

Учреждение образования
«Брестский государственный университет имени А. С. Пушкина»

ШКУРАТОВА Н.В.

МИКРОБИОЛОГИЯ

Электронный учебно-методический комплекс
для специальности
6-05-0113-03 Природоведческое образование (биология и химия)



Брест
БрГУ имени А. С. Пушкина



ВВЕДЕНИЕ

Учебная дисциплина «Микробиология» включена в модуль «Структурная организация и разнообразие живых организмов» государственного компонента учебных планов по специальности 6-05-0113-03 Природоведческое образование (биология и химия) рег. № Е-6-001-23/уч., утвержденного 23.02.2023 г., рег. № Е-6-006-24/уч., утвержденного 22.05.2024 г.

Целью учебно-методического комплекса по дисциплине «Микробиология» является способствование освоению основ фундаментальных и практических знаний в области микробиологии, стимулирование интереса студентов к основным направлениям микробиологической науки, содействие развитию способности применять освоенные знания для решения практических задач по культивированию, идентификации, классификации и использованию микроорганизмов.

В результате изучения дисциплины студенты должны знать:

- структурную организацию и закономерности функционирования клеток бактерий;
- характеристику основных групп бактерий, их представителей;
- роль микроорганизмов в круговороте веществ, почвообразовательных процессах и плодородии почвы;
- методические приемы работы с микроорганизмами;
- новейшие достижения в области микробиологии и перспективы их использования в практических целях;
- состав питательных сред и основные параметры роста культур.

Студенты должны уметь:

- выделять морфологические, цитологические, биохимические, физиологические особенности прокариотических и эукариотических микроорганизмов;
- оценивать систематическое положение прокариот по классификации Берги;
- определять отношение микроорганизмов к экологическим факторам;
- использовать различные типы питательных сред для культивирования микроорганизмов;
- использовать различные методы окраски и микроскопии микроорганизмов;
- владеть:
 - навыками приготовления препаратов бактерий для микроскопического изучения;
 - методикой идентификации прокариот.

Учебно-методический комплекс составлен на основе составлена на основе образовательного стандарта высшего образования по специальности 6-05-0113-03 «Природоведческое образование (с указанием предметных областей)», утвержденного 02.08.2023 г. № 225; учебного плана учреждения высшего образования по специальности 6-05-0113-03 Природоведческое образование (биология и химия): рег. № Е-6-001-23/уч., утвержденного 23.02.2023 г.; рег. № Е-6-006-24/уч., утвержденного 22.05.2024 г.

Разработанный учебно-методический комплекс содержит разделы: теоретический (курс лекций), практический (лабораторный практикум), вспомогательный (содержание учебного материала; примерный тематический план; вопросы к зачету; словарь терминов; список рекомендуемой литературы), раздел контроля знаний (тестовые задания, вопросы для самоконтроля).

Рассматриваемый в учебно-методическом комплексе материал рассчитан на 54 аудиторных часов (26 часа лекционных, 28 часов лабораторных занятий). Формой контроля знаний студентов является зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Тема 1. Введение. Возникновение и развитие микробиологии

Предмет и задачи микробиологии, ее место и роль в современной биологии. Краткая сравнительная характеристика структурной организации прокариотного и эукариотного типа клеток. Выделение бактерий и цианобактерий в самостоятельное царство прокариот. Специфические черты прокариотических организмов. Значение микробиологии для народного хозяйства и охраны здоровья. Подразделение микробиологии: общая микробиология, медицинская, ветеринарная, сельскохозяйственная, техническая, космическая, вирусология, генетика микроорганизмов. Задачи различных направлений микробиологической науки.

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

Открытие микромира А. Левенгуком. Морфологический период в микробиологии. Работы Л. Пастера, заложившие основы физиологического направления в микробиологической науке. Исследования Р. Коха, Л.С. Ценковского, И.И. Мечникова, Д.К. Заболотного, П. Эрлиха и др., определившие успехи медицинской микробиологии. Работы основоположников почвенной микробиологии С.Н. Виноградского и М.Бейеринка, В.Л. Омелянского. Открытие вирусов Д.И. Ивановским. Первые успехи вирусологии. Развитие биохимического направления в микробиологии. Работы А. Клейвера и К. ван Нилля. Основные направления развития современной микробиологии. Концепция биохимического единства живых организмов.

Тема 2. Рост, размножение, культивирование прокариот

Понятие роста и размножения прокариот. Основные параметры роста культур: время генерации прокариот, скорость роста и выход биомассы.

Закономерность роста бактерий в периодической чистой культуре. Кривая роста, фазы роста бактериальной популяции. Непрерывные и синхронные культуры. Культивирование иммобилизационных клеток микроорганизмов. Особенности культивирования анаэробных и аэробных бактерий. Влияние на рост микроорганизмов кислотности среды (рН), молекулярного кислорода (O₂).

Питательные среды в микробиологии (классификация, принцип изготовления). Накопительные культуры; методы их получения. Чистые культуры микроорганизмов; методы их получения. Методы количественного учета микроорганизмов.

