

## ВВЕДЕНИЕ

Пособие подготовлено на базе курса лекций, которые читаются авторами студентам агрономического профиля, и призван обеспечить необходимый уровень их подготовки в соответствии с утвержденной программой. Цель пособия – представить современную информацию о состоянии сельскохозяйственной микробиологии, включая данные отечественных и зарубежных ученых.

Микробиология (от греч. *micros* – малый, *bios* – жизнь, *logos* – наука) – это наука о микроскопически малых существах, называемых микроорганизмами. Микроорганизмы можно увидеть только в увеличительные приборы – микроскопы. К микроорганизмам относятся бактерии, археи, вирусы, микроскопические грибы, некоторые протисты. Микробиология изучает биологические свойства микроорганизмов, их роль в различных процессах, происходящих в природе и хозяйственной деятельности человека, взаимодействие с внешней средой и более сложными организмами, а также устранение вредного влияния микроорганизмов.

Микроорганизмы составляют значительную часть живого вещества планеты, они очень распространены в природе. Их общая масса на планете примерно в 25 раз превышает массу всех животных. Встречаются они повсеместно: в почве, воде, воздухе, на поверхности растений, животных и т.д. Микроорганизмы встречаются в полярных льдах, песках пустынь, в глубочайших пещерах, в горячих источниках, на морском дне, в космосе. В 1 г пахотного слоя почвы количество микроорганизмов исчисляется сотнями миллионов и даже миллиардами, что составляет примерно 1 т/га. В 1 м<sup>3</sup> воздуха содержится от нескольких микробных клеток до десятков тысяч. Очень много их на коже человека, а при чихании выделяется до 150 тыс. бактерий.

Как и всякая наука, микробиология бывает общая и частная. Общая микробиология изучает закономерности строения и жизнедеятельности микроорганизмов на всех уровнях: молекулярном, клеточном, популяционном; генетику и взаимоотношения их с окружающей средой. Частная делится на медицинскую, ветеринарную, сельскохозяйственную, морскую, космическую, техническую.

*Медицинская микробиология* изучает патогенные для человека микроорганизмы: бактерии, вирусы, грибы, простейшие. В зависимости от природы изучаемых патогенных микроорганизмов меди-

цинская микробиология делится на бактериологию, вирусологию, микологию, протозоологию.

*Ветеринарная микробиология* изучает те же вопросы, что и медицинская микробиология, но применительно к микроорганизмам, вызывающим болезни животных.

*Сельскохозяйственная микробиология* изучает микроорганизмы, играющие роль в повышении плодородия почвы, создании бактериальных удобрений, производстве кормов, хранении сельскохозяйственной продукции и др.

*Морская и космическая микробиология* изучают соответственно микрофлору морей и водоемов, космического пространства и других планет.

*Техническая микробиология*, являющаяся частью биотехнологии, разрабатывает технологию получения из микроорганизмов разнообразных продуктов для народного хозяйства и медицины (антибиотики, вакцины, ферменты, белки, витамины). Основа современной биотехнологии – генетическая инженерия.

**Основной задачей** сельскохозяйственной микробиологии микробиологии является изучение свойств микроорганизмов с целью использования полезных для человека в различных отраслях сельского хозяйства, предотвращение развития болезнетворных микроорганизмов и профилактика инфекционных заболеваний.

***Методы исследований в микробиологии:***

1. Микроскопирование с применением световых, электронных микроскопов;
2. Выделение культур микроорганизмов и их культивирование;
3. Исследование по продуктам жизнедеятельности, т.е. биохимические.

Материал пособия предназначен для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальностям: 1-74 02 01 Агротомия, 1-74 02 02 Селекция и семеноводство, 1-74 02 03 Защита растений и карантин, 1-74 02 04 Плодоовощеводство, 1-74 02 05 Агротомия и почвоведение, и призван обеспечить необходимый уровень их подготовки в соответствии с утвержденной программой.

## 1. ЗНАЧЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПРИРОДЕ И ЖИЗНИ ЧЕЛОВЕКА

Особенностью микроорганизмов являются необычайная простота и очень малый размер. Повсеместное их распространение, быстрое размножение и особенности метаболизма накладывают отпечаток на жизнь всей планеты. Огромна их роль в круговороте углерода, азота, фосфора, железа, серы и других элементов. Без микроорганизмов приостановился бы круговорот веществ и жизнь на Земле стала невозможной. В связи с этим знание их морфологии, физиологии, генетики, систематики необходимо для формирования целостного представления о биосфере.

Велика роль микроорганизмов в первичном почвообразовательном процессе. Они первыми поселяются на материнской горной породе, образуют в процессе жизнедеятельности органические и минеральные кислоты, ускоряя растворение и выветривание горных пород, вовлечение освобожденных минералов в биологический круговорот.

Огромное количество микроорганизмов участвуют в образовании гумуса, поддерживают и повышают плодородие почв. Жизнедеятельность микроорганизмов обеспечивает доступность гумуса для растений; многие микроорганизмы образуют в процессе метаболизма и выделяют во внешнюю среду различные органические и неорганические кислоты, под действием которых нерастворимые в воде соли переходят в растворимую форму, благодаря чему улучшается питание растений.

Ряд микроорганизмов участвуют в фиксации азота из воздуха, переводят его в доступную для растений форму. Это способствует повышению его содержания в почве, как основного элемента питания лимитирующего рост и развитие растений.

Микроорганизмы участвуют в минерализации (гниении) органических веществ, выполняя санитарную функцию, а также в самоочищении водоемов, в системах биологической очистки сточных вод. Минерализация органических веществ имеет большое значение, так как при этом процессе необходимые растениям элементы питания переходят из недоступной для них формы в доступную. Микроорганизмы способны разлагать ксенобиотики – искусственно созданные человеком органические вещества (пестициды, поверхностно-активные вещества, упаковочные материалы и др.). Если бы

не микробная деградация этих ксенобиотиков, они бы бесконечно накапливались в окружающей среде, загрязняя ее.

Микроорганизмы широко используются в народном хозяйстве (в сельском хозяйстве, пищевой, медицинской, перерабатывающей и других отраслях). Человек с древних времен интуитивно использовал уникальные особенности микроорганизмов, даже не подозревая об этом. С давних пор процессы брожения применялись при приготовлении теста для хлеба, пива, вина.

В настоящее время микроорганизмы широко используют для производства белка, аминокислот (лизин, треонин, пролин, глутамин), витаминов (В<sub>12</sub>, рибофлавин), ферментов (амилазы, пектиназы, целлюлазы, липазы), гормонов, органических кислот (лимонная, молочная, масляная, уксусная), спиртов, глицерина, ацетона и т. д. Так, по скорости производства белка, микроорганизмы не имеют себе равных. В организме коровы массой 500 кг в течение суток образуется около 0,5 кг белка, а 500 кг дрожжевых клеток за сутки синтезируют более 50 000 кг белка, т.е. в 100 тыс. раз больше.

Многие микроорганизмы приносят человеку, животным, растениям большой вред, являясь возбудителями различных заболеваний. За небольшой период времени практически ликвидированы возбудители оспы, малярии, чумы, холеры. С участием микроорганизмов получают витамины, гормоны, вакцины, сыворотки, антибиотики и другие лечебные препараты. В настоящее время особое внимание уделяют злокачественным опухолям и СПИДу.

Активно применяются микроорганизмы в металлургии для извлечения металлов (медь) из руд. В перспективе – добыча золота, свинца, германия, лития. Микроорганизмы могут приносить вред металлическим сооружениям. Например, при строительстве метрополитена в Киеве и Харькове металлические крепления превратились в труху. Это результат деятельности железобактерий, которые в большом количестве находились в слое рыхлых песчаников. Некоторые микроорганизмы способны создавать металлы. По мнению ученых, важнейшие месторождения железа и серы имеют бактериальное происхождение. Активно используются микроорганизмы для получения метана, при добыче нефти, т.е. получении энергетического сырья.

Таким образом, микробиология вносит большой вклад в решение многих практических задач, проблем здравоохранения и сельского хозяйства.

## 2. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИИ

Микробиология прошла длительный путь развития, исчисляющийся многими тысячелетиями. Уже в VI-V тысячелетия до н.э. человек пользовался плодами деятельности микроорганизмов, не зная об их существовании. Виноделие, хлебопечение, сыроделие, выделка кож, не что иное, как процессы, проходящие с участием микроорганизмов. На протяжении тысячелетий человек страдал от микроорганизмов, если они являлись причиной болезней, но даже не подозревал об их существовании. Тогда же, в древности, ученые и мыслители предполагали, что многие болезни вызываются какими-то посторонними невидимыми причинами, имеющими живую природу.

Следовательно, микробиология зародилась задолго до нашей эры. В своем развитии она прошла несколько этапов, не столько связанных хронологически, сколько обусловленных основными достижениями и открытиями.

Историю развития микробиологии можно разделить на пять периодов:

1. Эвристический (IV - III вв. до н.э. – середина XVI в.)
2. Морфологический (конец XVII – 1-я половина XIX века);
3. Физиологический (2-я половина XIX века – начало XX века);
4. Биохимический (начало XX – середина XX века);
5. Молекулярно-генетический (середина XX в. – XXI век).

### **Эвристический период.**

Этот период связан скорее с логическими и методическими приемами нахождения истины, то есть эвристикой, чем с какими-либо экспериментами и доказательствами. Мыслители этого периода древнегреческий врач Гиппократ (ок. 460-377 гг. до н.э.), Авиценна (ок. 980-1037 гг. и др.) впервые высказали предположения о том, что заболевания вызывают невидимые существа. Эти представления были сформулированы в стройную гипотезу спустя многие столетия в сочинениях итальянского врача и астронома Джироламо Фракасторо (1478-1553 гг.). Он высказал идею, что болезни передаются от человека к человеку мельчайшими живыми существами, однако это он не смог доказать. Для предохранения от болезней им были рекомендованы изоляция больного, карантин, ношение масок, обработка предметов уксусом.



Гиппократ (460-377 гг. до н.э.)

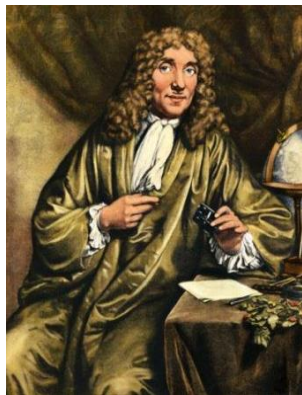


Джироламо Фракасторо (1478-1553 гг.)

**Морфологический период** начинается с открытия микроорганизмов голландским ученым-натуралистом Антони ван Левенгуком (1632-1723 г.г.). Он первый человек, кто смог увидеть и описать микроорганизмы. Именно изобретение им микроскопа положило начало возникновению науки микробиологии. Левенгуку удалось сконструировать прибор, дававший увеличение в 300 раз. В микроскоп он рассматривал воду из водоемов, настои, кровь и многое другое. В рассматриваемых объектах он обнаружил мельчайшие существа, названные им живыми зверьками – *animalcula* (анималкулями), которые имели шаровидную, палочковидную и извитую форму. Результаты своих наблюдений он посылал в Лондонское королевское общество. Был убежден, что микробы устроены как макроорганизмы, т.е. имеют органы пищеварения, ножки, хвостики и др.

На этом этапе было подтверждено повсеместное распространение микроорганизмов, описаны формы клеток, характер движения, места обитания многих представителей микромира.

Книга «Тайны природы, открытые А. Левенгуком», опубликованная в 1695 г., привлекла внимание ученых многих стран к изучению микроорганизмов, но на протяжении многих лет исследования сводились лишь к описанию различных форм микроорганизмов.



Антони ван Левенгук  
(1632-1723 г.г.).

Роль микроорганизмов в природе, жизни животных и человека осталась не выясненной, но, тем не менее, все это создало предпосылки для последующих открытий.

Этот период был малоплодотворным, так как оптические приборы не позволяли отличить один вид микроорганизмов от другого, дать представление об их биологических свойствах.

### **Физиологический период.**

Бурное развитие микробиологии в XIX в. привело к открытию многих микроорганизмов: клубеньковых бактерий, нитрифицирующих бактерий, возбудителей многих инфекционных болезней (сибирская язва, чума, столбняк, дифтерия, холера, туберкулез и др.), вируса табачной мозаики, вируса ящура и др. Открытие новых микроорганизмов сопровождалось изучением не только их строения, но и их жизнедеятельности, то есть на смену морфологосистематическому изучению первой половины XIX в. пришло физиологическое изучение микроорганизмов, основанное на точном эксперименте.

Поэтому вторую половину XIX в. принято называть физиологическим периодом в развитии микробиологии. Этот период характеризуется выдающимися открытиями в области микробиологии, и его без преувеличения можно было бы назвать в честь гениального французского ученого-химика Луи Пастера (1822-1895) Пастеровским, потому что научная деятельность этого ученого охватывала все основные проблемы, связанные с жизнедеятельностью микроорганизмов.

Научная деятельность Л. Пастера многогранна и охватывала все основные проблемы того времени, связанные с жизнедеятельностью микроорганизмов.

Пастер доказал, что причина брожения и гниения – микроорганизмы, вырабатывающие различные ферменты. Каждый бродильный процесс обусловлен жизнедеятельностью специфического возбудителя, гниение вызывается крупой гнилостных бактерий. Изучая маслянокислое брожение, Пастер установил, что *Bacillus butyricus* развивается при отсутствии кислорода, и тем самым открыл явление анаэробнозиса.

Л. Пастер обнаружил анаэробный способ существования, ввел термины «аэробный» и «анаэробный».

Он экспериментально доказал невозможность самозарождения. Так, при абсолютной стерильности растворов и исключении последующего загрязнения в них невозможно появление микробов и по-

следующее гниение. Жизнь возникает тогда, писал Пастер, когда микроорганизмы в питательный раствор попадают из вне.

Пастер разработал рекомендации по предупреждению попадания посторонних микробов из внешней среды (пастеризация).

Занимаясь изучением природы заразных болезней, Пастер открыл возбудителей холеры кур, рожи свиней, сибирской язвы, стафилококков, стрептококков. Он обнаружил важное свойство патогенных микроорганизмов – способность к ослаблению вирулентности, после чего предложил идею вакцинации. Пастер успешно использовал ослабленные культуры микроорганизмов для прививок против инфекционных заболеваний. Культуры микроорганизмов с ослабленной вирулентностью были названы вакцинами, а метод прививок – вакцинацией. Им были предложены методы получения вакцин против холеры кур, сибирской язвы, бешенства. 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 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. Успехи микробиологии в этот период связаны с новыми идеями и методическими подходами, внесенными в микробиологические исследования Л. Пастером.

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. 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.

Первым из современников Л. Пастера, кто оценил значение его открытий, был английский хирург Дж. Листер (1827-1912 гг.), который, основываясь на достижениях Пастера, впервые ввел в медицинскую практику обработку всех хирургических инструментов карболовой кислотой, обеззараживание операционных и добился снижения числа смертельных исходов после операций.

Ценный вклад в науку этого периода внес немецкий ученый Роберт Кох (1843-1910). Он является основоположником медицинской микробиологии, которому принадлежит разработка методов получения чистых культур бактерий, впервые в практике лабораторных исследований были предложены плотные питательные среды, разработал методы окраски микроорганизмов анилиновыми красителями, применил для микроскопии иммерсионную систему, научно обосновал теорию дезинфекции, впервые провел микрофотографирование.

Велики его заслуги и в изучении микроорганизмов как возбудителей инфекционных заболеваний. В 1877 г. Р. Кох выделил возбудителя сибирской язвы, в 1882 г. выделил и изучил возбудителя туберкулеза, а в 1905 г. ему была присуждена Нобелевская премия за открытие возбудителя холеры. Ему принадлежит изобретение туберкулина для аллергической диагностики туберкулеза. Совместно со своими учениками он открыл возбудителей таких заболеваний как столбняк, дифтерия, брюшной тиф, гонорея.

Известна также сформулированная Р. Кохом триада Коха, которой до сих пор пользуются при установлении возбудителя болезни.



Луи Пастер (1822-1895)



Роберт Кох (1843-1910)

На ранних этапах развития микробиологии большое значение имели работы Льва Семеновича Ценковского (1822-1887 гг.) родоначальника русской микробиологии, который в 1856 г. опубликовал классический труд «О низших водорослях и инфузориях». Он открыл и описал большое число простейших, изучил их морфологию и циклы развития, показал, что нет резкой границы между миром растений и животных. Л.С. Ценковский на основе принципа

аттенуации микробов, разработанного Пастером, получил свой вариант вакцины против сибирской язвы (живая вакцина Ценковского). Его вакцины против сибирской язвы (1883 г.) многие годы использовали в ветеринарной практике.

Л.С. Ценковский дал классификацию микроорганизмов, установил близость бактерий и сине-зеленых водорослей.

В физиологический период, а именно в 1867 г., М.С. Воронин описал клубеньковые бактерии, а почти через 20 лет Г. Гельригель и Г. Вильфарт показали их способность к азотфиксации. Французские химики Т. Шлезинг, А. Мюнц обосновали микробиологическую природу нитрификации (1877 г.), а в 1882 г. П. Дегерен установил природу денитрификации, природу анаэробного разложения растительных остатков.

Российский ученый П.А. Костычев создал теорию микробиологической природы процессов почвообразования. Наконец, в 1892 г. русский ботаник Д. И. Ивановский (1864-1920 гг.) открыл вирус табачной мозаики. В 1898 г. независимо от Д.И. Ивановского этот же вирус был описан М. Бейеринком. Затем был открыт вирус ящура (Ф. Леффлер, П. Фрош, 1897 г.), желтой лихорадки (У. Рид, 1901 г.) и многие другие вирусы. Однако увидеть вирусные частицы стало возможным только после изобретения электронного микроскопа, так как в световые микроскопы они не видны.

Большой вклад в развитие микробиологии внес Д.И. Ивановский (1856-1953 гг.) – основоположник вирусологии. В 1892 г. открыл вирус мозаики табака.

Сергей Николаевич Виноградский (1856-1953) и голландский микробиолог Мартин Бейеринк (1851-1931 гг.) ввели микробиологический принцип исследования микроорганизмов. С. Н. Виноградский работал в Институте экспериментальной медицины. В 1903 году основал Микробиологическое общество в России. 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 микробиологический принцип в исследование микроорганизмов, основанный на создании селективных условий, установил роль микробов в круговороте азота, углерода, фосфора, железа и серы, впервые доказал существование бактерий, самостоятельно синтезирующих органические вещества. Он выделил из почвы микроорганизмы, представляющие совер-

шенно новый тип жизни и получившие название хемолитоавтотрофных.

С.Н. Виноградский предложил создавать специфические (элективные) условия, дающие возможность преимущественного развития одной группы микроорганизмов, открыл в 1893 г. анаэробный азотфиксатор, названный им в честь Пастера *Clostridium pasteurianum*. Написал труд «Микробиология почв».

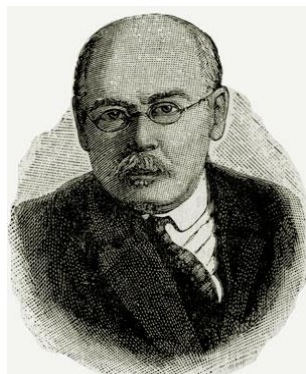
С.Н. Виноградский является основоположником почвенной микробиологии.

