления загрязнений поможет уменьшить психологическое воздействие проблемы на общественное мнение.

### 15.3. Санитарно-микробиологическая оценка микрофлоры объектов внешней среды

Одной из важнейших особенностей санитарно-микробиологического подхода к оценке объектов внешней среды (воды, почвы, воздуха) является совместный учет качественных и количественных показателей. Когда санитарному микробиологу приходится судить о потенциальной опасности какого-либо объекта для здоровья людей, количественная оценка его микрофлоры оказывается столь же важной, как и качественная (слайд 15.22).

Общее микробное число (ОМЧ) – количество микроорганизмов в определенном объеме исследуемого субстрата. При этом исходят из предположения о том, что вероятность проникновения в объект потенциально опасной микрофлоры будет тем выше, чем большими окажутся величины ОМЧ. Этот показатель имеет определенную сравнительную ценность и поэтому широко используется в санитарно-микробиологической практике. Определяется при высеве разведений методом Коха или микроскопическими методами.

**Анализ микрофлоры воды.** При санитарно-микробиологических исследованиях воды определяют ОМЧ в 1 мл воды и количество санитарно-показательных микроорганизмов (*E. coli*) – коли-титр или коли-индекс. Коли-титр – наименьший объем воды в миллилитрах, содержащий одну кишечную палочку; коли-индекс – число кишечных палочек в 1 л воды (слайд 15.23).

При специальном санитарно-микробиологическом исследовании воды также учитываются патогенные микроорганизмы: возбудителей дизентерии, брюшного тифа, паратифа А, Б и холеры.

В соответствии с ГОСТ 2874-82 общее микробное число не должно превышать 100 клеток в 1 мл. Вода, содержащая от 100 до 500 клеток в 1 мл, считается сомнительной, а выше 500 клеток – непригодной для питья. Коли-индекс не более 3 клеток в 1 л, а коли-титр – не менее 300 мл.

**Анализ микрофлоры почвы.** Бактериологическое исследование включает: определение ОМЧ, количества микроорганизмов различных

эколого-трофических групп, санитарно-показательных микроорганизмов (кишечной палочки). Чистая почва не содержит ни одной кишечной палочки на 1 г почвы; слабозагрязненная – 10-100; умереннозагрязненная – 100-1000; сильнозагрязненная – более 1000.

**Анализ микрофлоры воздуха.** В целях санитарной оценки воздуха проводят исследование общего количества микроорганизмов в определенном его объеме (1 м<sup>3</sup>), а также наличие в воздухе возбудителей заболеваний (слайд 15.24).

Санитарная оценка воздуха помещения осуществляется по двум микробиологическим показателям: общему количеству бактерий и количеству санитарно-показательных микроорганизмов в 1 м<sup>3</sup> воздуха. Санитарно-показательными микроорганизмами служат гемолитические стрептококки и стафилококки – постоянные обитатели верхних дыхательных путей, слизистой носа и ротовой полости человека. Это *Streptococcus viridans* – зеленающий стрептококк и *Streptococcus haemolyticus* – гемолитический стрептококк (слайд 15.25). В воздухе операционных не допускается присутствие микроорганизмов. Микробное число для пищевых учреждений – не более 500 клеток, для жилых помещений ~ 1500 клеток в 1 м<sup>3</sup>. Допускается содержание стафилококков в воздухе пищевых учреждений 16 клеток и жилых – 38 клеток в 1 м<sup>3</sup>.

Гноеродный (золотистый) стафилококк (*Staphylococcus aureus*) используется в качестве санитарно-показательного микроорганизма в хирургических палатах и родильных домах. В 250 л воздуха не должно содержаться ни одного стафилококка.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микроорганизмы уже в течение тысячелетий используются человеком в разнообразных процессах. Долгое время микробиология оставалась описательной наукой, развитие ее прикладных направлений в основном базировалось на методе проб и ошибок, а не на рациональном подходе, обеспеченном глубоким знанием механизмов соответствующих процессов. В настоящее время известно огромное число микроорганизмов и их список постоянно пополняется. Новая эра началась с развитием молекулярно-генетических методов. С 1976 г. в практику исследований вошло определение нуклеотидных последовательностей ДНК. Первым был расшифрован геном *Haemophilus influenzae*, к настоящему времени известны геномы нескольких бактерий: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus* и др. Текущие проекты – расшифровка геномов *Aquifex thermophilus*, *Borrelia burgdorferi*, *Clostridium beijerinckii*, *Deinococcus radiodurans*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Synechococcus sp.*, *Thermotoga maritima* и др. Выбор этих организмов объясняется их ролью в экологии, промышленности и медицине.

В перспективе можно ожидать, что изучение каждого нового микроорганизма будет начинаться с расшифровки его нуклеотидной последовательности. Полученные данные обеспечат качественный скачок в развитии микробиологии, особенно ее прикладной части, связанной с созданием генетически модифицированных организмов (ГМО). С их помощью можно решать такие задачи, как биodeградация загрязнений, повышения урожайности сельскохозяйственных культур, получение промышленных штаммов-сверхпродуцентов важных биологически активных веществ и т. д.