Через 8 лет после открытия С.Н. Виноградским азотфиксатора голландский ботаник и микробиолог М. Бейеринк выделил в аэробных условиях *Azotobacter chroococcum*, исследовал физиологию клубеньковых бактерий, процессы денитрификации и сульфатредукции и т.д. Оба этих исследователя являются основоположниками экологического направления микробиологии, связанного с изучением роли микроорганизмов в круговороте веществ в природе. К концу XIX в. намечается дифференциация микробиологии на ряд частных направлений: общая, медицинская, почвенная.

Учеником Виноградского был В.Л. Омелянский (1867-1928). Им изучены нитрификация и фиксация азота. Открыл возбудителя брожения целлюлозы (*Clostridium omelianskii*). Написал первый русский учебник по микробиологии «Основы микробиологии».



Д.И. Ивановский (1856-1953 гг.)



В.Л. Омелянский (1867-1928)

Основоположниками микологии – науки о микроскопических грибах – 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.

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». 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.

**Биохимический период (иммунологический).**

Начало XX в. совпадает по времени с началом нового периода в истории микробиологии – *иммунологического*. Иммунологический период начинается работами Ильи Ильича Мечникова (1845-1916), его по праву считают основоположником русской микробиологии и иммунологии. Основные научные интересы Мечникова были сосредоточены на проблеме изучения взаимоотношений организма хозяина и микроорганизма паразита. Его главные научные открытия касаются изучения иммунитета. В 1883 г. он сформулировал фагоцитарную теорию иммунитета. Невосприимчивость человека к повторному заражению была известна давно, но природа этого явления была непонятна даже после И.И. Мечников того, как стала широко применяться вакцинация против многих заболеваний. И.И. Мечников показал, что защита организма от болезнетворных бактерий это сложная биологическая реакция, в основе которой лежит способность фагоцитов (макро и микрофаги) захватывать и разрушать посторонние тела, попавшие в организм, в том числе бактерии. Исследования И.И. Мечникова по фагоцитозу убедительно доказали, что, помимо гуморального, существует клеточный иммунитет.

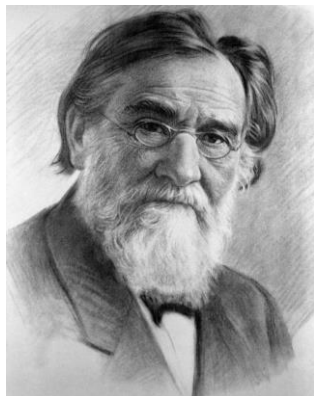
В 1886 г. он совместно с Н.Ф. Гамалеи организовал в Одессе первую в России бактериологическую станцию. Научные работы Н.Ф. Гамалеи посвящены изучению инфекции и иммунитета, изменчивости бактерий, профилактике сыпного тифа, холеры, тубер-

кулеза и других болезней. Гамалеи впервые в 1893 г. наблюдал и описал явление спонтенного лизиса бактерий под влиянием неизвестного в то время агента – бактериофага. Благодаря ему в России введена в практику прививка против бешенства.

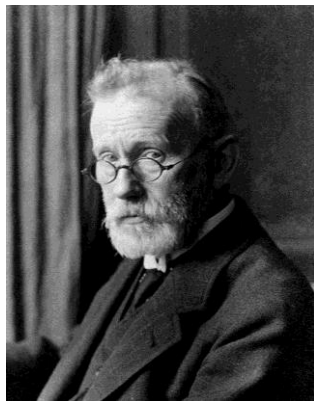
Пауль Эрлих (1854-1915 гг.) немецкий врач, бактериолог и биохимик, один из основоположников иммунологии и химиотерапии, выдвинувший гуморальную (от лат. *humor* жидкость) теорию иммунитета. Он считал, что иммунитет возникает в результате образования в крови анти тел, которые нейтрализуют яд. Подтверждением этому было открытие антитоксинов антител, нейтрализующих токсины у животных, которым вводили дифтерийный или столбнячный токсин (Э. Беринг, С. Китазато).

И.И. Мечников и П. Эрлих были научными противниками на протяжении многих лет, каждый экспериментально доказывал справедливость своей теории.

Впоследствии оказалось, что противоречия между гуморальным и фагоцитарным иммунитетами нет, так как эти механизмы осуществляют защиту организма совместно. И в 1908 г. И.И. Мечникову совместно с П. Эрлихом была присуждена Нобелевская премия за разработку теории иммунитета. Иммунологический период характеризуется открытием основных реакций иммунной системы на генетически чужеродные вещества (антигены): антителообразование и фагоцитоз, гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ), толерантность, иммунологическая память.



Илья Ильич Мечников (1845-1916)



Пауль Эрлих (1854-1915 гг.)

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.

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. 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. Мощным стимулом для развития промышленной микробиологии стало открытие пенициллина.

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. 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 Ермолевой является то, что она не только первой в нашей стране получила пенициллин, но и активно участ-

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

#### **Молекулярно-генетический период.**

Развитие микробиологии в 20 веке ознаменовалась крупными открытиями в области биохимии и генетики микроорганизмов. Так, в 1925 году Г.А. Надсон (1867-1940) впервые получил мутации дрожжей посредством облучения клеток рентгеновскими лучами. В середине 50-х г.г. А.К. Клюйвер (1888-1956 г.г.) и К. ванн Ниль (1897-1985 г.г.) провели сравнительное биохимическое изучение относительно физиологических групп микробов. Обнаружили единые закономерности процессов энергетического и конструктивного метаболизма, в результате сформировали основы теории биохимического единства жизни.

В 1941 году американский исследователь Дж. Бидл и Э. Татум, изучая проявление мутаций у грибов рода *Neurospora*, сумели приблизиться к пониманию функций генов и сформулировали свой знаменитый постулат «один ген – один фермент». В 1944 году американские ученые О. Эвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Карти доказали роль ДНК в хранении и передаче наследственной информации, осуществив эксперименты по генетической трансформации у бактерий.

Исследования Дж. Ледеберга, Э. Татума и Н. Циндера в период с 1946 по 1952 г.г. показали наличие половой дифференциации бак-

терий. Открыли и изучили трандукцию и конъюгацию, закономерность рекомбинации генетического материала бактерий при этих способах обмена генетической информацией.

В 1953 году Дж. Уотсон и Фр. Крик расшифровали строение молекулы ДНК, раскрыли генетический код, механизмы репликации ДНК и регуляции синтеза белка.

Этот период характеризуется рядом принципиально важных научных достижений и открытий:

1. Расшифровка молекулярной структуры и молекулярно биологической организации многих вирусов и бактерий; открытие простейших форм жизни «инфекционного» белка приона.

2. Расшифровка химического строения и химический синтез некоторых антигенов. Например, химический синтез лизоцима (Д. Села, 1971 г.), пептидов вируса СПИДа (Р.В. Петров, В.Т. Иванов и др.).

3. Расшифровка строения антителимуноглобулинов (Д. Эдельман, Р. Портер, 1959 г.).

4. Разработка метода культур животных и растительных клеток и их выращивание в промышленных масштабах с целью получения вирусных антигенов.

5. Получение рекомбинантных бактерий и рекомбинантных вирусов.

6. Создание гибридом путем слияния иммунных В-лимфоцитов продуцентов антител и раковых клеток с целью получения моноклональных антител (Д. Келлер, Ц. Мильштейн, 1975 г.).

7. Открытие иммуномодуляторов иммуноцитокининов (интерлейкины, интерфероны, миелопептиды и др.) эндогенных природных регуляторов иммунной системы и их использование для профилактики и лечения различных болезней.

8. Получение вакцин с помощью методов биотехнологии и приемов генетической инженерии (гепатита В, малярии, антигенов ВИЧ и других антигенов) и биологически активных пептидов (интерфероны, интерлейкины, ростовые факторы и др.).

9. Разработка синтетических вакцин на основе природных или синтетических антигенов и их фрагментов.

10. Открытие вирусов, вызывающих иммунодефициты.

11. Разработка принципиально новых способов диагностики инфекционных и неинфекционных болезней (иммуноферментный, радиоиммунный анализы, иммуноблотинг, гибридизация нуклеиновых кислот).

К настоящему времени генная инженерия внесла новые идеи и методы в производство биологически активных веществ. В начале 21 века микробиология составляет одно из основных направлений медицины.

За время своего развития микробиология не только много почерпнула из смежных наук (например, иммунологии, биохимии, биофизики и генетики), но и сама дала мощный импульс для их дальнейшего развития. Микробиология изучает морфологию, физиологию, генетику, систематику, экологию и взаимоотношения микроорганизмов с другими существами. Поскольку микроорганизмы очень многообразны, то более детальным их изучением занимаются специальные её направления: вирусология, бактериология, микология, протозоология и др. Обилие фактического материала, накопленного за относительно короткий период научного развития микробиологии (со второй половины XIX в.), способствовало разделению микробиологии на ряд специализированных направлений: медицинское, ветеринарное, техническое, космическое и т.д.

### **3. ОСНОВНЫЕ ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ. ПРОКАРИОТЫ И ЭУКАРИОТЫ**

К микроорганизмам относятся преимущественно одноклеточные организмы – бактерии, микроскопические грибы, протисты, а также организмы с неклеточной организацией – вирусы.

В систематическом отношении все микроорганизмы не составляют однородной группы, но они имеют *общие свойства*:

1. Микроскопические размеры. В среднем, линейные размеры бактерий 0,5-3 мкм ( $1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м} = 10^{-3} \text{ мм}$ ). Самые мелкие бактерии – микоплазмы, имеют диаметр клеток 0,1-0,15 мкм. Дрожжи, простейшие, водоросли имеют размер 10-100 мкм, а вирусы – около 10-100 нм ( $1 \text{ нм} = 10^{-9} \text{ м}$ ).

2. Быстрое размножение. Например, в оптимальных условиях кишечная палочка *Escherichia coli* может делиться каждые 20-30 минут.

3. Высокая пластичность метаболизма. Обеспечивает неприхотливость к условиям окружающей среды. У микроорганизмов, в силу их малых размеров, очень велико отношение площади поверхности клетки к ее объему, что создает благоприятные условия для активного обмена с внешней средой; характерно большее разнообра-

разие ферментных систем и более мобильные способы регуляции обмена веществ, чем для макроорганизмов.

Со времени открытия микроорганизмов А. Левенгуком и до XIX в. их рассматривали как мельчайшие существа животного происхождения. Только во второй половине XIX в. немецкий биолог Э. Геккель (1834 – 1919 гг.) пришел к выводу, что микроорганизмы существенно отличаются от всех известных ранее представителей царств животных и растений, и предложил их выделить в отдельное царство *Protista* (протисты, первосущества).

С конца XIX в. уже были данные о неоднородности микроорганизмов, в частности о различии в строении их клеток, поэтому их разделили на высшие и низшие протисты. Простейшие (одноклеточные животные), микроскопические водоросли (кроме сине-зеленых) и микроскопические грибы (плесени, дрожжи) были отнесены к высшим, а все бактерии и сине-зеленые водоросли (или цианобактерии) – к низшим протистам. Это деление было проведено в соответствии с типом клеточной организации – прокариотной или эукариотной. Низшие протисты имеют прокариотное строение клеток, а высшие – эукариотное.

Практически все живые организмы, населяющих нашу планету, имеет клеточное строение. Большинство микроорганизмов одноклеточные существа. В соответствии с современными принципами классификации все микроорганизмы в зависимости от строения клетки делятся на **эукариотические** (истинноядерные) и **прокариотические** (доядерные).

*Прокариоты* (от греч. *karyon* – ядро) – доядерные организмы. У них нет истинного ядра, вместо него – примитивный ядерный аппарат – нуклеоид (ДНК), он не отделен от цитоплазмы мембраной. Отсутствуют органоиды, внутренние мембраны. Рибосомы 70S-типа. В состав клеточной стенки входит муреин, а не целлюлоза и хитин. Цитоплазма не подвижна. Споры служат для защиты от неблагоприятных условий среды, но не для размножения.

*Эукариоты* имеют истинное ядро с ядерной мембраной, ядрышками и хромосомами. Имеется система внутренних мембран, есть органоиды (митохондрии, хлоропласты, комплекс Гольджи, эндоплазматический ретикулум и другие). Эукариоты имеют рибосомы 80S-типа. В состав клеточной оболочки входит целлюлоза и хитин, но нет муреина. Цитоплазма подвижна. Есть митоз и мейоз. Споры не устойчивы к повышению температуры, служат для размножения.

Таблица 1. Различия в строении клеток прокариот и эукариот

Признак	Прокариотическая клетка	Эукариотическая клетка
Организация генетического материала	Нуклеоид, состоящий чаще всего из одной замкнутой в кольцо или линейной хромосомы. Имеются гистоподобные белки. Гены не несут интронов (за исключением архебактерий). Гены организованы в опероны	Ядро, содержащее обычно более одной хромосомы. Есть белки гистоны. Гены имеют экзонно-интронную организацию. Опероны отсутствуют
Локализация ДНК	В нуклеоиде и плаزمидях	В ядре и некоторых оргanelлах
Цитоплазматические органеллы	Отсутствуют (кроме рибосом)	Имеются
Рибосомы в цитоплазме	70S-типа	80S-типа
Движение цитоплазмы	Отсутствуют	Имеется
Жгутики	Состоят из одной фибриллы, построенной из субъединиц белка флагеллина	Состоят из микротрубочек, собранных в группы
Компартментализация клеток	Слабо выражена	Клетка разделена мембранами на отдельные отсеки
Клеточная стенка (там, где она имеется)	Содержит пептидогликан муреин (за исключением архебактерий)	Пептидогликан муреин отсутствует
Представители	Археи, бактерии, сине-зеленые водоросли (цианобактерии), актиномицеты.	Протисты, дрожжи и мицелиальные грибы (плесени)

Эукариоты устроены значительно сложнее, чем прокариоты. Об этом можно судить по объему генома, то есть числу генов, составляющих генетический аппарат клетки. У эукариотов его объем в десятки и сотни раз больше, чем у прокариотов. Так, если у вирусов объем генома состоит примерно из 10-100, у бактерий – из 1000-5000, то у простейших – из 10 000 и более генов.

К прокариотам относят археи, бактерии, цианобактерии или сине-зеленые водоросли. Простейшие, микроскопические грибы (дрожжи и плесневые грибы) являются эукариотами.

Вирусы, вириды и прионы тоже являются микроорганизмами, но их не относят ни к прокариотам, ни к эукариотам, т.к. они являются представителями неклеточных форм жизни.

Единая общепринятая точка зрения на систему живого мира до настоящего времени еще не выработана. Систематика микроорганизмов все еще находится в развитии.

#### 4. МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Бактерии – древнейшие из известных организмов. Следы жизнедеятельности бактерий и сине-зеленых водорослей относятся к архею и датируются возрастом 3,5 млрд. лет. Бактерии широко распространены, встречаются в воздухе, почве, воде, на поверхности растений, в кишечнике животных и человека.

Размеры бактериальных клеток сильно варьируют. Шаровидные бактерии имеют диаметр от 0,2 мкм до 2,5 мкм. Мельчайшими из известных клеточных организмов являются микоплазмы (0,15 мкм). Палочковидные бактерии имеют толщину в среднем 0,5-1,0 мкм. Длина палочек от 1-2 до 19 мкм. Нитчатые бактерии достигают в длину макроскопических размеров и видны невооруженным глазом (1 мм). Спирохеты могут быть длиной от 1-3 до 100-500 мкм.

Бактерии – одноклеточные организмы, но иногда встречаются многоклеточные (нитчатые), они разнообразны по форме. Чаще всего встречаются три основные группы: шаровидные, палочковидные и извитые.

*Шаровидные* называются еще кокками (от гр. *kokkos* – зерно). Они имеют круглую форму и очень мелкие, способны делиться в разных направлениях (рис. 1).

В зависимости от характера деления и расположения клеток после деления шаровидные формы бывают:

*микрোকки* или *монококки* – после деления клетки располагаются по одной;

*диплококки* – после деления клетки остаются соединёнными по две;

*стрептококки* – деление происходит последовательно в одной плоскости, образующиеся после деления клетки остаются соединёнными в цепочки;

*тетракокки* – деление клетки происходит в двух взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием четырёх соединенных клеток;

*сарцины* – деление клетки идёт последовательно и быстро в трех взаимно перпендикулярных плоскостях с образованием кубов (пакетиков) из 8 клеток;

*стафилококки* – деление клеток происходит беспорядочно в различных направлениях, что приводит к образованию скоплений, напоминающих гроздь винограда.

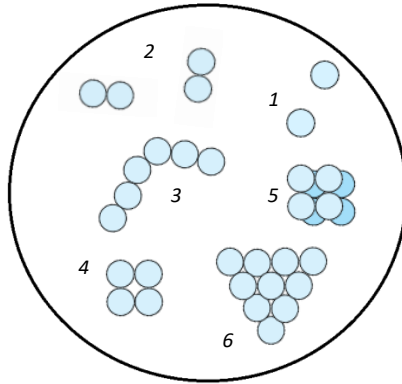


Рис. 1. Формы шаровидных бактерий: 1 – микрококки, 2 – диплококки, 3 – стрептококки, 4 – тетракокки, 5 – сарцины, 6 – стафилококки

*Палочковидные* бактерии по форме напоминают палочку или цилиндр (рис. 2), бывают короткими и длинными, толстыми и тонкими, с краями различной формы. Палочки обычно крупнее кокков, их подразделяют на бактерии (от гр. *bacteria* – палочка) – не образующие споры и бациллы (от лат. *bacillum* – палочка) – образующие споры. Термин бактерии в узком смысле означает палочковидные, а в широком смысле вообще любые формы. Деление палочек происходит только поперек, после чего они могут остаться соединенными попарно (диплобактерии и диплобациллы) или в цепочки (стрептобактерии и стрептобациллы).

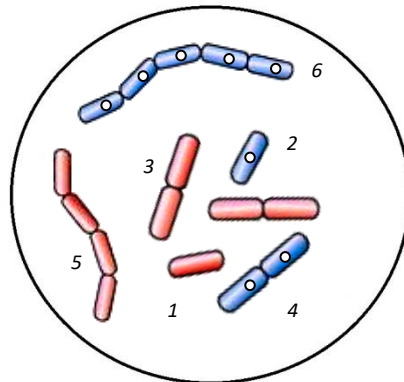


Рис. 2. Формы палочковидных бактерий: 1 – бактерия, 2 – бацилла,

3 – диплобактерия, 4 – диплобацилла, 5 – стрептобацилла, 6 – стрептобактерия.

*Извитые* бактерии (рис.3) подразделяются по их извитости:

*Вибрионы* (лат. *vibrare* – колебание, дрожание), – слегка изогнутые клетки, по форме напоминают запятую, искривленность обычно меньше половины окружности;

*спириллы* (лат. *spiro* – изгиб) – число завитков от 1 до 6, обычно крупные;

*спирохеты* (лат. *spiro* – изгиб, греч. *chaite* – хохол, грива) – тонкие, длинные, с большим количеством завитков.

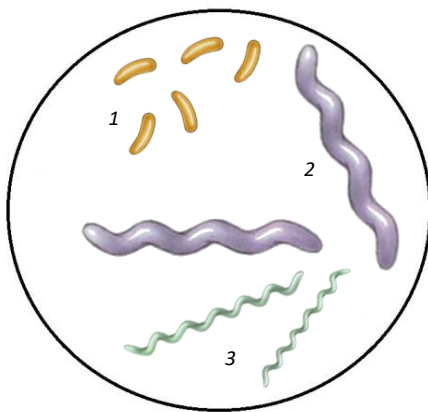


Рис. 3. Формы извитых бактерий: 1 – вибрион, 2 – спирилла, 3 – спирохета.

*Нитчатые* формы бактерий называются также *трихомные* (греч. *trachoma* – волосы). Это в большинстве случаев палочковидные клетки, которые соединяются в длинные цепочки, объединяемые либо слизью, либо чехлами, либо общей оболочкой.

Кроме рассмотренных выше основных форм, которые преобладают среди бактерий, встречаются и другие, морфологически разнообразнее. Тороидальные (замкнутые и незамкнутые кольца) бактерии могут с помощью фимбрий (выростов клетки) объединяться в скопления – розетки, могут накладываться друг на друга, образуя спирали длиной 4–50 мкм. Звездообразные клетки напоминают шестиугольную звезду. Канатоподобные клетки образуют скопления звездообразной формы. Тубероидальные (лат. *tuberculum* – вздутие) клетки – это палочковидные бактерии со сферическими вздутиями. Бывают бактерии в форме плоских квадратных пласти-

нок, коробочковидных плоских клеток геометрически разнообразной формы. Встречаются червеобразные клетки с заостренными и тонкими концами (рис. 4).

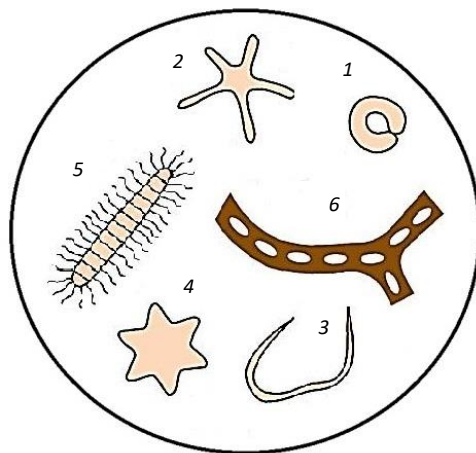


Рис. 4. Различные формы бактерий: 1 – бактерии, имеющие форму замкнутого или незамкнутого кольца; 2 – бактерии, образующие выросты (простеки); 3 – бактерия червеобразной формы; 4 – бактериальная клетка в форме шестиугольной звезды; 5 – нитчатая бактерия рода *Caryophanon*; 6 – нитчатые бактерии группы *Sphaeroillus*, заключенные в чехол, инкрустированный гидратом окиси железа

Форма клеток большинства бактерий является устойчивым видовым признаком. Однако существуют бактерии, обладающие морфологической изменчивостью (плеоморфизмом), в зависимости от условий имеющие вид палочек, кокков или обнаруживающие слабое ветвление. У некоторых видов бактерий при прохождении цикла развития также наблюдается изменение формы клеток.

Ультраструктура бактерий изучается с помощью электронного микроскопа, они имеют все основные структурные компоненты, необходимые для обмена веществ. Как и всякая другая, прокариотическая клетка имеет цитоплазму, которая окружена цитоплазматической мембраной. Цитоплазма вместе с цитоплазматической мембраной составляют протопласт, снаружи от него расположены поверхностные структуры. К их числу относятся клеточная стенка, капсула, жгутики, ворсинки и т. д.

У бактерий (рис.5) отсутствует ядро, ограниченное от цитоплазмы двойной мембраной. Наследственная информация сосредото-

точена в нуклеоиде. Отсутствуют органониды (митохондрии, эндоплазматическая сеть, комплекс Гольджи и др.).

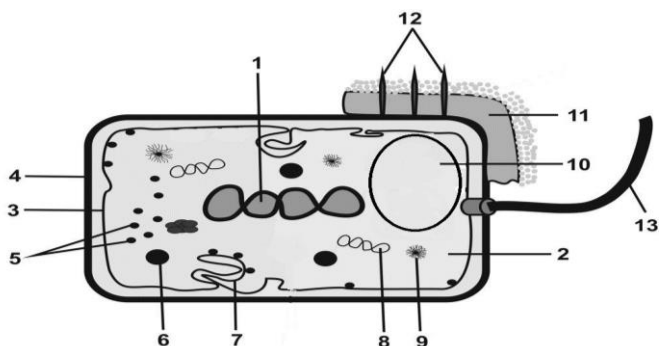


Рис. 5. Схема строения бактериальной клетки: 1 – нуклеоид; 2 – цитоплазма; 3 – цитоплазматическая мембрана; 4 – клеточная стенка; 5 – рибосомы; 6 – капли жира; 7 – мезосомы; 8 – плазмиды; 9 – волютин; 10 – спора; 11 – капсула; 12 – ворсинки; 13 – жгутик.

**Капсула** имеется только у некоторых бактерий, не является обязательной структурой бактериальной клетки. Это слизистый слой различной толщины, состоящий на 98% из воды, а также из полисахаридов (пневмококк) или полипептидов (бацилла сибирской язвы). Различают микрокапсулы (до 0,2 мкм, неразличимы с помощью оптического микроскопа), макрокапсулы (более 0,2 мкм, видны в микроскопе), слизистый слой (вязкие, накапливающиеся на поверхности клетки вещества, иногда во много раз превышающие толщиной размеры бактериальной клетки).

Большинство бактерий, особенно патогенных, образуют капсулу только в организме человека или животных. Способность образовывать капсулу является генетической особенностью, но зависит от условий среды.

Микроорганизмы, образующие большое количество слизи, распространены на многих производствах, вызывают ослизнение сахарного сиропа, рыбы, рыбных и других продуктов, «тягучесть» пива, на целлюлозно-бумажных комбинатах приводят к ухудшению качества бумаги.

Капсула выполняет защитную функцию (предохраняет от высыхания, ядовитых веществ и др.).

Капсульные полисахариды, образуемые бактериями, имеют большое практическое значение. Ксантан используется в составе

смазок, при добыче нефти, в пищевой промышленности для улучшения вкусовых свойств консервированных и замороженных продуктов, соусов, кремов и др., а также в косметической промышленности. Декстраны находят применение в качестве кровезаменителей, для лечения ожогов, для разделения и очистки биологических молекул.

Отдельные виды бактерий, например, нитчатые, образуют чехлы. В отличие от капсулы чехлы имеют тонкую структуру, иногда многослойные, инкрустированные окислами металлов (железа, марганца), вследствие чего приобретают особую прочность, характеризуются более сложным составом.

**Клеточная стенка** есть у всех бактерий, кроме микоплазм и L-форм, она прочная, упругая, но сохраняющая определенную степень эластичности, составляет около 20% сухого вещества клетки (от 5 до 50%). Основным компонентом клеточной стенки является *муреин*, вещество полисахаридной природы, обеспечивающее прочность клеточной стенки, относящийся к классу пептидогликанов и имеющееся только у прокариотов.

В зависимости от строения и химического состава клеточной стенки бактерии делятся на две большие группы: грамположительные и грамотрицательные.

Существует метод окраски, позволяющий разделить бактерии на эти две группы. Он был предложен в 1884 году датским ученым Х. Грамом. Сущность состоит в том, что при окрашивании бактерий анилиновым красителем (кристаллвиолетом, метилвиолетом и др.) в присутствии йода у одних бактерий образуется стойкое соединение, которое удерживается клеткой при обработке их спиртом. Такие бактерии окрашены в сине-фиолетовый цвет и получили название грамположительных (гр+), обесцвеченные бактерии – грамотрицательных (гр-), их докрасшивают контрастным по цвету красителем (фуксином).

Клеточная стенка грамположительных бактерий выглядит как однородный плотный слой толщиной 20-80 нм. Муреин в клеточной стенке составляет от 50 до 90% ее сухой массы.

Муреин – гетерополимер, построенный из цепочек, в которых чередуются остатки N-ацетил-глюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенные между собой в-1,4-гликозидными связями (рис. 8).

С муреином связаны тейхоевые кислоты, которые влияют на катионный обмен клетки. Помимо пептидогликана муреина и тей-

ховых кислот в составе клеточной стенки грамположительных бактерий в небольшом количестве обнаружены полисахариды, белки и липиды. Клеточная стенка плотно прилегает к цитоплазматической мембране, нет наружной мембраны. К грамположительным бактериям относятся, например, молочнокислые бактерии, кокки, бациллы.

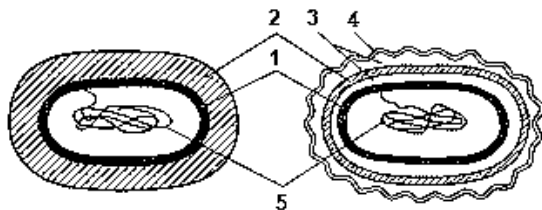


Рис. 6. Строение клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий: 1 – ЦПМ; 2 – муреин; 3 – периплазматическое пространство (периплазма); 4 – внешняя мембрана; 5 – ДНК.

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий организована сложнее, она многослойна, толщина 15-20 нм. Муреина содержится 1-10%, он локализован в глубоких внутренних слоях клеточной стенки. Одной из отличительных особенностей является отсутствие тейхоевых кислот. Компоненты клеточной стенки у грамотрицательных бактерий отделены электронно-прозрачным слоем – периплазматическим пространством, в нем находятся белки. Внешний слой клеточной стенки (наружная или внешняя мембрана) образован фосфолипидами, липопротеинами и белками. По строению наружная мембрана имеет типичную организацию, характерную для элементарных мембран. К грамотрицательным бактериям относятся вибрионы, спириллы, спирохеты, клубеньковые бактерии бобовых растений, азотобактер, большинство палочковидных бактерий.

Окраска по Граму используется для определения вида, лежит в основе систематики, является диагностической только в отношении прокариот, обладающих клеточной стенкой.

Клеточная стенка определяет форму бактериальной клетки, защищает от воздействий окружающей среды, принимает участие в процессах размножения и спорообразования.

Из любой бактериальной клетки можно получить формы полностью или частично лишенные клеточной стенки – протопласты и сферопласты соответственно.

Протопласты и сферопласты можно получить в лабораторных условиях, обрабатывая клетки бактерий лизоцимом, разрушающим муреин, антибиотиками пенициллинового ряда (пенициллин, ампициллин, карбенициллин и др.) или циклосерином, подавляющими синтез муреина.

Протопласты и сферопласты стабильно сохраняются в гипертонических или изотонических условиях. Для создания гипертонических условий чаще всего используют сахарозу и маннит в концентрациях 0,1 - 1,0 М. В гипотонических условиях протопласты и сферопласты лопаются и образуют «тени».

Протопласты и сферопласты в 3 - 10 раз крупнее исходных клеток бактерий. В гипертонических или изотонических условиях они осуществляют обмен веществ, характерный для исходных клеток, т.е. они сохраняют дыхательную активность, синтезируют необходимые биополимеры, образуют эндоспоры, если процесс споруляции уже был инициирован. Можно наблюдать рост сферопластов и протопластов, а иногда и деление. В отличие от исходных клеток на них не адсорбируются бактериофаги и бактериоцины. Кроме того у протопластов и сферопластов отсутствуют мезосомы - производные цитоплазматической мембраны.

При снятии действующего на образование муреина фактора (пенициллин, циклосерин, лизоцим и др.) протопласты, как правило, отмирают, реже регенерируют клеточную стенку и возвращаются в исходное состояние, но могут превращаться в L-формы. Сферопласты ревертируют (превращаются) в нормальные бактериальные клетки, либо превращаются в L-формы, либо отмирают.

Существуют L-формы бактерий, которые в отличие от протопластов и сферопластов способны к развитию. Буква L – первая буква названия Листеровского института в Лондоне, где впервые обратили внимание на развитие морфологически весьма необычных клеток в культуре бактерий, выделенной из жидкости уха крысы.

L-формы образуются в результате роста нормальных бактериальных клеток в длину и в толщину и поэтому полиморфны. На плотной среде они образуют колонии, врастающие в агар и имеющие характерную форму перевернутой шляпы. Переход в L-форму можно рассматривать как способ переживания бактериями неблагоприятных условий.

гоприятных условий, особенно в случаях патогенных микроорганизмов.

L-формы образуются в результате несбалансированного роста нормальных бактериальных клеток в длину и в толщину и поэтому полиморфны. В культурах L-форм обнаруживаются клетки размером 0,2 - 50 мкм. Они шаровидные, нитевидные, присутствуют также и бесструктурные массы. L-формы проходят через бактериальные фильтры и легко разрушаются при механических воздействиях.

В отличие от протопластов и сферопластов клетки L-форм имеют хорошо развитую систему внутрицитоплазматических мембран, т.е. у них имеются мезосомы. В отличие от нормальных клеток L-формы часто содержат крупные вакуоли.

L-формы обладают пониженным уровнем метаболической активности, чем исходные бактерии. Они нечувствительны к действию любых агентов, влияющих на клеточную стенку.

Культивировать L-формы можно только на специальных средах с высоким осмотическим давлением. L-формы лучше растут на плотной, чем в жидкой среде. На плотной среде они образуют колонии, растущие в агар и имеющие характерную форму перевернутой шляпы. Колонии растут медленно, хотя иногда достигают значительных размеров.

У L-форм не функционируют нормальные механизмы клеточного деления. В основном они делятся с образованием элементарных тел, которые отпочковываются от поверхности клетки или от мембраны вакуоли.

Исследования L-форм представляют существенный интерес для медицинской микробиологии, поскольку в этой форме в организме человека и животных могут сохраняться патогенные бактерии. При нерациональном использовании антибиотиков, приводящем к образованию L-форм из бактерий, может наступить улучшение состояния больного. Однако после прекращения приема лечебного препарата наступает превращение L-форм в бактерии исходного вида с восстановлением их вирулентности, что приводит к рецидиву болезни.

Бактерии, у которых отсутствует клеточная стенка, существуют и в природе: это микоплазмы. Первым описанным представителем микоплазм явился возбудитель плевропневмонии крупного рогатого скота. Подобные микроорганизмы обнаружены и у других животных – овец, коз, крыс, собак, а также у человека, всем им было

дано общее название PPLO (плевропневмониеподобные организмы). В настоящее время показано, что микоплазмы могут существовать как сапрофиты в естественных условиях, а также вызывать заболевания и у растений.

К клеточной стенке бактерий прилегает **цитоплазматическая мембрана**, строение которой аналогично мембранам эукариотов. Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) – это белково-липидная структура, на долю белков приходится 50-75%, липидов – 15-50%.

ЦПМ состоит из двойного слоя фосфолипидов. Их полярные гидрофильные головки расположены на обеих внешних поверхностях двойного слоя, а гидрофобные цепочки жирных кислот размещаются в центральной части мембраны. Липиды поддерживают механическую стабильность мембраны и придают ей гидрофобных свойств. Мембранные белки ассиметрично включены в двойной фосфолипидный слой и частично или полностью погружены в него (группа интегральных белков пронизывает насквозь слой фосфолипидов, группа периферических белков образует скопления на поверхности).

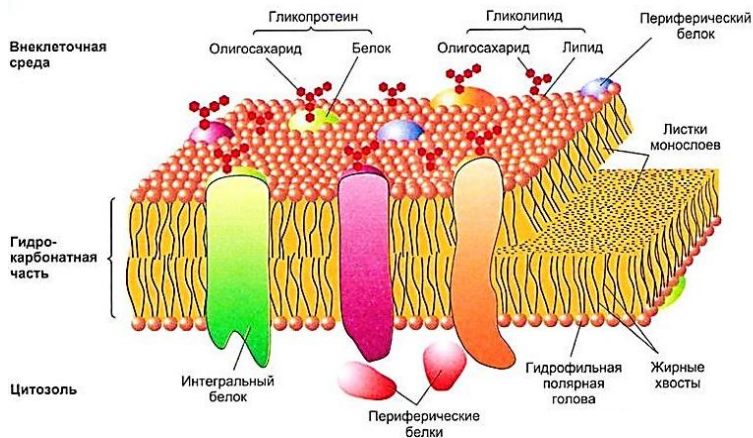


Рис. 7. Цитоплазматическая мембрана

Скорость роста цитоплазматической мембраны превышает скорость роста клеточной стенки, вследствие чего происходит инвагинация (выпячивание) ЦПМ, и возникают различной сложности внутриклеточные мембранные образования. У бактерий обнаружены *мезосомы*, которые образуются при выпячивании цитоплазматической мембраны.

ческой мембраны в цитоплазму. Мезосомы бактерий разнообразны по форме, размерам и локализации в клетке. Выделяют три основных типа мезосом: ламеллярные (пластинчатые), везикулярные (имеющие форму пузырьков) и тубулярные (трубчатые).

Сложно организованные и хорошо развитые мезосомы характерны для грамположительных бактерий. У грамотрицательных бактерий они встречаются значительно реже и относительно просто организованы.

Мезосомы служат для усиления мембранозависимых функций клетки, так как в мембранах, образующих мезосомы, находятся ферменты, участвующие в энергетическом метаболизме бактерий. Кроме того, мезосомы играют роль в репликации ДНК и последующем расхождении ее копий по дочерним клеткам. Мезосомы участвуют в процессе инициации и формирования поперечной перегородки при клеточном делении.

Цитоплазматическая мембрана обладает свойством полупроницаемости, играет роль осмотического барьера, контролирующего транспорт веществ в бактериальную клетку и из нее, участвует в синтезе веществ (мембранных липидов, компонентов клеточной стенки, капсулы и др.), выполняет энергетическую и дыхательные функции.

**Цитоплазма** бактерий занимает всю внутреннюю часть клетки. Представляет собой дисперсную смесь коллоидов, состоящую из 70–80% воды, а также белков, углеводов, липидов, минеральных соединений и других веществ. Вязкость цитоплазмы примерно в 800 раз больше вязкости воды. В молодых клетках вязкость невелика, но с возрастом повышается, что является одним из факторов снижения их физиологической активности. Бактериальная цитоплазма неподвижна, содержит нуклеоид, рибосомы, включения.

**Нуклеоид** (бактериальная хромосома) состоит из двойной нити ДНК, сомкнутой в кольцо и свободно погруженное в цитоплазму. В молекуле ДНК закодирована генетическая информация клетки. Нуклеоид выполняет функцию ядра эукариотов – хранение, передача и воспроизведение наследственной информации.

Иногда в цитоплазме лежат короткие нити ДНК – **плазмиды**. Типичные плазмиды представляют собой двухнитевые кольцевые молекулы ДНК, обычно не превышающие 5% величины нуклеоида. Они несут наследственную информацию, не являющуюся жизненно необходимой для клетки, но обеспечивающую определенные пре-

имущества в окружающей среде (например, устойчивость к лекарственным препаратам).

Плазмиды обнаружены у многих бактерий, принадлежащих к разным таксономическим группам. Для них характерно стабильное существование в нехромосомном состоянии. Количество плазмидной ДНК в клетке составляет обычно не более нескольких процентов от клеточного генома, а число плазмид колеблется от 1 до 38. Плазмиды – это линейные или кольцевые молекулы ДНК, содержащие от 1500 до 90000 пар нуклеотидов. Отличительная особенность плазмид – способность к автономной репликации. Обычно о присутствии плазмид в бактериальной клетке судят по проявлению определенных признаков, к которым относятся устойчивость к отдельным лекарственным препаратам, способность к переносу генов при конъюгации, синтез веществ антибиотической природы, способность использовать некоторые сахара или обеспечивать деградацию ряда веществ.