Однако в связи с генной технологией неизбежно будут вставать вопросы в области этики, экономики, законодательства и экологической безопасности из-за возможного влияния ГМО на живые организмы. Поиск ответов на эти вопросы – дело не только нашего ближайшего будущего, но и многих последующих поколений.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. АЛЕШУКИНА Анна Валентиновна. Медицинская микробиология: учебное пособие / Анна Валентиновна Алешукина. - Ростов-на-Дону: Феникс, 2003. - 473 с.
2. ВОРОБЬЕВ Анатолий Андреевич. Медицинская и санитарная микробиология: учебное пособие по микробиологии, вирусологии, иммунологии для студентов медицинских вузов: рекомендовано Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России / Анатолий Андреевич Воробьев, Юрий Семенович Кривошеин и Владимир Павлович Ширококов. - Москва : Академия [Academia], 2003 . - 462 с.
3. ГОТТШАЛК Герхард. Метаболизм бактерий = Bacterial Metabolism: пе-ревод с английского / Герхард Готтшалк. - Москва: Мир, 1982. - 310 с.
4. ГРОМОВ Борис Васильевич. Строение бактерий: учебное пособие / Бо-рис Васильевич Громов; кол. авт. Ленинградский университет им. А.А. Жданова [ЛГУ]. - Ленинград: Ленинградский университет [ЛГУ], 1985 . - 192 с.
5. ГУСЕВ Михаил Викторович. Микробиология: учебник для вузов по направлению 510600 "Биология" и биологическим специальностям: рекомендовано Министерством образования РФ / Михаил Викторович Гусев и Людмила Анатольевна Минеева. - 4-е изд., стер. - Москва: Академия [Academia], 2003. - 462 с.
6. ГУСЕВ Михаил Викторович. Микробиология [Электронный ресурс]: рекомендовано Комитетом по высшей школе Миннауки России в качестве учебника для студентов биологических специальностей университетов / Михаил Викторович Гусев и Людмила Анатольевна Минеева . - 3-е изд., - Москва: Московский университет им. М.В. Ломоносова [МГУ], 1992-2001. Формат: HTML, 300 стр. 2001 г.  
<http://evolution.powernet.ru/library/micro/>  
<http://www.medbook.net.ru/010512.shtml>
7. ЗАВАРЗИН Георгий Александрович. Лекции по природоведческой микробиологии / Георгий Александрович Заварзин; отв.ред. Наталья Нико-лаевна Колотилова; кол.авт. Российская академия наук [РАН]. Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского. - Москва: Наука, 2003 . - 348 с.
8. Мир растений: в 7-ти томах / Коллект. автор, гл.ред. Тахтаджян, А. Л.; - 2-е изд., перераб. - Москва: Просвещение. - Т 2. Грибы / под ред. М. В. Горленко, 1991. - 475 с.
9. Общая микробиология: учебное пособие для биологических факульте-тов университетов: допущено Министерством высшего и среднего спе-циального образования СССР / Лариса Георгиевна Бранцевич, Ирина

Александровна Василевская и Лия Николаевна Лысенко; под ред. Апполинарий Ефимович Вершигора. - Киев: Выща школа, 1988 . - 342 с.

10. Определитель бактерий Берджи = Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: в 2 т. / Коллект. автор; под ред. Хоулт, Джор Г. (биология); под ред. Криг, Н.; под ред. Снит, П.; под ред. Стейли, Дж., под ред. Уилльямс, С. - Москва: Мир, 1997.

11. ПОЗДЕЕВ О. К.. Медицинская микробиология: учебник для медицинских вузов: рекомендовано УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию РФ / О. К. Поздеев; под ред. Валентин Иванович Покровский. - Москва: Гэотар-Медиа, 2002 . - 765 с.

12. ПРУДНИКОВА Светлана Владиславна. Микробиология. Руководство для работ по малому практикуму: учебное пособие для студентов биоло-гических специальностей: рекомендовано Сибирским региональным учебно-методическим центром высшего профессионального образования / Светлана Владиславна Прудникова, Валентина Мартыновна Гука-сян и Наталья Ивановна Сарматова; кол.авт. Красноярский университет [КрасГУ]. Биологический факультет. - Красноярск: Красноярский университет [КрасГУ], 2004. - 103 с.

13. Современная микробиология: Прокариоты: в 2-х томах: Т. 1. Пер. с англ./Коллект. автор.; под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. – М.: Мир, 2005. – 656 с.

14. Современная микробиология: Прокариоты: в 2-х томах: Т. 2. Пер. с англ./ Коллект. автор.; под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. – М.: Мир, 2005. – 496 с.

15. ШЛЕГЕЛЬ Ганс Гюнтер. Общая микробиология = Allgemeine Mikrobiologie: Перевод с немецкого / Ганс Гюнтер Шлегель. - Москва: Мир, 1987 . - 566 с.

16. ШЛЕГЕЛЬ Ганс Гюнтер. История микробиологии = Geschichte der Mikrobiologie: перевод с немецкого / Ганс Гюнтер Шлегель. - Москва: УРСС, 2002. - 302 с.