Впервые обнаруженные у *E.coli* генетические элементы, которые передавались у нее по наследству во внехромосомном состоянии, получили название просто генетических факторов. Раньше всего были обнаружены *Col*-фактор (фактор, контролирующий у *E.coli* синтез бактерицидных белков, А. Грациа, 1925 г.) и F-фактор (фактор, контролирующий примитивный половой процесс у бактерий - конъюгацию, У. Хэйс, 1953 г.). Интерес к этим факторам сильно возрос после того, как в 1963 г. японский ученый Т. Ватанабе сообщил, что передача множественной лекарственной устойчивости у дизентерийных бактерий происходит также при участии независимых от хромосомы генетических элементов, названных R-факторами (от англ. *resistance* – устойчивость). В 1976 г. всем подобного рода генетическим элементам было дано название плазмид.

В соответствии с теми свойствами, которыми плазмиды наделяют своих носителей, их подразделяют на различные категории. У бактерий очень часто обнаруживают криптические плазмиды, то есть плазмиды, функции которых еще не установлены. Уже сейчас известны плазмиды, контролирующие различные факторы патогенности бактерий (факторы адгезии, инвазии и т. п.).

Общебиологическое значение плазмид заключается в том, что они выполняют, по крайней мере, три важнейшие функции для бактерий, обеспечивая одновременно существование как бактерий, так и собственное. Во-первых, они контролируют у бактерий обмен

генетическим материалом. Во-вторых, контролируя синтез факторов патогенности, они обуславливают благоприятные возможности для размножения патогенных бактерий в естественных для них условиях (в организме животного или человека), а следовательно, для сохранения этих видов в природе. В-третьих, плазмиды являются уникальным биологическим средством самозащиты бактерий, так как они обеспечивают их приобретенным и наследуемым специфическим иммунитетом против различных химических (лекарственных и иных) веществ и других агентов.

Наиболее известны F-плазмиды (обеспечивают конъюгационный перенос между бактериями) и R-плазмиды (обеспечивают устойчивость к лекарственным препаратам).

Плазмиды активно используют в генетической инженерии в качестве основы для конструирования клонирующих векторов, с помощью которых изолируют отдельные гены разных организмов, переносят их в клетки других организмов.

Вся ДНК клетки (и хромосомная, и плазмидная) образует *геном* клетки. В течение роста клетки и её деления прокариотная хромосома копируется обычным полуконсервативным способом прежде, чем произойдет её распределение по дочерним клеткам. Однако процессы мейоза и митоза у прокариот отсутствуют. Репликация и сегрегация (разделение) прокариотной ДНК координируются мембраной, возможно мезосомами. Обычно в бактериальной клетке содержится одна хромосома, но часто в экспоненциально растущей культуре количество ДНК 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.

Нуклеоид выявляется в световом микроскопе после окраски специфическими для ДНК методами по Фельгену или Гимзе. На электронных микроскопических фотографиях ультратонких срезов бактерий нуклеоид имеет вид светлых зон с фибриллярными, нитевидными структурами ДНК. Несмотря на отсутствие ядерной мембраны, нуклеоид довольно четко отграничен от цитоплазмы.

Длина молекулы в развернутом виде может достигать более 1 мм, то есть почти в 1000 раз превышать длину бактериальной

клетки. Длительное время считали, что в распределении нитей хромосомы бактериальной ДНК не прослеживается никакой закономерности. Однако, если исходить из того, что молекула ДНК образует беспорядочный клубок, трудно объяснить процесс репликации и последующее распределение образовавшихся хромосом по дочерним клеткам. Было установлено, что 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.

Молекула ДНК несет множество отрицательных зарядов, поскольку каждый фосфатный остаток содержит ионизированную гидроксильную группу. У эукариот отрицательные заряды нейтрализуются образованием комплекса ДНК с основными белками – гистонами. В клетках подавляющего большинства прокариот не обнаружено гистонов, поэтому нейтрализация зарядов осуществляется взаимодействием ДНК с полиаминами (спермином и спермидином), а также с ионами  $Mg^{2+}$ . В последнее время 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 %.

**Рибосомы** – мелкие зерна, образованы двумя субъединицами, состоящие из 60% РНК и 40% протеина, они выполняют функцию синтеза белка. В бактериальной клетке от 5 до 50 тысяч рибосом, число их тем больше, чем больше скорость роста клетки.

Различия между рибосомами бактерий (константа седиментации 70S) и эукариот (80S) имеют решающее значение для борьбы с инфекционными заболеваниями, так как некоторые антибиотики частично или полностью подавляют синтез белка, протекающий на рибосомах 70S типа, но не затрагивают функционирования рибосом 80S типа.

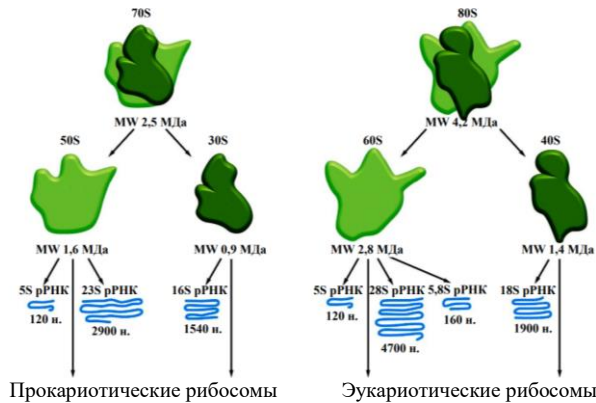


Рис. 8. Схема строения прокариотических и эукариотических рибосом

В цитоплазме у большинства прокариот формируются **включения**, их образование зависит от условий культивирования. Они могут быть химически чистыми веществами (сера) и смесями. Каждый вид микроорганизма образует, как правило, только один тип запасного вещества.

Различают включения, не имеющие оболочки, и те, которые окружены белковой оболочкой. Клеточные включения выявляются при помощи специальных способов окраски. К числу включений без оболочки относятся разнообразные запасные вещества, которые откладываются клетками при благоприятных условиях и расходуются в неблагоприятный период.

Часто бактерии запасают полифосфаты – **волютин** (метахроматические зерна, метахроматин) (греч. *meta* – изменение, *chroma* – цвет) – запасное вещество, состоящее из полифосфатов и веществ, близких к нуклеиновым кислотам. В них сосредоточены запасы органического фосфора. Волютин имеет сходство с метиленовой синью, но при окрашивании ею приобретает фиолетово-черный цвет. Способность приобретать иной цвет, чем цвет окрашивающего вещества, называется метахромазией. Термин «волютин» произошло от названия вида *Spirillum volutans*, в клетках которой он был впервые обнаружен.

Волютин в виде крупных гранул находится в вакуолях дрожжей или цитоплазме бактерий (уксуснокислых, молочнокислых, азотфиксирующих) и актиномицетов.

Резервным источником углерода и энергии у бактерий служат полисахариды (гликоген, гранулеза). *Гранулеза* является специфическим запасным углеводным веществом бактерий рода *Clostridium*, при голодании исчезает, выявляется качественной реакцией со слабым раствором йода (сине-фиолетовый цвет). *Гликоген* – гранулы полисахарида сферической формы, выявляются раствором йода (красно-коричневый цвет). Много гликогена накапливают дрожжи, азотобактер, молочнокислые бактерии.

Включения могут быть в виде капелек жира, серы, гранул белка, железа и т.д. Включения *серы* встречаются у серобактерий, окисляющих сероводород. Сера накапливается, когда в среде содержится сероводород, и окисляется до сульфата, когда весь сероводород среды исчерпан. Включения *карбоната кальция* (известковые тельца) в клетках некоторых серобактерий выполняют функцию нейтрализаторов среды.

Бактериальные включения, окруженные белковой оболочкой, представлены *аэросомами*. Это заполненные газом пузырьки, которые используются водными бактериями, они являются регуляторами плавучести: изменяют плотность, изменяя количество аэросом в клетке.

К включениям, окруженным белковой оболочкой, относят *хлоросомы* (содержат хлорофилл, необходимый фотосинтезирующим бактериям), *карбоксисомы* (содержат ферменты для фиксации CO<sub>2</sub> у хемосинтезирующих и фотосинтезирующих бактерий), *магнитосомы* (содержат биогенный магнетит для ориентации в пространстве).

У некоторых видов бактерий имеются *ворсинки*, представляющие собой образования, которые значительно короче и тоньше жгутиков, состоят из белка пилина. Они не являются органами передвижения, а способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности некоторых субстратов. Различают два типа ворсинок: фимбрии и пили.

*Фимбрии* служат для прикрепления к субстрату, это важная особенность микроорганизмов, используемая ими для выживания. Число фимбрий на поверхности клетки колеблется от 1–2 до нескольких тысяч.

*Пили* часто длиннее фимбрий и менее многочисленны, участвуют в конъюгации. Они обнаружены у клеток так называемых доноров, т.е. у клеток, содержащих половой фактор (F-плазмиду). Если в клетке бактерий находится половой фактор, то на их поверхности синтезируются половые F-пили в количестве 1–2 на клетку. Они

имеют вид полых белковых трубочек, играют определяющую роль в образовании конъюгационных пар при переносе генетического материала от клетки донора в клетку реципиента. Таким образом они выполняют функцию – размножения (конъюгация).

Подвижные бактерии имеют *жгутики*. Ширина их 10–20 нм, длина 4–15 мкм, состоят из белка флагеллин. Образуются у палочек, вибрион, спирилл. Функция жгутиков – передвижение (скорость 50 мкм/с).

## 5. ДВИЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ

Бактерии могут быть подвижные и неподвижные. По характеру движения подвижные бактерии разделяются на плавающие и скользящие.

*Плавающие* движение осуществляется с помощью *жгутиков* в жидкой среде. Большинство бактерий передвигаются при помощи жгутиков. Рассмотреть жгутики можно только в электронном микроскопе. В световом без специальных методов обработки отдельные жгутики не видны.

Наличие жгутиков зависит от возраста и условий жизни микроорганизмов. У старых форм, в сухой среде жгутики могут отпадать.

Жгутики состоят из белка флагеллина, их энергичное движение по характеру работы подобно корабельному винту. Большинство бактерий за секунду проходит расстояние, близкое длине их тела, но есть бактерии, движущиеся с большой скоростью (до 30 мкм/с).

Жгутик состоит из трех частей: нити, крюка и базального тельца (рис. 8). С помощью базального тельца, которое состоит из центрального стержня и колец, жгутик закреплен в цитоплазматической мембране и клеточной стенке. Количество колец у грамотрицательных и грамположительных бактерий различно.

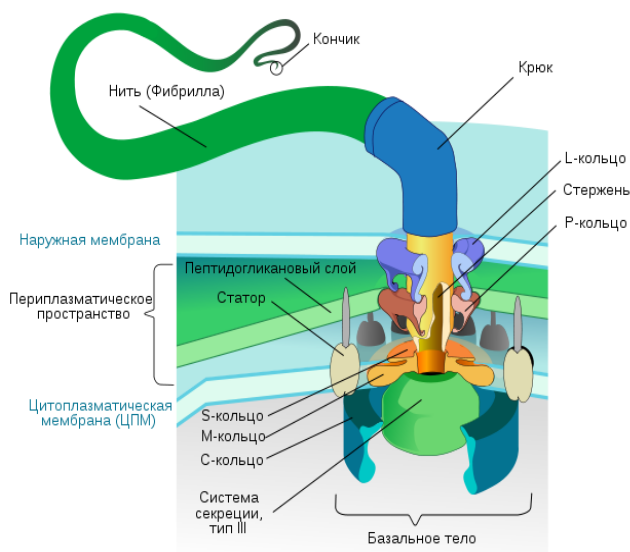


Рис. 8. Строение жгутика бактериальной клетки

Расположение жгутиков и их количество является видовым признаком, по данному признаку бактерии подразделяются на:

*монотрихи* имеют один жгутик (например, бактерии рода *Vibrio*);

*лофотрихи* имеют на одном или на обоих полюсах клетки пучок жгутиков (например, бактерии рода *Pseudomonas*);

*амфитрихи* имеют по жгутику или пучку жгутиков на обоих полюсах клетки (например, бактерии рода *Spirillum*);

*перитрихи* большое количество жгутиков, располагающихся по всей поверхности клетки (например, бактерии кишечной палочки *Escherichia coli*) (рисунок).

Монотрихи и лофотрихи двигаются по прямой, амфитрихи – поворачиваясь, перитрихи – кувыркаясь.



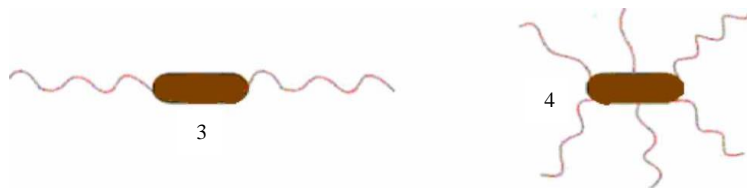


Рис. 9. Типы жгутикования у бактерий: 1 – монотрихи; 2 – лофотрихи; 3 – амфитрихи; 4 – перитрихи

*Скользящие* движение осуществляется за счет выделения слизи, волнообразного сокращения тела (цианобактерии, миксобактерии, цитофаги). Все они нуждаются в контакте с твердым субстратом. Например, цианобактерии движутся за счет выделения слизи на заднем конце клетки, которая как-бы отталкивает клетку от субстрата. Скорость такого движения низкая (2–11 мкм/с).

Особый тип движения – вращательный – характерен для спирохет. Клетка спирохет состоит из протоплазматического цилиндра, окруженного цитоплазматической мембраной, и внешнего чехла, представленного пептидогликановым слоем и наружной мембраной. Вокруг протоплазматического цилиндра в периплазматическом пространстве находятся пучки нитчатых структур (аксиальные фибриллы), которые состоят из белка флагеллина. Эти структуры обеспечивают движение спирохет как в жидкой среде, так и на разделе фаз жидкой и плотной среды.

Для подвижных бактерий характерны *таксисы* (гр. *taxis* – расположение) – направленная двигательная реакция в ответ на определенный фактор. Таксисы бывают положительные или отрицательные в зависимости от движения бактерий к фактору или от него. По способности индуцировать положительный или отрицательный хемотаксис различают две группы веществ: *аттрактанты* – вещества, вызывающие скопления клеток в области более высокой концентрации соединения, и *репелленты* – вызывающие скопления клеток в области наименьшей концентрации вещества.

Различают несколько видов таксисов.

*Хемотаксис* – движение, вызываемое химическими веществами. К хемотаксису относится аэротаксис, обусловленный кислородом, и осмотаксис, обусловленный концентрацией солей.

*Термотаксис* – движение бактерий, вызванное источником тепла.

*Фототаксис* – движение бактерий, обусловленное энергией света.

*Магнетотаксис* – движение бактерий по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита. Магнетотаксис обусловлен наличием у бактерий магнитосом, которые встречаются у магнитотропных бактерий, обитающих в донных осадках морских и пресноводных водоемов.

*Вискозитаксис* – движение бактерий в направлении увеличения или уменьшения вязкости раствора.

## 6. СПОРООБРАЗОВАНИЕ БАКТЕРИЙ

Кроме обязательных структур бактериальные клетки могут иметь *споры* (греч. *spora* – семя). Спора формируется эндогенно, то есть внутри клетки. Спорообразование присуще некоторым палочковидным бактериям, например родам *Bacillus*, *Clostridium*). Спорообразующие палочки называются бациллами. Кокки и извитые формы спор не имеют.

В бактериальной клетке образуется только одна спора округлой или овальной формы, которая служит для перенесения неблагоприятных условий (отсутствие питания, накопление токсических продуктов обмена, высокая температура, недостаточная влажность, старение и другие). Поскольку одна клетка образует одну эндоспору, увеличения числа бактерий при ее прорастании не происходит, поэтому спорообразование не рассматривают как способ размножения бактерий. Эндоспоры представляют собой стадию покоя и приспособлены к перенесению неблагоприятных условий.

Споры покрыты плотной и многослойной оболочкой, содержат мало свободной воды, много липидов, термоустойчивых соединений и могут длительно (десятки лет) сохраняться в неблагоприятных условиях. Споры некоторых бацилл выдерживают кипячение и действие высоких концентраций дезинфицирующих средств. Они не похожи на споры других микроорганизмов, тем более на споры растений.

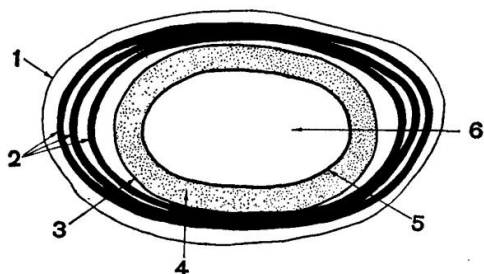


Рис. 10. Строение споры:

- 1 – экзоспориум; 2 – слой споровой оболочки; 3 – внешняя мембрана споры;  
4 – кора; 5 – внутренняя мембрана споры; 6 – сердцевина.

На образование спор затрачивается часть клетки, а остальная часть называется вегетативная. Процесс спорообразования составляет от полутора часов до суток, а иногда и более. Спорообразование происходит как в естественных условиях, так и при выращивании на питательных средах.

Спорообразование начинается с прекращения роста клетки. Формирование спор происходит в 3 фазы:

1. Подготовительная. Часть цитоплазмы загустевает – обособливается спорогенная зона. В нее переходит копия ДНК, накапливаются термоустойчивые белки, липиды. Идет отдача воды. Образуется дипиколиновая кислота, которая соединяется с молекулами  $\text{Ca}^{2+}$  и обеспечивает высокую термоустойчивость спор.

2. Формирование споры. Спорогенная зона покрывается 2 мембранами материнской клетки (за счет впячивания ЦПМ) – образуется предспора. ЦПМ делит клетку на 2 неровные части: большую и маленькую. Из маленькой формируется спора.

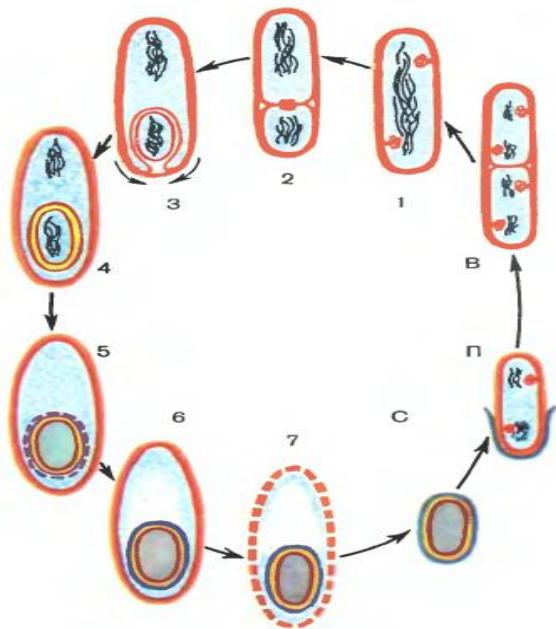


Рис. 11. Схема процесса спорообразования:

Подготовительная фаза: 1 – образование хромосомного тяжа; 2 – образование споровой перегородки (септы).

Формирования споры: 3 – окружение протопласта споры протопластом материнской клетки; 4 – формирование кортекса; 5 – начало формирования оболочки споры.

Созревание споры: 6 – завершение образования оболочки - экзоспориума и созревание споры; 7 – лизис (разрушение) материнской клетки о освобождение споры; с – свободная зрелая спора; п – прорастание споры.

Между мембранами образуется легкий слой муреина, а поверх его – толстый слой муреина – кортекс. На поверхности внешней мембраны образуется наружная оболочка, которая называется экзоспориум. Экзоспориум состоит в основном из липидов и жиров.

Таким образом, спора состоит из следующих структурных элементов: нуклеоида, уплотненной цитоплазмы (происходит дегидратация споры, белки переходят в связанное состояние, снижается активность некоторых ферментов и синтезируется дипиколинат кальция), покровных слоев, представленных цитоплазматической

мембраной, клеточной стенкой, кортексом, внутренней оболочкой, наружной оболочкой, экзоспориумом.

3. Созревание споры. Происходят внутренние биохимические процессы. Спора приобретает характерную для каждого вида бактерий форму и занимает определенное положение в клетке. Затем происходит освобождение споры от остатков материнской клетки (путем гибели и лизиса материнской клетки).

Расположение спор в клетке и внешний вид клетки со спорой – видовой признак. Они могут быть расположены в центре (центральное положение), смещены ближе к одному из концов клетки (субтерминальное положение) и находиться на одном из ее концов (терминальное положение). По внешнему виду клетки со спорой различают следующие спорообразования:

1. Бациллярное – присутствие споры не меняет внешнего вида клетки, так как ее диаметр не больше диаметра вегетативной части клетки;

2. Клостридиальное – диаметр споры больше диаметра вегетативной части и клетка расширена в месте нахождения споры, при этом клетка имеет вид веретена или лимона;

3. Плектридиальное – спора находится на конце клетки, ее диаметр больше диаметра клетки, а вегетативная часть при этом внешнего вида не меняет.

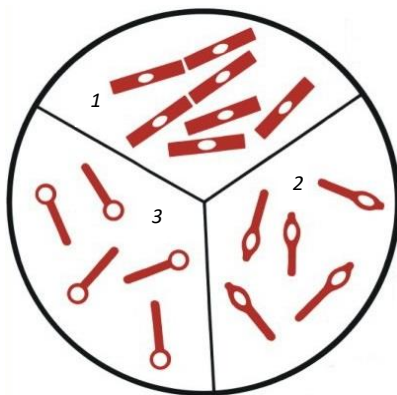


Рис. 12. Типы спорообразования:

1 – бациллярное; 2 – клостридиальное; 3 – плектридиальное.

При попадании в благоприятные условия споры прорастают в вегетативные клетки. Процесс прорастания спор начинается с поглощения воды и гидратации структур споры, сопровождающихся активацией ферментов и возрастанием дыхания. Литические ферменты разрушают многослойные покровы споры, в среду выделяется дипиколинат кальция, аминокислоты и пептиды. Спора при этом теряет до 25–30% сухой массы. В месте разрыва оболочки споры образуется ростовая трубка новой вегетативной клетки. В формировании клеточной стенки образующейся клетки участвует внутренняя мембрана споры и частично кортекс. Процесс прорастания споры длится около 4–5 часов.

Процесс прорастания спор можно индуцировать, подвергнув споры прогреванию до 60–70 °С в течении нескольких минут или кратковременному кипячению (10 минут при 100 °С). Тепловой шок должен проводиться непосредственно перед высевом спор, так как процесс активации обратим.

К другим покоящимся формам бактерий относятся: экзоспоры, цисты, микоспоры. Как и эндоспоры, все эти покоящиеся формы предназначены для перенесения бактериями неблагоприятных условий.

*Экзоспоры* возникают путем почкования материнской клетки. Они сходны по своим свойствам с эндоспорами бацилл. Образование экзоспор характерно для метанооксилирующих бактерий.

*Цисты* – это шарообразные толстостенные клетки, образование которых характерно для бактерий рода *Azotobacter*. В цисту превращается вся вегетативная клетка.

*Микоспоры* образуются также путем превращения всей клетки. Характерно образование микоспор для бактерий рода *Mycobacterium*.

## 7. СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Под систематикой понимают процесс описания, обозначения и распределения организмов по таксонам на основании данных об их сходстве и различии, а также установление эволюционной теории организмов. Систематика (таксономия) микроорганизмов является не только одним из наиболее важных и сложных, но и менее разработанных разделов микробиологии. Задачами систематики являются: классификация, номенклатура и идентификация организмов.

**Классификация** – распределение множества организмов по группам (таксонам). Система классификации организмов позволяет ориентироваться в огромном разнообразии видов.

Основной таксономической категорией является вид. Вид – это эволюционно сложившаяся совокупность особей, имеющая единый генотип, который в стандартных условиях проявляется сходными морфологическими, физиологическими, биохимическими и другими признаками.

Виды, связанные генетическим родством, объединяют в роды, роды – в семейства, семейства – в порядки, далее следуют классы, отделы, царства, домены (надцарства). В микробиологии существуют также более мелкие таксономические единицы чем вид: подвида, разновидность. Подвиды могут различаться по физиологическим (биовар), морфологическим (морфовар), или по антигенным свойствам (серовар).

Большое значение в микробиологии имеют такие понятия, как клон и штамм. *Клон* – чистая культура, полученная из одной клетки. Чистыми культурами называют искусственные разведения на питательных средах, содержащих какой-нибудь один вид микроорганизмов. Обычно клон дает начало штамму. Штамм – бактерии одного вида, выделенные из различных источников или из одного источника в разное время, или полученных в ходе генетических манипуляций. Разные штаммы одного и того же вида бактерий могут отличаться друг от друга по целому ряду свойств, например по чувствительности к антибиотикам, способности к синтезу токсинов, ферментов и др.

**Номенклатура** – присвоение названия отдельным группам и микроорганизмам. В систематике бактерий, также как в ботанике и зоологии, принята бинарная номенклатура, согласно которой бактериям присваивается название, состоящее из двух слов: первое определяет их принадлежность к определенному роду, второе – видовой эпитет. Например, *Streptococcus lactis* – Молочный стрептококк.

Названия бактериям присваивают в соответствии с правилами Международного Кодекса номенклатуры бактерий. Изменения в Кодексах принимаются на Международных конгрессах. Кодексы номенклатуры требуют, чтобы все научные названия были латинскими, написаны буквами латинского алфавита и подчинялись правилам латинской грамматики.

**Идентификация** устанавливает принадлежность микроорганизмов к определенному таксону на основании наличия конкретных признаков. В большинстве случаев идентификация заключается в определении родовой и видовой принадлежности микроорганизмов.

Определение бактерий до вида важно для медицинской, ветеринарной и промышленной микробиологии, где действующими объектами являются микроорганизмы и мельчайшие неточности в определении вида могут привести к нежелательным последствиям.

В современной систематике бактерий сложилась ситуация характерная и для классификации других организмов. Достигнуты определенные успехи в создании *филогенетической* системы классификации, отражающей основные направления эволюционного развития и родство представителей определенных таксонов, но сохраняют свое значение искусственные *фенотипические* классификации – более удобные для идентификации микроорганизмов.

В основу филогенетической классификации положена идея создания системы прокариот, отражающей родственные отношения между разными группами бактерий и историю их эволюционного развития. Фенотипическая классификация преследует, в первую очередь, практические цели, заключающиеся в том, чтобы быстрее установить принадлежность микроорганизма к определенному таксону.

В настоящее время наиболее приемлемой филогенетической системой (1985 г.) классификации прокариот, является система, основанная на сравнении последовательности нуклеотидов в 16S рРНК, состоящей из 1500 нуклеотидов. Базируется на исследованиях Карла Вёзе (1928-2012), американского микробиолога, профессора Иллинойского университета. Эта молекула считается «биологическим хронометром», позволяет определить место микроорганизма на филогенетическом древе.

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

зом, мерой эволюционного расстояния между организмами служит количество нуклеотидных замен в молекулах сравниваемых рРНК.

Известно, что в рибосомах прокариот и эукариот присутствуют 3 типа рРНК, различающихся молекулярной массой и коэффициентом седиментации. Информационная емкость крупных молекул больше, но их труднее анализировать. Поэтому наиболее удобным оказался анализ молекул рРНК средней величины: 16S (у прокариот) и 18S (у эукариот), состоящих из 1600 и 2500 нуклеотидов. К настоящему времени последовательности их изучены более чем у 500 организмов, принадлежащих к разным царствам живой природы. На основании полученных данных рассчитаны коэффициенты сходства сравниваемых организмов, что привело к неожиданным результатам: выявлены не две группы организмов, различающихся прокариотным и эукариотным типами клеточной организации, а три. Одну образуют все эукариоты: высшие растения, животные, дрожжи, водоросли и т.п. В эту группу не вошли органеллы эукариот (митохондрии, хлоропласты). Таким образом, первая группа представлена ядерно-цитоплазматическим компонентом эукариотных клеток.

Ко второй группе, получившей название бактерий, относится по давяющее большинство прокариот. Сюда же попали на основании степени гомологии 16S рРНК митохондрии и хлоропласты эукариотных клеток.

Наконец, в третью группу вошли некоторые малоизученные прокариоты, обитающие в экстремальных условиях: метанобразующие бактерии, экстремальные галофилы и термоацидофилы. Эта группа организмов получила название архебактерий.

Таким образом, все живые существа на основе анализа нуклеотидной последовательности 16S рРНК распределены в три домена (надцарства):

1. Bacteria – Бактерии
2. Archaea – Археи
3. Eucarya – Эукариоты

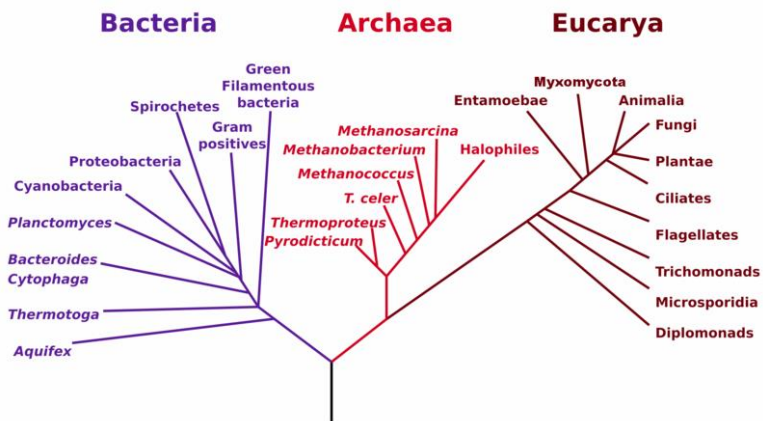


Рис. 13. Филогенетическое дерево, построенное с помощью методов молекулярной филогенетики

Следует отметить, что большое количество филогенетических групп содержат виды прокариот, которые не выделены в виде чистых культур и поэтому еще детально не изучены. Для представителей этих видов известны в настоящее время только последовательности нуклеотидов в 16S рРНК.

Все прокариоты разделены на 26 филогенетических «ветвей» (групп) на основании строения их 16SpРНК. 23 «ветви» представлены зубактериями, а 3 – архебактериями. Следует подчеркнуть, что большое количество этих филогенетических групп содержат виды прокариот, которые не выделены в виде чистых культур и поэтому еще детально не изучены. Для представителей этих видов известны в настоящее время только последовательности нуклеотидов в 16SpРНК. Из 23 групп зубактерий 2 филогенетические группы представлены грамположительными бактериями, остальные группы – грамотрицательными.

Грамотрицательные бактерии состоят из крупной группы Протеобактерий (*Proteobacteria*) и двадцати групп остальных бактерий, имеющих данный тип клеточной стенки. Протеобактерии – очень гетерогенная в морфологическом, физиологическом и биохимическом плане группа грамотрицательных бактерий. Для представителей этой группы характерны все типы энергетического метаболизма и питания. Клетки большинства видов Протеобактерий имеют

палочковидную, сферическую или вибриоидную форму. В основном размножаются бинарным делением, но для некоторых видов характерно почкование и образование плодовых тел в сложном клеточном цикле. В этой группе имеются как подвижные за счет жгутиков, так и неподвижные бактерии. По отношению к молекулярному кислороду Протеобактерии бывают облигатными аэробами, облигатными анаэробами и факультативными анаэробами. Группа Протеобактерий на основании различий в 16SpPHK разделена на 5 подгрупп: альфа, бета, гамма, дельта и эпсилон.

Кроме Протеобактерий к граммотрицательным относятся следующие основные группы эубактерий: водородные термофилы, зеленые нитчатые бактерии, зеленые серные бактерии, цианобактерии, спирохеты, цитофаги, бактериоиды, хлomidии, планктомицеты, дейнококки, термофаги, хлорофлексусы, фузобактерии, фибробактерии, термодесульфобактерии и др.

Филогенетические группы грамположительных бактерий – *Actinobacteria* и *Firmibacteria*. Группа *Actinobacteria* («актиномицетная ветвь») представлена следующими родами бактерий, имеющими в ДНК высокое содержание ГЦ-пар: *Geodermatophilus*, *Frankia*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Actinomyces*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Actinoplanes*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*. Группа *Firmibacteria* («кlostридиальная ветвь» – бактерии с низким содержанием ГЦ-пар в ДНК) состоит из родов: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Caryophanon*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Desulfotomaculum*, *Heliobacterium*, *Clostridium*.

В составе археобактерий выделяют 3 филогенетических группы: *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* и *Korarchaeota*. Группа *Crenarchaeota* представлена экстремально термофильными бактериями, большинство представителей которых осуществляют метаболизм серы, некоторые восстанавливают ионы железа и молибдена. В группу *Euryarchaeota* входят облигатно анаэробные метаногенные археобактерии, а также экстремальные термофилы и галофилы. Группа *Korarchaeota* образована археобактериями, обитающими в горячих серных источниках. До настоящего времени ни один из представителей этой группы (обладающий сходной 16S рPHK) не выделен в виде чистой культуры, поэтому их фенотипические признаки изучены крайне недостаточно.

Заканчивая рассмотрение филогенетических ветвей прокариот, следует отметить, что предложенная филогенетическая система,

основанная на исследовании нуклеотидных последовательностей только одного гена рибосомальной РНК – одна из технически удобных и разработанных систем упорядочения многочисленных организмов с целью их идентификации.

Для идентификации прокариот исследователи пользуются определителем Берги (Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology). Первое издание опубликовано в 1923 г. группой американских бактериологов под руководством Девида Берги. Последнее издание справочника состоит из 5 томов:

1. Том I (2001): «The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria».

2. Том II (2005): «The Proteobacteria» в трех книгах: «Introductory essays», «The Gammaproteobacteria», «Other classes of Proteobacteria».

3. Том III (2009): «The Firmicutes».

4. Том IV (2010): «The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes».

5. Том V (2011): «The Actinobacteria».

Основная преимущество классификации по Берги – это легкость идентификации бактерий. Для этого используют совокупность признаков:

1. *Морфологические признаки* – величина, форма, характер расположения клеток.

2. *Тинкториальные свойства* – способность окрашиваться различными красителями. Особенно важным признаком является отношение к окраске по Граму, которое зависит от структуры и химического состава клеточной стенки бактерий. По этому признаку все бактерии делятся на грамположительные и грамотрицательные. Морфологические свойства и отношение к окраске по Граму определяют принадлежность к крупным таксонам – роду, семейству и т.д.

3. *Культуральные свойства* – особенности роста на жидких и плотных питательных средах.

4. *Подвижность бактерий*. Различают подвижные (ползающие или скользящие, плавающие) и неподвижные бактерии.

5. *Спорообразование* – форма и характер расположения споры в клетке.

6. *Физиологические свойства* – способы углеродного (аутотрофы, гетеротрофы), азотного (аминоавтотрофы, аминокгетеротрофы) питания; тип дыхания (аэробы, факультативные анаэробы, облигатные анаэробы).

7. *Биохимические свойства* – способность ферментировать различные углеводы, протеолитическая активность, образование индола, сероводорода, наличие уреазы и других ферментов и т.д.

8. *Чувствительность к специфическим бактериофагам.*

9. *Антигенные свойства.* Они зависят от химического состава клеточной стенки и жгутиков бактерий.

10. *Химический состав клеточных стенок* (содержание и состав оснвных сахаров и аминокислот).

11. *Липидный и жирнокислотный состав.* Изучение состава жирных кислот проводят с помощью газовой хроматографии, которая обладает высокой разделительной способностью и чувствительностью.

12. *Белковые спектры.* С помощью методов фракционирования (двумерный электрофорез в полиакриламидном геле) разделяют сложные смеси рибосомных, мембранных или внутриклеточных белков и получают электрофореграммы, или белковые спектры, соответствующей фракции данного вида бактерий.

13. *Нуклеотидный состав* и последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК; наличие и характер минорных оснований в ДНК; нуклеотидный состав рибосомальной РНК; последовательность аминокислот в ферментных белках с аналогичными функциями.

Для классификации бактерий все более широко используют методы геносистематики (изучение нуклеотидного состава ДНК и наиболее важных характеристик генома: величины, молекулярной массы, объема и других параметров).

Прокариоты согласно данной классификации объединены в царство *Procarvotaе*, которое подразделено на четыре отдела:

1) *Gracilicutes* (от лат. *cutes* – кожа, *gracilis* – тонкий) – грамотрицательные эубактерии, имеющие клеточные стенки;

2) *Firmicutes* (от лат. *firmus* – прочный) – грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки;

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

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

В свою очередь, отделы делят на классы, порядки, семейства, роды и виды. Микроорганизмы разделены на четыре отдела главным образом на основании наличия или отсутствия клеточных стенок и их вида, а на классы, порядки, семейства, роды, виды – по совокупности морфологических и физиолого-биохимических признаков.

В отдел *Gracilicutes* входят бактерии различной морфологии с грамотрицательной клеточной стенкой. Размножение происходит в основном бинарным делением, некоторые бактерии размножаются почкованием. Эндоспор не образуют. Большинство подвижны: встречаются все типы передвижений бактерий – с помощью жгутиков, скольжением, изгибанием. В отдел входят аэробные, анаэробные и факультативно анаэробные бактерии. Отдел включает фототрофные и хемотрофные бактерии. Отдел подразделяют на три класса: *Scotobacteria*, *Oxyphotobacteria*, *Anoxyphotobacteria*.

В класс *Scotobacteria* входят грамотрицательные бактерии, не использующие световой энергии, а получающие её только в результате окислительно-восстановительных реакций. Название класса происходит от греч. *scotos* – темнота. Это самый крупный класс бактерий.

В класс *Anoxyphotobacteria* входят пурпурные бактерии, зеленые бактерии и гелиобактерии, осуществляющие аноксигенный фотосинтез (без выделения молекулярного кислорода).

Класс *Oxyphotobacteria* представлен цианобактериями и прохлорофитами, осуществляющими оксигенный фотосинтез (с выделением молекулярного кислорода). Этот фотосинтез аналогичен фотосинтезу, протекающему в растениях.

В отдел *Firmicutes* включены бактерии с грамположительной клеточной стенкой. Клетки могут быть разной формы: палочки, кокки, нитевидные, ветвящиеся. Некоторые представители образуют эндоспоры. Большинство из них неподвижны; подвижные формы имеют перитрихальное жгутикование. В состав отдела входят аэробные, анаэробные и факультативно анаэробные бактерии. Отдел состоит из двух классов: *Firmibacteria*, *Thallobacteria*.

Класс *Firmibacteria* – включает большое количество «неветвящихся» грамположительных бактерий.

Класс *Thallobacteria* включает бактерии, клетки которых способны «ветвиться».

Отдел *Tenericutes* представлен бактериями, не имеющими клеточной стенки. В связи с отсутствием клеточной стенки форма кле-

ток непостоянна: в чистой культуре одного вида одновременно присутствуют кокковидные, палочковидные, нитевидные, грушевидные, дисковидные и другие. Размножение бактерий, входящих в этот отдел, происходит бинарным делением, почкованием. Окрашивание по Граму отрицательное. Характерно образование мелких, растущих в агар колоний. Могут быть сапрофитными, паразитами или патогенами. Отдел состоит из одного класса *Mollicutes* (микоплазмы).

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

В составе четырех отделов (основных категорий) выделено 35 групп (или секций) бактерий, которые в большей или меньшей степени будут охарактеризованы далее.

К **отделу *Gracilicutes*** принадлежат:

Группа 1. Спирохеты.

Группа 2. Аэробные (или микроаэрофильные), подвижные, спиралевидные (или вибриоидные) грамотрицательные бактерии.

Группа 3. Неподвижные или, редко подвижные грамотрицательные изогнутые бактерии.

Группа 4. Грамотрицательные аэробные (или микроаэрофильные) палочки и кокки.

Группа 5. Факультативно аэробные грамотрицательные палочки.

Группа 6. Грамотрицательные анаэробные прямые, изогнутые или спиралевидные палочки.

Группа 7. Бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление серы или сульфата.

Группа 8. Анаэробные грамотрицательные кокки.

Группа 9. Риккетсии и хламидии.

Группа 10. Аноксигенные фототрофные бактерии.

Группа 11. Оксигенные фототрофные бактерии.

Группа 12. Аэробные хемолитотрофные бактерии и близкие организмы.

Группа 13. Почкующиеся и/или образующие выросты бактерии.

Группа 14. Бактерии, имеющие чехлы.

Группа 15. Нефотосинтезирующие скользящие бактерии, не образующие плодовых тел.

Группа 16. Скользящие бактерии, образующие плодовые тела.

В отдел *Firmicutes* входят:

Группа 17. Грамположительные кокки.

Группа 18. Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры.

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

Группа 20. Грамположительные палочки неправильной формы, не образующие спор.

Группа 21. Микобактерии.

Группы 22 – 29. Актиномицеты.

К отделу *Tenericutes* принадлежат:

Группа 30. Микоплазмы.

Отдел *Mendosicutes* включает:

Группа 31. Метаногены.

Группа 32. Сульфатредуцирующие архебактерии.

Группа 33. Экстремально галофильные архебактерии (галобактерии).

Группа 34. Архебактерии, лишенные клеточной стенки.

Группа 35. Экстремально термофильные и гипертермофильные архебактерии, метаболизирующие серу.

Большинство микроорганизмов, существующих в природных образцах, еще должны быть выделены в чистые культуры. Считается, что в настоящее время культивировать можно только 0,1% всего микробного разнообразия, а около 99% видов бактерий вырастить и идентифицировать не удастся, хотя в чистую культуру выделено и описано около 5000 видов прокариот.

## 8. ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ

**Микоплазмы.** Впервые микоплазму в лаборатории Пастера выявили французские исследователи в 1898 г. у заболевших плевропневмонией коров. Возбудитель изначально получил название *Mycoplasma mycoides*, он и выявленные позже микроорганизмы с подобными характеристиками на протяжении 20 лет обозначались как PPLO (pleuropneumonia-like organisms).

Микоплазмам характерны свойства бактерий и вирусов. С вирусами их роднит поведение в культурах клеток, пути передачи и течение инфекций. Обладают очень малыми размерами, являются ультрамикрорганзмиами (размер 125-150 нм), способны проходить через бактериальные фильтры.

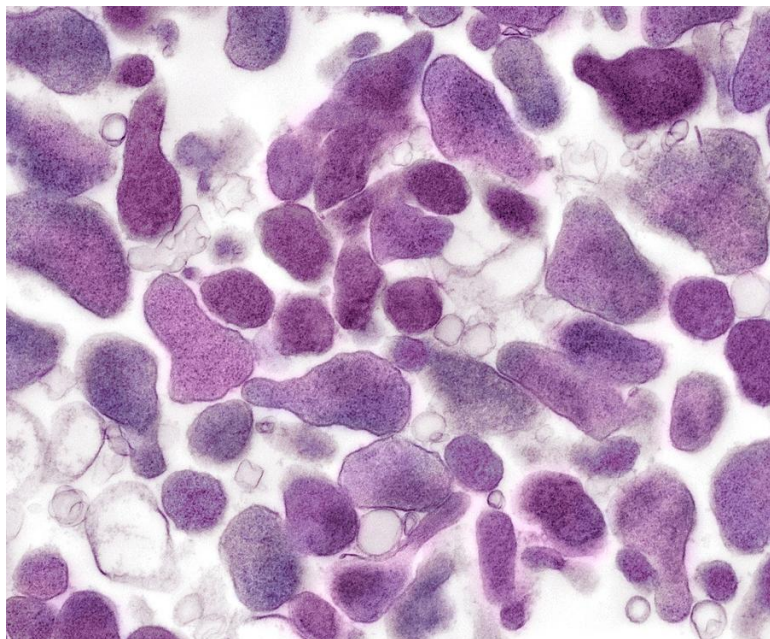


Рис. 14. Микоплазмы

В отличие от вирусов микоплазмы способны расти на питательных средах, характерным является их рост на средах в виде яичницы «глазуньи» (мелкие, растающие в агар колонии). Им присуще нали-

чие двух видов нуклеиновых кислот (ДНК и РНК). Размножаются микоплазмы бинарным делением, почкованием, фрагментацией.

Микоплазмы отличаются от остальных бактерий отсутствием жёсткой клеточной стенки, от внешней среды их отделяет лишь цитоплазматическая мембрана. Окрашивание по Граму отрицательное. Характерен полиморфизм, т. е. многообразие форм. В культуре одного вида можно выделить одновременно крупные и мелкие шаровидные, эллипсоидные, дисковидные, палочковидные и нитевидные, ветвящиеся клетки.

Большинство микоплазм являются аэробами, но имеются и облигатные анаэробы, есть виды, растущие только в условиях высокой кислотности среды и повышенной температуры. Раньше считалось, что микоплазмы в основном паразитируют на человеке и высших животных. Сейчас показано, что распространение микоплазм в природе и экологическая роль гораздо шире. Они найдены в почве, воде (особенно сточной), каменном угле и горячих источниках, обнаруживаются в организме человека, животных, растений. Некоторые виды могут вызывать пневмонии.

Как фитопатогены открыты японскими вирусологами в 1967 г. при исследовании под электронным микроскопом тканей шелковицы, пораженной карликовостью. Распространение микоплазм в растении происходит в основном по проводящим элементам флоэмы (ситовидным трубкам).

Характерные симптомы заболеваний: угнетение роста, деформация вегетативных и генеративных органов, кустистость и др. Переносчиками фитопатогенных микоплазм в природных условиях являются чаще цикадки. Фитопатогенные микоплазмы перезимовывают только в живых частях растения (клубнях, корнеплодах, луковичах, корневищах). С растительными остатками микоплазмы не сохраняются и с семенами не передаются. Микоплазменные болезни растений (столбур пасленовых, реверсия смородины и др.) очень вредоносны.

**Миксобактерии и цитофаги** широко распространены в природе, часто встречаются в почве, навозе, разложившей древесине и коре. Активно разлагают растительные остатки (окисляют целлюлозу, лигнин, хитин, гемицеллюлозу). Многие миксобактерии способны лизировать клетки прокариотных и эукариотных микроорганизмов.

*Миксобактерии* – это относительно крупные палочковидные грамотрицательные бактерии размером 0,7-10 мкм. Клетки миксо-

бактерий часто окрашены в желтый, оранжевый или красный цвет за счет каротиноидных пигментов.

Клеточная стенка не обладает жесткостью, тонкая, эластичная, способна к сокращениям наподобие «бегущей волны»; характерно образование слоя слизи, окружающего клетку. Миксобактерии передвигаются путем скольжения по твердой поверхности и способны проникать в субстрат, например, продвигаясь внутри плотных агаровых гелей.

Миксобактерии образуют специфические колонии (швармы), внутри шварма клетки обычно распределены неравномерно, большая часть их находится концентрируясь в радиальных тяжах, а иногда в массивных складках по периферии шварма. Из-за того, что миксобактерии совместно разрушают органические субстраты, в том числе и бактерии других видов, их часто сравнивают с волчьей стаей. При недостатке питательных субстратов на твердой поверхности и при числе клеток не менее  $10^5$  запускается особый цикл развития, включающий в себя формирование плодового тела и миксоспор.

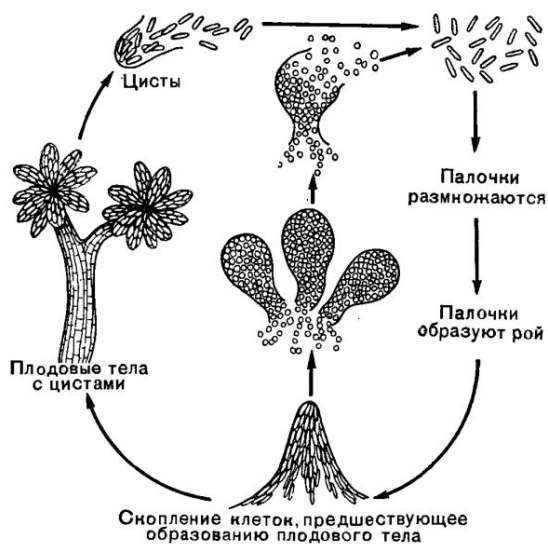


Рис. 15. Цикл развития миксобактерий из рода *Chondromyces*

После поперечного деления перетяжкой клетки собираются в группы, которые покрываются сверху слизью. Образуются ярко-

окрашенные плодовые тела крупных размеров. Плодовые тела ва­рьируют в размерах от 100 до 600 мкм и хорошо заметны благодаря яркой окраске и блестящей поверхности. Они имеют разную фор­му: от микроскопического бугорка до сложных древоподобных структур. Внутри созревающего плодового тела наступает стадия покоя вегетативных клеток – образуются микроспоры, которые устойчивы к высушиванию и довольно устойчивы к нагреванию: вы­живают при температуре 58-60 °С на протяжении 10-60 мин. Мик­роспоры могут иметь сферическую, овальную и палочковидную форму. При благоприятных условиях окружающей среды мик­роспоры прорастают в вегетативные клетки. Размер, форма, цвет плодовых тел являются видовыми признаками миксобактерий.

Миксобактерии являются облигатными аэробами. Энергию по­лучают только за счет дыхания. Большинство из них мезофиллы. Все представители – хемоорганотрофы, способные использовать самые разнообразные органические вещества в качестве источни­ков энергии и углерода. В зависимости от источников питания раз­личают бактериолитические и целлюлозолитические виды.

*Цитофаги* близки к миксобактериям, представляют собой круп­ную веретеновидную палочку, способную к скользящему движе­нию. Не образуют плодовых тел и имеют другой нуклеотидный состав ДНК. Содержание пар ГЦ у цитофаг 30-50%, у миксобактерий значительно выше – 65-70%.

Веретенообразные вегетативные клетки бактерий рода *Sporosutorphaga* могут превращаться в микроцисты. Это круглые клетки, окруженные капсулой, они находятся в стадии покоя.

Среди цитофаг встречаются патогенные представители. Напри­мер, бактерии рода *Sarposutorphaga* выделяют из полости рта, очагов поражения в легких, крови и абсцессов. Для многих цитофаг характерна способность разлагать целлюлозу, агар, пектин, хитин, крахмал.

*Цианобактерии* (сине-зеленые водоросли) относятся к фото­трофным прокариотам, окрашенным чаще в сине-зеленый цвет. Занимают промежуточное положение между бактериями и водо­рослями, их насчитывают около 150 родов, более 1000 видов. Они широко распространены в пресных водоемах, некоторые обитают в почве, в основаниях стволов деревьев, морях. Обильно размножа­ются в водоемах, загрязненных органическими веществами, поэто­му служат индикаторами загрязненности воды. Массовое размно-

жение окрашивает воду, почву в определенный цвет, это явление называется «цветением».

Среди цианобактерий есть одноклеточные формы, некоторые соединены в цепи, реже встречаются колониальные формы, они грамтрицательные, имеют капсулу, подвижные (осуществляют скользящее движение).



40  $\mu\text{m}$

Рис. Цианобактерии

Общее в структуре любого вида сине-зеленых водоростей – это слизистая оболочка (гликокаликс из пептидогликанов) и отсутствие жгутиков. Слизистую оболочку покрывает наружная мембрана. Размеры клеток цианобактерий могут быть от 1 мкм до 100 мкм. Цвет разных видов меняется от салатого до темно-синего в связи со способностью изменять соотношение фотосинтетических пигментов в клетке соответственно спектральному составу света. Это фототрофы с кислородным типом фотосинтеза, многие виды способны фиксировать атмосферный азот. В связи с этим цианобактерии первыми поселяются на почвообразующей горной породе.

Некоторые азотфиксирующие цианобактерии способны к формированию специализированных клеток: гетероцист и гормогониев. Гетероцисты выполняют функцию азотфиксации, в то время как другие клетки осуществляют фотосинтез. Их могут образовывать некоторые нитчатые цианобактерии (анабена, носток).

Цианобактерии представляют собой единственный пример прокариотического многоклеточного организма, у которого происходит функциональная специализация клеток.

Способностью к азотфиксации обладают лишь некоторые прокариотические организмы, обеспечивая все живое на Земле биологическими формами азота. Молекулярный азот, присутствующий в огромном количестве в атмосфере, может быть использован живыми организмами благодаря активности ферментного комплекса нитрогеназы. В результате работы этого комплекса происходит восстановление азота до аммиака, который потом включается в состав азотсодержащих органических молекул. Фермент нитрогеназа не активен в присутствии кислорода, поэтому гетероцисты служат оптимальным местом для анаэробной фиксации азота. Их толстая полисахаридная капсула, гликолипидный слой, подстилающий ее изнутри клетки, препятствуют проникновению молекул кислорода извне. Отсутствие активности фотосистемы II и повышенная активность дыхательных ферментов в гетероцистах усиливают защиту нитрогеназы от кислорода. Образующиеся соединения связанного азота поступают в соседние вегетативные клетки через микроплазмодесмы, а от них в гетероцисты поступает органический субстрат, необходимый для фиксации азота.

Другим приспособлением для защиты нитрогеназы от инaktivации ее кислородом служит способность некоторых видов осуществлять фиксацию азота при отсутствии фотосинтеза, в ночное время или посредством чередования фотосинтеза и азотфиксации, подчиняясь определенному эндогенному ритму. Так происходит азотфиксация у морской планктонной цианобактерии *Trichodesmium*. Массы этой цианобактерии населяют теплые моря и океаны, поэтому фиксация азота этим организмом имеет огромное значение для жизни океана.

У цианобактерий, живущих среди планктона, есть газовые везикулы, содержащие газ и придающие клеткам лучшую плавучесть.

Клетка цианобактерий – типичная прокариотическая клетка. Ядро и клеточные органеллы отсутствуют. В клетках цианобактерий нет не только ядра, но и хроматофоров – клеточных образований,

содержащих пигменты и принимающих участие в фотосинтезе, нет вакуолей. Фотосинтетический аппарат представлен тилакоидами. Их количество и характер расположения различен у разных видов цианобактерий. На поверхности тилакоидов находятся фикобилисомы – структуры, улавливающие фотоны света и передающие их реакционным центрам фотосинтетического аппарата.

Цианобактерии – фотоавтотрофные бактерии, содержащие хлорофилл а (хлорофиллы, зеленые пигменты, существуют в виде четырех форм, несколько различающихся по химическому составу: а, b, с, d) и осуществляющие фотосинтез с выделением кислорода сходным с высшими растениями образом. В периферической части клеток диффузно распределены синий и бурый пигменты, определяющие в сочетании с хлорофиллом сине-зеленый цвет этих организмов. Некоторые сине-зеленые водоросли могут иметь дополнительные пигменты, изменяющие их характерный цвет до черного, коричневого, красного. Цианобактерии могут использовать как солнечную энергию (автотрофность), так и энергию, выделяющуюся при расщеплении готовых органических веществ (гетеротрофность).

Размножаются бинарным делением, почкованием, фрагментами нитей, спорами.

Некоторые виды культивируют в промышленных масштабах для получения пищевого и кормового белка, лечебных препаратов (спирулина, носток).

Специфическим запасным веществом цианобактерий являются цианофитиновые гранулы.

По мнению ученых, именно эти организмы спровоцировали в начале протерозойского периода (примерно 2,5 млрд лет назад) глобальную перестройку атмосферы – «кислородную катастрофу». Это повлекло к кардинальным изменениям в биосфере и гуронскому оледенению.

Впервые в лабораторных условиях геном фотосинтезирующего организма был расшифрован именно на примере цианобактерии *Synechocystis*. До настоящего времени цианобактерии являются ценными биологическими объектами исследований.

**Археи.** В 70-х гг. XX в. обнаружены микроорганизмы, структурно относящиеся к прокариотному типу, но значительно отличающиеся химическим строением и способностью осуществлять уникальные биохимические процессы. Они были названы архебактериями, а в настоящее время переименованы в «археи». Типичные прокариоты, или бактерии, получили название бактерий (ранее

зубактерии). Дисциплина, которая изучает зубактерии и археобактерии, называется бактериологией.

Число известных архей по сравнению с бактериями чрезвычайно мало. Основные отличия архей от бактерий:

1. В составе клеточной стенки нет муреина. В место него содержится *псевдомуреин* и другие кислые полисахариды, поэтому красятся археи по Граму и отрицательно и положительно.

2. Особая структура липидов – в состав мембран входит один слой липидов, а не два.

3. Имеют специфический нуклеотидный состав нуклеиновых кислот.

4. Имеют специфические ферменты.

5. Отличаются специфическими экологическими нишами (встречаются в очень кислой среде, кратерах вулкана, там, где высокое содержание метана, сероводорода, высокая температура). В их состав входят термоустойчивые белки, которые выдерживают 105 °С.

Клетки архей разной формы: кокки, палочки, нити. Большинство их является строгими анаэробами, многие имеют жгутики. Ни один вид не является паразитом, не образуют спор.

Ранее археи считались *экстремофилами*, встречали в горячих источниках и соленых озерах. В настоящее время археи обнаружены в различных местах (почва, океан, болото, кишечник).

Археи осуществляют ряд биохимических процессов, не свойственных остальным живым организмам. На основании этого был сделан вывод, что археи, по-видимому, представляют собой одну из самых древних групп живых существ.

Среди архей выделяют:

1. *Метаногены* – анаэробы (восстанавливают CO<sub>2</sub> до метана по реакции:  $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 = \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O} + 31,3 \text{ ккал/моль}$ , водород потребляют из атмосферы).

2. *Экстремальные галофилы* – аэробы, способные расти в насыщенном растворе NaCl (от 12-15 до 32 %). Обладают системой фотосинтеза, отличной от системы фотосинтезирующих бактерий, так как у них нет хлорофилла, но есть бактериородопсин.

3. *Термоацидофилы* – характеризуются высокими оптимальными температурами (от +75 до +90 °С) и низким значением pH (от 5 - 6 до 1 - 2) для своего роста. Экстремальные условия существования архей указывают на то, что их предки возникли тогда, когда физические условия существенно отличались от современных. Патогенных видов среди них не обнаружено. Открытие в мире прокариот

группы архей поставило заново вопрос о путях клеточной эволюции с момента возникновения некоей гипотетической первичной клетки.

Традиционная общая схема клеточной эволюции основывается на следующих предположениях: из популяции первичных клеток в результате целого ряда событий, приведших к повышению уровня клеточной организации, под давлением естественного отбора возникла популяция предковых прокариотных клеток, из которых в конечном итоге произошли разные группы прокариот. Маловероятно, чтобы предковые прокариотные клетки все были «на одно лицо». Единственная их общая черта – прокариотная организация. Эукариотная клетка возникла в результате эндосимбиоза, в котором ядерно-цитоплазматическим компонентом, то есть клеткой-хозяином, и эндосимбионтами, превратившимися впоследствии в митохондрии и хлоропласты, были существенно различающиеся между собой прокариотные клетки. Следствием такого взгляда на общий ход эволюции явилось признание двух основных надцарств живых организмов – Прокариоты и Эукариоты.

Археи используются в производстве биогаза, очистке канализационных сточных вод, их ферменты (ДНК-полимераза для ПЦР) находят своё применение в биотехнологии.

**Актиномицеты** (лучистые грибки) – прокариоты, занимают промежуточное положение между бактериями и микроскопическими грибами. В систематике их относят к грамположительным бактериям, на питательных средах они образуют колонии, подобные бактериальным. Актиномицеты выращивают на питательной среде Чапека или крахмало-аммиачном агаре. Колонии актиномицетов обычно некрупные, разноцветные (розовые, жёлтые, коричневые, красные, чёрные, белые), плотные, кожистые, пушистые, тестообразные, срастающиеся с субстратом.

Актиномицеты подобно грибам состоят из мицелия, который придает колонии лучистый вид, а также способны размножаться спорами, фрагментацией. Мицелий гораздо тоньше, чем у микроскопических грибов. Толщина мицелия актиномицетов – 0,5-1,0 мкм.

Мицелий у актиномицетов может быть двух видов: субстратный, или питательный (погружен в питательную среду и выполняет функции питания) и воздушный (находится над питательной средой, на нем формируются споры и он выполняет функцию размножения, придает колонии лучистый вид).

К низшим актиномицетам относят *микобактерии* (например, возбудители туберкулеза, проказы) и *микококки*, у которых мицелий находится в зачаточном состоянии.

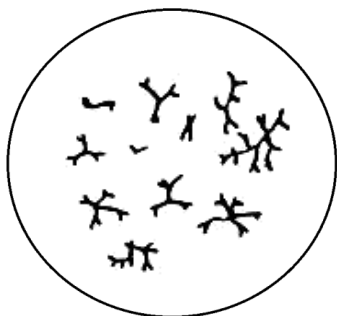


Рис. 16. Микобактерии

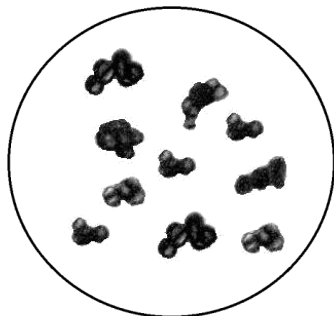


Рис. 17. Микококки

К высшим актиномицетам относят стрептомицеты, проактиномицеты, микромоноспоры, франки.

*Стрептомицеты* имеют два вида мицелия. Субстратный просматривается в виде тонких разветвленных нитей, воздушный образует споры.

У *проактиномицетов* (нокардий) воздушный мицелий отсутствует или слабо развит, а субстратный выполняет функции и питания, и размножения. Он хорошо виден в виде длинных и коротких нитей, которые на определенных стадиях расчлняются на палочковидные фрагменты, в дальнейшем переходящие в палочки, которые затем становятся спорами, из которых потом вновь образуется мицелий.

У *микромоноспоры* мицелий тоже только субстратный, на гифах которого образуется по одной споре, дающей затем начало новому мицелию.

Франки имеют истинный, септированный мицелий. Вызывают образование клубеньков на корнях небобовых, чаще древесных растений (ольха, облепиха, лох и др.). В клетках клубенька, заполненными гифами, образуются сферические или булавовидные вздутия. Способны фиксировать молекулярный азот атмосферы.

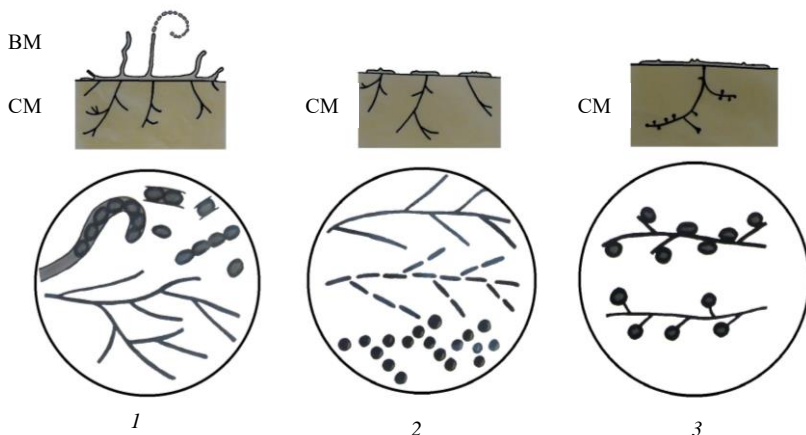


Рис. 18. Высшие актиномицеты:  
 1 – стрептомицеты; 2 – проактиномицеты; 3 – микромоноспора;  
 BM – воздушный мицелий; CM – субстратный мицелий

Актиномицеты являются обычными обитателями почвы, придают ей специфический землистый запах, разрушают многие органические соединения, могут вызывать порчу пищевых продуктов. Огромное значение имеют виды актиномицетов, являющиеся продуцентами антибиотиков (стрептомицин, тетрациклин, левомицетин и др.). Некоторые актиномицеты являются продуцентами ферментов, аминокислот, органических кислот. Представители рода *Frankia* образуют клубеньки на корнях древесных и кустарниковых растений, способны фиксировать атмосферный азот.

Большинство актиномицетов – сапрофиты, но среди них имеются и патогенные виды, вызывающие тяжелые болезни человека и животных (актиномикозы), сопровождающиеся разрушением мягких тканей и костей. Среди них встречаются фитопатогенные виды.

**Микроскопические грибы** являются эукариотами, обладают признаками растений и животных. Они характеризуются наличием толстой твердой клеточной стенки, в состав которой входит хитин, отсутствием хлорофилла, гетеротрофным типом питания, отсутствием подвижности, интенсивным ростом в течение всей жизни, поглощением пищи путем всасывания. К ним относятся микроскопические мицелиальные (плесневые) грибы и дрожжи.

*Микроскопические мицелиальные грибы* образуют на питательных средах пушистый, часто пигментированный мицелий. Мицелий – это совокупность ветвящихся гиф (нитей), составляющих вегетативное тело гриба (таллом). Диаметр гиф 5-50 мкм, длина различная, часто достигают большой длины. Гифы образуют колонии, размеры которых во много раз превышают размеры колоний бактерий и дрожжей. Часто внутри гиф имеются включения жира, гликогена, волютина.

Грибы, имеющие несептированный (без перегородок) одноклеточный мицелий, называются низшими. У высших грибов мицелий многоклеточный. Мицелий бывает субстратным и воздушным. Субстратный мицелий – это гифы, растущие в субстрат. Воздушный мицелий поднимается над субстратом, имеет плодоносящие гифы, на которых образуются споры.

Размножаются мицелиальные грибы бесполом и половым путем. Наиболее распространенный способ бесполого размножения грибов – размножение спорами, которые образуются на специализированных органах. У одних грибов (*Mucor*) споры образуются в спорангиях и их называют эндоспорами, у других (*Penicillium*, *Aspergillus*) – открыто на гифах или мицелии и называются экзоспорами или конидиями. Бесполое размножение осуществляется также фрагментами мицелия. Грибы, способные к половому размножению, относятся к совершенным, неспособные – к несовершенным.

Споры грибов весьма устойчивы к неблагоприятным факторам, сохраняются в условиях повышенной солености, пониженной влажности и температуры.

В основу систематики грибов положено большое разнообразие способов и органов их размножения. Микроскопические мицелиальные грибы относятся к 4 классам:

*Зигомицеты* (*Zygomycetes*) относятся к низшим совершенным грибам. Род *Mucor* (муконовые плесени) – это широко распространенные в природе представители класса зигомицетов, называемые также *головчатой плесенью*. Они имеют мицелий, состоящий из сильно разветвленной клетки. Мицелий многоядерный, не имеет перегородок. От мицелия отходят плодоносящие гифы – спорангиеносцы, которые на концах образуют закругленное цилиндрическое утолщение (колумелла), на которой находится спорангий со спорами. При созревании спорангий разрывается, спорангиеспоры освобождаются и разносятся воздушными потоками. Некоторые муко-

ровые плесени вызывают порчу пищевых продуктов. Они растут на стенах сырых помещений, гниющих органических субстратах в виде пушистого сероватого налета. Некоторые виды используют в промышленности для производства различных органических веществ. Вызывают плесневение муки, зерна, некоторые из них патогенны для животных и человека.

Грибы рода *Rhizopus* отличаются от мукоровых тем, что от их мицелия отходят побеги (*столоны*), имеющие подобие корневых волосков. Спорангии вначале белые, а в зрелом состоянии – черные.

**Аскомицеты** (*Ascomycetes*) – сумчатые нитевидные грибы, имеющие септированный мицелий и половой процесс. Это высшие совершенные грибы. Свое название аскомицеты получили от основного органа спороношения – *аски* (сумка), являющегося зиготой. Аск содержит от 4 до 8 гаплоидных половых спор. В результате разрыва аски споры освобождаются и, прорастая, дают начало новому мицелию.

*Под Aspergillus* (леечная плесень) насчитывает более 200 видов. Мицелий септирован. Конидиеносцы (у некоторых видов несептированы) на вершине образуют расширение в виде головки, от которой отходят ответвления (стеригмы) с отшнуровывающимися от них конидиями. Конидии располагаются по радиусам шара. Конидии бывают окрашены в различные цвета (черные, зеленые и др.), часто покрыты тонкими щетинками. Аспергилловые грибы широко распространены в природе, принимают участие в минерализации органических веществ. Некоторые виды применяют в промышленности для получения лимонной кислоты, ферментных препаратов. Некоторые виды могут продуцировать токсины, вызывающие пищевые отравления – микотоксикозы.

*Под Penicillium* (кистевидная плесень) имеет ветвящийся септированный мицелий, от которого отходят септированные конидиеносцы, разветвляющиеся на концах в виде отростков (стеригм). От стеригм отходят конидии, расположенные в виде цепочек. Споры гладкие, шаровидной формы. У разных видов споры разного цвета (белые, зеленые, желтые и др.). Перед прорастанием конидии значительно увеличиваются в объеме. Пенициллиновые грибы широко распространены в почве, кормах, плохо проветриваемых и сырых помещениях. Многие виды вызывают порчу пищевых продуктов. Широко используются в промышленности для получения антибио-

тиков, ферментных препаратов, некоторые виды участвуют в созревании сыров.

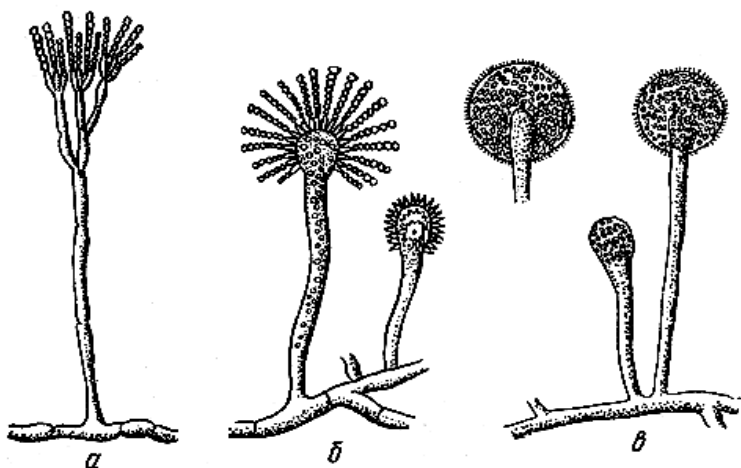


Рис. 19. Плесневые грибы:  
а — *Penicillium*; б — *Aspergillus*; в — *Mucor*.

**Базидиомицеты** (*Basidiomycetes*) отличаются образованием половых спор на специальных выростах – базидиях, которые бывают одноклеточные и с перегородками. На базидиях экзогенно обычно образуется четыре базидиоспоры, которые соединяются с базидией нитевидными или роговидными отростками – стеригмами.

**Дейтеромицеты** (*Deuteromycetes*), или *несовершенные грибы* не имеют полового процесса и обладают септированным мицелием. Это высшие несовершенные грибы. Под *Fusarium* насчитывает около 800 видов. Мицелий грибов чаще всего развивается в субстрате и редко на поверхности. Размножаются грибы конидиями, которые имеют серповидную форму. Большое число видов вызывает у растений заболевания – фузариозы, является причиной гнилей плодов и овощей. Фузариозом поражается зерно в период созревания с выделением токсина, вызывающего тяжелое отравление.

**Дрожжи.** К этой группе микроорганизмов относятся микроскопические одноклеточные грибы, не имеющие мицелия. Дрожжевая клетка является эукариотной и имеет типичное для нее строение, содержит много запасных веществ – волютин, гликоген, капли жира, зерна белковых веществ. Клетки округлой, овальной

или слегка удлинненной формы, диаметр – 8–10 мкм.

Дрожжи неподвижны. Факультативные анаэробы (если есть кислород, то происходит дыхание, нет – спиртовое брожение), гетеротрофы, предпочитают кислую реакцию среды (рН 4-5).

Дрожжи размножаются вегетативным путем (почкование, деление, почкующееся деление), спорами (хламидоспорами и баллисто-спорами) и половым путем.

При благоприятных условиях дрожжи размножаются обычно почкованием. На каком-либо месте клетки появляются выросты – почки, которые дают начало новой клетке со всеми составными ее частями. Процесс почкования длится около двух часов.

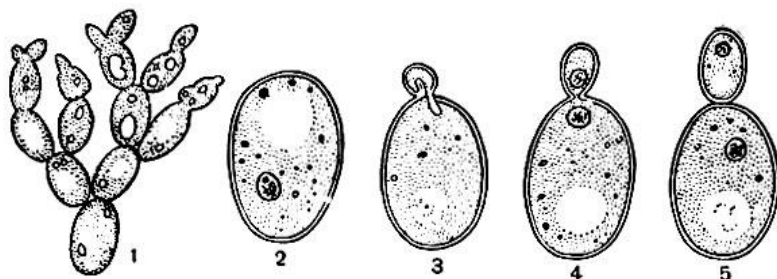


Рис. 20. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*: 1 - цепочка почкующихся дрожжей, 2 - отдельная клетка, 3, 4, 5 - почкующиеся клетки.

Из одной материнской клетки может образовываться несколько почек (множественное почкование). Почкующиеся клетки могут не разъединяться и формировать псевдомицелий (род *Candida*).

При простом делении в середине клетки образуется перегородка, которая затем раздваивается, и получаются две клетки.

При почкующимся делении формирующаяся полярно на материнской клетке почка отделяется от нее септой (перегородкой) в районе перешейка.

При половом размножении образуются аскоспоры (эндогенные) или споридии (экзогенные). Морфологически раздельнополюсть дрожжей ничем не проявляется. Поэтому в микологии используется термин «тип спаривания», обозначаемый знаками «+» и «-» или буквами греческого ( $\alpha$  и  $\alpha_1$ ) или латинского ( $h^+$  и  $h^-$ ) алфавита.

Спорообразование у дрожжей является не только способом размножения, но и служит для перенесения неблагоприятных условий.

Споры дрожжей выдерживают температуру на 10 °С выше, чем вегетативные клетки (40-60 °С).

Дрожжи встречаются на поверхности растений, в почве, воде, на пищевых продуктах, в организме насекомых, животных, человека. Они могут вызывать заболевания растений, животных, человека. Дрожжи широко используются в пищевой промышленности (хлебопечение, производство спирта, вина, пива), в микробиологической промышленности как продуценты кормового белка, белково-витаминных препаратов, ферментов и т.п. Дрожжи могут вызывать порчу пищевых продуктов, изменяя вкус, запах и внешний вид продуктов, вызывая их порчу.

Хлебные (пекарские) дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* одноклеточные, немиецеллярные. Клетки их округлой, овальной или слегка удлинённой формы, диаметр – 8–10 мкм, имеют хорошо заметное под микроскопом ядро.

**Неклеточные организмы.** Особое место среди микроорганизмов занимают вирусы (от лат. *virus* – яд) – мельчайшие простейшие формы жизни, стоящие на грани между живым и неживым. Являются облигатными *внутриклеточными паразитами*, ультрамикроорганизмы имеющие размер в среднем 5–50 нм.

Они представляют собой переходную форму между неживой и живой материей. Вирусы способны размножаться только в клетках других организмов. Вне клеток организмов они не проявляют никаких признаков жизни. Вирусы не имеют клеточного строения, содержат только один тип нуклеиновой кислоты, не имеют обмена веществ, не способны к росту и бинарному делению, используют рибосомы клетки хозяина для синтеза собственных белков. Вместе с тем вирусы содержат генетическую информацию, которую могут передавать своему потомству.

Первым открытым вирусом был вирус табачной мозаики, обнаруженный русским ученым Д.И.Ивановским в 1892 году при изучении мозаичной болезни табака в Никитском ботаническом саду. Было обнаружено болезнетворное начало, которое обладало новыми, до того времени неизвестными качествами. Это болезнетворное начало было во много раз меньше самых мелких микроорганизмов и проходило через бактериальные фильтры. В 1898 г. М. Бейеринк назвал возбудителя табачной мозаики вирусом. В настоящее время известно несколько тысяч вирусов.

Вирусы существуют в двух формах – внеклеточной (вирион) и внутриклеточной. Сформированная вирусная частица называется

*вирион*. Вирионы могут иметь разнообразную форму: палочковидную, цилиндрическую (вирус табачной мозаики, вирус белой мозаики огурца), нитевидные (вирус картофеля, вирус мозаики лука, вирус желтухи сахарной свеклы), сферическую, напоминающую многогранники (грипп, вирус бронзовости томата), кубовидную (оспа), пулевидную (бешенство), булавовидную (вирусы бактерий).

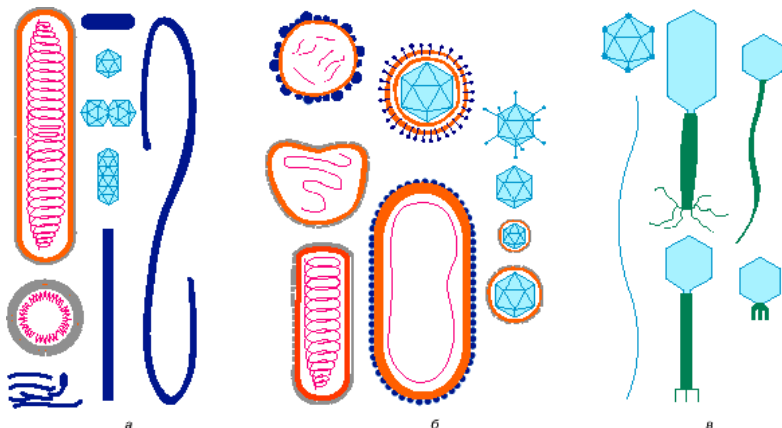


Рис. 21. Разнообразие форм и размеров вирусов. Схематическое изображение некоторых вирусов растений (а), животных (б) и бактериофагов (в)

Вирионы видны только в электронный микроскоп. Их размеры варьируют в широких пределах – от 10-12 нм (вирус ящура, полиомиелита) до 300-400 нм (вирус оспы, герпеса). Длина нитевидных вирусов может достигать 2000 нм. Размеры вирионов определяют: фильтрованием через фильтры с известной величиной пор; ультрацентрифугированием: диффузией; фотографированием в электронном микроскопе.

Вирусы имеют уникальный геном, так как содержат либо ДНК, либо РНК. Поэтому различают ДНК-содержащие и РНК-содержащие вирусы. Они обычно гаплоидны, то есть имеют один набор генов. Геном вирусов представлен различными видами нуклеиновых кислот: двунитчатыми, однонитчатыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными.

Среди РНК-содержащих вирусов различают вирусы с положительным (плюс-нить РНК) геномом. Плюс-нить РНК этих вирусов выполняет наследственную функцию и функцию информационной

РНК (иРНК). Имеются также РНК-содержащие вирусы с отрицательным (минус-нить РНК) геномом. Минус-нить РНК этих вирусов выполняет только наследственную функцию. Геном вирусов способен включаться в состав генетического аппарата клетки в виде провируса, проявляя себя генетическим паразитом клетки. Нуклеиновые кислоты некоторых вирусов (вирусы герпеса и др.) могут находиться в цитоплазме инфицированных клеток, напоминая плазмиды.

По строению вирусы могут быть простыми и сложными.

*Простые вирусы* (например, вирус табачной мозаики – ВТМ) состоят из нуклеиновой кислоты, плотно упакованной в белковую оболочку – капсид (от лат. *capsa* – футляр), имеющий строго упорядоченную структуру. По морфологической структуре это нуклеокапсиды (поэтому вирусную частицу также называют нуклеокапсидом), а по химическому составу это нуклеопротеиды.

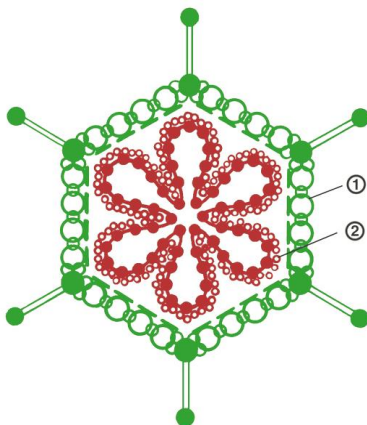


Рис. 22. Простой вирус: 1 – капсид; 2 – геном

*Сложные вирусы* (например, вирус гриппа) помимо нуклеиновой кислоты и белков капсида имеют внешнюю оболочку – суперкапсид, который представляет собой липопротеидную мембрану. В суперкапсиде содержатся белки и углеводы клетки хозяина. Вирусные капсиды состоят из субъединиц – капсомеров (одна или несколько белковых молекул, белок – глобулин). Вирусные капсиды

имеют упорядочную организацию, в основе которой лежит принцип спиральной или кубической симметрии.

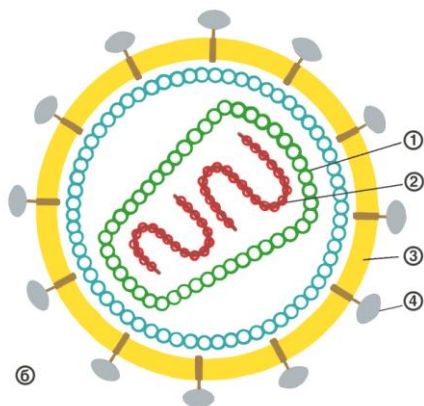


Рис. 23. Сложный вирус: 1 – капсид; 2 – геном; 3 – липопротеиновая оболочка (суперкапсид); 4 – гликопротеиды

Все вирусы включены в царство *Vira*, которое подразделяется на два подцарства по типу нуклеиновых кислот – рибовирусы (РНК-содержащие вирусы) и дезоксивирусы (ДНК-содержащие вирусы). При этом наряду с двухцепочечными ДНК и одноцепочечными РНК встречаются одноцепочечные ДНК и двухцепочечные РНК. ДНК могут иметь линейную и кольцевую структуры, а РНК, как правило, линейную. Подавляющее большинство вирусов относится к РНК-типу.

ДНК содержат вирусы оспы, герпеса, ветрянки, бородавок и т.д. РНК содержат вирусы гриппа, бешенства, СПИДа, кори и т.д.

В зависимости от организма хозяина выделяют вирусы, поражающие животных и человека, растения и микроорганизмы.

Вирусы не размножаются бинарным делением. В 50-х годах XX в. было установлено, что размножение вирусов происходит путем **репродукции** (англ. *reproduce* – воспроизводить, делать копию), т.е. путем воспроизведения их нуклеиновых кислот и синтеза белков с последующей сборкой вирионов. Эти процессы происходят в разных частях клетки хозяина (например, в ядре и цитоплазме). Репродукция вирусов характеризуется последовательной сменой отдельных стадий:

1. *Адсорбция.* Проникновение вирусной частицы в клетку начинается с ее адсорбции на клеточной поверхности благодаря взаимодействию клеточных и вирусных рецепторов. Рецепторы (лат. *receptor* – принимающий) – чувствительные специальные образования, воспринимающие раздражения, это молекулы или молекулярные комплексы на поверхности клеток, способные распознавать специфические химические группировки, молекулы или другие клетки и связывать их. У сложных вирионов рецепторы располагаются на внешней оболочке в виде шиповидных выростов или ворсинок, у простых вирионов – на поверхности капсида.

2. *Проникновение вириона в клетку хозяина.* Пути внедрения вирусов в чувствительные к ним клетки неодинаковы. Многие вирионы могут проникать в клетку путем пиноцитоза (гр. *pinō* – пить, выпивать), когда образующаяся пиноцитарная вакуоль втягивает вирион внутрь клетки. Другие вирионы могут попадать в клетку прямым путем через ее оболочку.

3. *Дезинтеграция* (или «раздевание») вириона – освобождение нуклеиновой кислоты от внешней оболочки и капсида. После проникновения вириона в клетку капсид претерпевает изменения, приобретает чувствительность к клеточным протеазам, разрушается, освобождая нуклеиновую кислоту. У некоторых бактериофагов в клетку проникает свободная нуклеиновая кислота. Фитопатогенные вирусы проникают через повреждения в клеточной стенке, после чего адсорбируются на внутренних клеточных рецепторах и высвобождается нуклеиновая кислота.

4. *Синтез вирусных белков и репликация нуклеиновой кислоты.* Синтез вирусспецифичных белков происходит с участием информационных РНК (у одних вирусов они входят в состав вирионов, а у других синтезируются в зараженных клетках на матрице вирионной РНК или ДНК). Происходит репликация вирусных нуклеиновой кислоты.

5. *Сборка, или морфогенез вириона.* Формирование вирионов возможно только при условии строго упорядоченного соединения вирусных структурных полипептидов и их нуклеиновых кислот, что обеспечивается самосборкой белковых молекул вокруг нуклеиновой кислоты.

6. *Выход вириона из клетки хозяина.* Из клетки вирусные частицы выходят одновременно (при разрушении клеток) или постепенно (без разрушения клеток).

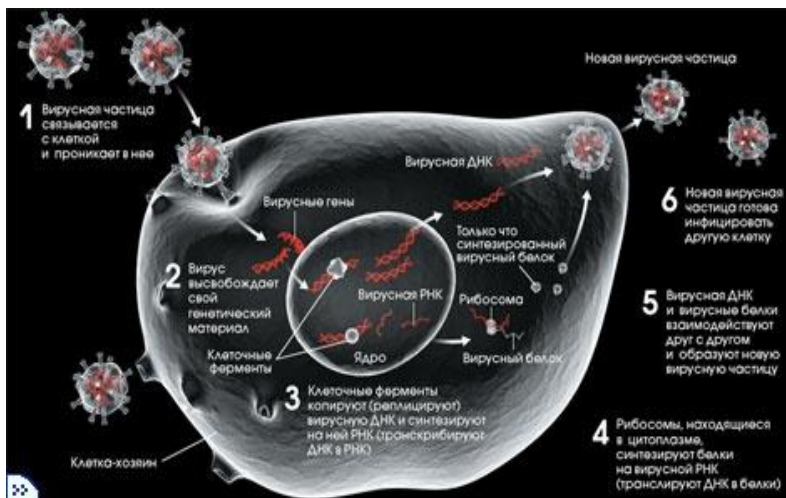


Рис. 24. Схема размножения вирусов

В 40-50-е годы XX века Л.А. Зильбером сформулирована вирусогенетическая теория происхождения злокачественных опухолей, получившая в дальнейшем экспериментальное подтверждение. Установлена вирусная этиология целого ряда онкологических заболеваний.

**Вирусы растений** называются фитопатогенными вирусами. Эти вирусы попадают внутрь растительных клеток через повреждения, с помощью переносчиков насекомых или нематод, с семенами. Фитопатогенные вирусы вызывают у растений множество болезней. Особенно большой вред приносят вирусы, поражающие картофель. Известно около 20 вирусов картофеля, но наиболее вредоносны шесть: нитевидные вирусы X, S, M, Y, A и небольшой сферический вирус скручивания листьев картофеля.

Хорошо изучен вирус табачной мозаики, имеющий палочковидную форму и представляющий собой полый цилиндр. Стенка цилиндра образована молекулами белка, а в его полости расположена спираль РНК (рис.). Белковая оболочка защищает нуклеиновую кислоту от неблагоприятных условий внешней среды, а также препятствует проникновению ферментов клеток к РНК и ее расщеплению.

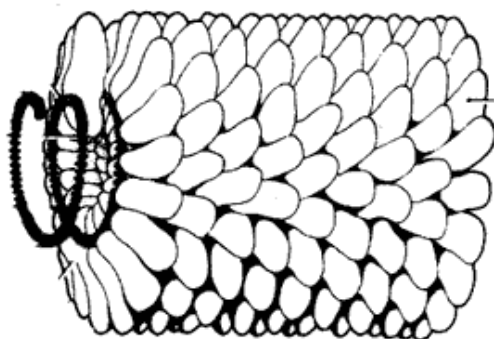


Рис. 25. Вирус табачной мозаики

Вирусные заболевания у цветковых растений проявляются по-разному. Часто изменяется внешний вид, например окраска листьев, форма листа, многие вирусы угнетают рост растения и проявляется карликовость. Вирусная инфекция может подавлять цветение, уменьшать число цветков, вызывать опадание незрелых плодов и т. д. Иногда вирусы вызывают гибель растений.

**Вирусы микроорганизмов (Фаги)** (от лат. *phagos* — пожирающий) — это облигатные паразиты, вызывающие растворение микроорганизмов.

Различают:

1. Бактериофаги - вирусы бактерий;
2. Актинофаги - вирусы актиномицетов;
3. Микофаги - вирусы грибов;
4. Цианофаги - вирусы цианобактерий.

В 1898 г. русский ученый Н.Ф. Гамалея при изучении сибирской язвы крупного рогатого скота заметил, что возбудители болезни растворялись под воздействием какого-то агента. В 1915 г. подобный феномен наблюдал английский бактериолог Ф. Туорт (при длительном выращивании на питательной среде стафилококков происходило их растворение). В 1917 г. канадский микробиолог Ф. Д'Эрелль наблюдал лизис бактериальной культуры дизентерии под влиянием фильтрата испражнений больных людей. Агента, растворяющего бактерии, Д'Эрелль назвал бактериофагом, т.е. «пожирателем бактерий». Д'Эрелль высказал предположение, что открытый бактериофаг представляет собой вирус бактерий, который размножается внутри бактериальной клетки, вследствие чего она разруша-

ется, и в окружающую среду выходят частички вновь образовавшегося вирусного потомства.

Большинство фагов имеют булавовидную форму (рисунок). Фаги состоят из головки, содержащей ДНК, и хвостовидного отростка. Размеры фаговой частицы 20-200 нм, средний размер головки 60-100 нм, длина отростка 100-200 нм. Многогранная головка покрыта снаружи белковой оболочкой. Отросток представляет собой стержень, покрытый чехлом. Имеются также базальная пластинка, зубцы, нити. Выявлены и другие морфологические группы фагов (с длинными, короткими отростками, без отростка, нитевидные). В области базальной пластинки находится фермент бактериофаговый лизоцим, который способен разрушать пептидогликан (муреин) клеточной стенки бактерий. Здесь же имеется АТФ-аза, которая регенерирует энергию для сокращения чехла отростка бактериофага.

Фаг состоит из нуклеиновой кислоты (40%) и белка (60%). Большинство фагов содержат ДНК, лишь некоторые – РНК. ДНК в основном двунигчатая, реже однонигчатая, РНК однонигчатая. В составе ДНК некоторых фагов обнаружены необычные азотистые основания.

Фаги *специфичны* в отношении хозяина – определенный фаг поражает только один штамм или ограниченное число родственных штаммов или видов. И в то же время один вид бактерий может поражаться различными вирусами (например, у кишечной палочки десятки фагов).

Фаги выдерживают давление до 6000 атм., устойчивы к действию радиации, сохраняют активность при рН от 2,5 до 8,5, хорошо переносят замораживание и высушивание. Однако они быстро погибают при кипячении, действии кислот, ультрафиолетовых лучей, химических дезинфицирующих веществ.

Взаимодействие фага с бактериальной клеткой состоит из нескольких этапов: адсорбция; проникновение нуклеиновой кислоты; биосинтез фаговой нуклеиновой кислоты и белков капсида; морфогенез фага; выход фаговых частиц из бактериальной клетки.

Фаговые частицы разрывают бактериальную клетку и выходят наружу. Происходит лизис зараженных бактерий, который осуществляется при участии фагового лизоцима, накапливающегося в процессе репродукции. Фаги, вызывающие лизис бактериальной клетки, называются *вирулентными*.

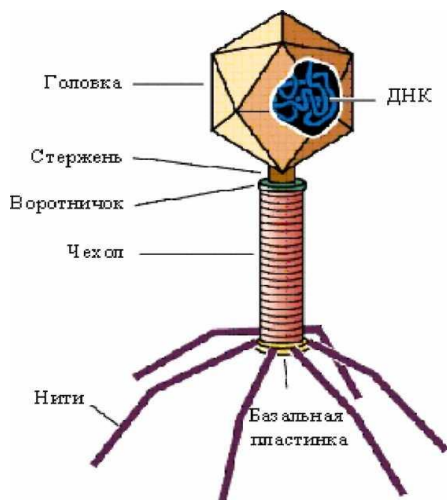


Рис. 26. Строение бактериофага

Лизогения – это тип взаимодействия фагов с бактериями, когда фаги не разрушают бактерии, а делают их способными продуцировать фаги вследствие присутствия в геноме бактерий интегрированной фаговой ДНК. Фаги, не разрушающие клетку, называются *умеренными*, а бактерии, несущие умеренный фаг, получили название *лизогенных*.

В лизогенных бактериях фаг находится в состоянии *профага*, каждая лизогенная клетка несет один профаг. Лизогенная культура приобретает ряд полезных для нее свойств: невосприимчивость к повторному заражению гомологичным вирулентным фагом, способность передавать фаг по наследству и продуцировать ряд веществ, синтез которых детерминируется профагом.

Фаги встречаются в кишечнике человека и животных, в сточных водах, почве. Участвуют в процессах самоочищения почвы, воды. Препараты фагов применяют для лечения и профилактики инфекционных болезней, а также в диагностике при идентификации микроорганизмов. Используют как средство защиты растений от фитопатогенных бактерий. Фаги служат удобной моделью для решения важнейших проблем молекулярной биологии, вследствие простоты культивирования, короткого периода генерации, высокого выхода потомства и возможности точного его количественного учета.

**Вироиды** – патогены, которые состоят из короткого фрагмента РНК, не покрытой белковой оболочкой. Они очень мелкие, в десятки раз меньше самых мелких из известных вирусов. Открыты в 1971 г американским фитопатологом Т.О. Динером.

Вызывают заболевания растений (например, веретеновидность клубней картофеля). Наиболее вероятным способом передачи виридов является передача через механические повреждения. Такой механизм передачи широко распространён среди патогенов растений. Инфекционный агент попадает в незаражённое растение при непосредственном контакте с заражённым, при использовании заражённых садовых инструментов, через семена, пыльцу или через насекомых-переносчиков (тлей).

При виридных инфекциях наблюдаются разнообразные симптомы, которые могут затрагивать как всё растение в целом, так и отдельные органы: листья, плоды, цветки, корни, органы запаса. К числу таких симптомов можно отнести обесцвечивание листьев, карликовость, появление оранжевых пятен, усиленное образование плодов, из которых лишь немногие созревают, и др.

Некоторые растения могут служить бессимптомными носителями виридов. Например, вириод веретеновидности клубней картофеля встречается в основном в декоративных растениях семейств Паслёновые, Норичниковые и Астровые, у которых не вызывает каких-либо симптомов, однако у томатов и картофеля он вызывает серьёзное заболевание.

Вызывая заболевания культурных и декоративных растений, вириды оказывают большое влияние на мировое сельское хозяйство. К настоящему моменту виридные заболевания распространены на всех континентах, на которых имеют различное значение в зависимости от растения-хозяина и местных фитосанитарных мер.

В 2014 году Европейско-средиземноморская организация по защите растений включила в список патогенов растений, требую-

щих объявления карантина, три вида вириодов: вириод каданг-каданга кокосовой пальмы, вириод карликовости хризантемы и вириод веретеновидности клубней картофеля. Ещё один вид, вириод апикальной карликовости томатов, попал в список патогенов, вызывающих серьёзные опасения.

**Прионы** представляют собой особые инфекционные белки, отличающиеся исключительно высокой стабильностью к термической, ферментативной и химической обработке.

Открыты американским биологом С. Прузинером в 1982 г., которому присудили за изучение прионов в 1997 г. Нобелевскую премию.

Сырье животного происхождения и продукты из него могут содержать прионы, поэтому потребление таких продуктов приводит к развитию тяжелых заболеваний, связанных с поражением нервной системы и других органов.

Вызывают заболевания человека и животных (болезнь Крейтцфельда-Якоба, губкообразная энцефалопатия или коровье бешенство). Прионы в первую очередь разрушают нейроны, поэтому более повреждается нервная система, ее центральная часть. Заболевания очень тяжелые, заканчиваются смертью. Например, болезнь Клайтцфельда-Якоба сопровождается неадекватным поведением, разной степени амнезией, потерей внимания и т. п. Методы лечения не разработаны.

Прионовые заболевания могут наследоваться по аутосомно-доминантному типу или быть приобретенными. Пути заражения человека – при поедании мяса, при медицинских манипуляциях (прививках, операциях, пункциях).