Тема 3. Морфология и структурно-функциональная организация прокариот

Уровни клеточной организации прокариот, их отличие от эукариот. Особенности морфологии и размеров прокариот. Плеоморфизм бактерий. Морфологическая дифференциация. Морфогенез. Постоянные и временные структуры бактериальной клетки. Химический состав, строение и функции клеточной стенки бактерий. Отличие клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных прокариот. Бактериальные протопласты и сферопласты, L-формы бактерий. Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ), строение и функции. Транспорт веществ через ЦПМ. Производные ЦПМ и их функции. Цитозоль. Ядерный аппарат (нуклеоид): химическая и структурная организация, функции. Плазмиды. Рибосомы, их строение и отличие от рибосом эукариот. Структура РНК. Поверхностные структуры бактериальной

клетки. Капсула, слизистые чехлы, ворсинки. Жгутики, их строение, размещение на клетке, механизм функционирования. Типы движения бактерий. Пили, ворсинки (фимбрии) общего типа, половые пили, шипы. Внутриплазматические включения. Аэросомы, карбоксисомы, магнитосомы, фикобилисомы.

Деление бактериальной клетки. Механизм репликации и сегрегации бактериальной хромосомы. Эндоспоры бактерий. Химический состав, строение, особенности спор. Другие покоящиеся формы прокариот. Запасные питательные вещества.

Фенотипическая и генотипическая изменчивость прокариот. Генотип, фенотип. Мутации. Спонтанные, индуцированные мутации. Генные, хромосомные мутации. Мутагенные факторы. Плазмиды. Транспазоны, IS-элементы. Роль плазмид. Рекомбинация генетического материала прокариот. Трансформация, трансдукция, конъюгация.

Тема 4. Физиология прокариот

Химический состав прокариотической клетки. Конституционные и индуцибельные ферменты. Роль ферментов в жизни микроорганизмов.

Регуляция активности синтеза ферментов. Факторы роста бактериальной клетки. Питание прокариот. Ассимиляция углекислоты автотрофами и гетеротрофами. Органотрофы, литотрофы. Физиологические группы прокариот: фототрофы, хемотрофы, ауксотрофы, прототрофы, миксотрофы, сапрофиты и паразиты. Поступление питательных веществ в клетку прокариот. Метаболизм. Энергетический и конструктивный метаболизм.

Источники и способы получения энергии. Пути метаболизма. Путь Эмбдена Миергофа-Парнаса (гликолиз). Путь Варбурга-Дикенса-Корекера (пентозофосфатный). Путь Энтнера-Дудорова. Регуляция различных метаболических путей. Формы запасания энергии в клетках прокариот.

Брожение. Типы брожения: спиртовое, маслянокислое, молочнокислое (гомой гетероферментативное), пропионовокислое, уксуснокислое и т.д.

Фотосинтез. Хемосинтез. Анаэробное, аэробное дыхание. Электронтранспортные цепи (ЭТЦ). Неполное окисление. Нитратное, карбонатное, сульфатное, фумаратное дыхание. Роль в природе метанообразующих, нитрифицирующих и других прокариот. Разнообразные типы жизни прокариот. Бактериальный фотосинтез и его отличие от фотосинтеза растений. Механизмы влияния физических, химических и биологических факторов на жизнедеятельность микроорганизмов.

Тема 5. Систематика и классификация прокариот

Принципы систематики бактерий. Классификация, номенклатура и идентификация бактерий. Критерии систематики. Таксономические категории. Группы прокариот по определителю бактерий Берги. Отделы царства Prokarya: I. Gracillicutes; II. Firmicutes; III. Tenericutes; IV. Mendosicutes.

Характеристика основных групп бактерий. Фототрофные бактерии. Хемолитотрофные бактерии. Миксобактерии. Риккетсии. Спирохеты. Свободноживущие и симбиотические азотфиксирующие микроорганизмы. Группа молочнокислых бактерий. Бактерии группы кишечной палочки. Пропионовокислые бактерии. Споросоздающие бактерии. Актиномицеты. Микоплазмы. Архебактерии.

Тема 6. Экология прокариот

Микрофлора воздуха, воды и почвы. Влияние физических и химических факторов среды на бактерии: влажность, температура, лучистая энергия, ультразвук, реакция среды, кислород, антисептики. Понятие о стерилизации,

асептике, антисептике, дезинфекции. Пастеризация.

Взаимоотношения микроорганизмов. Ассоциативные взаимоотношения: метабиоз, симбиоз, комменсализм, саттелитизм.

Конкурентные взаимоотношения: антагонизм, паразитизм.

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

Взаимоотношения микроорганизмов с растениями. Микрофлора ризосферы. Эпифитная микрофлора растений. Фитопатогенные микроорганизмы. Взаимоотношения микроорганизмов с человеком и животными. Нормальная микрофлора человека и животных. Патогенные микроорганизмы. Инфекции. Генетика патогенности микроорганизмов.

Тема 7. Основы вирусологии

Происхождение вирусов. РНК-ДНК-геномные вирусы. Структурная организация вириона. Капсиды. Взаимоотношение вирусов с клеткой хозяина. Цикл репродукции вирусов. Реакция организма в ответ на вирусную инфекцию. Депротенинизация вируса. Синтез компонентов вируса. Морфогенез вируса. Выход вирусов из клетки. Формы вирусной инфекции. Культивирование вирусов. Вирусный канцерогенез.

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

Понятие о вироидах, прионах и др. Прионы – “инфекционные белки”, вызывающие медленно протекающие инфекции у животных и человека.

Тема 1. Введение. Возникновение и развитие микробиологии

Микробиология (от греч. *micros* – малый, *bios* – жизнь, *logos* – наука) – наука о морфологии, физиологии, генетике, экологии и эволюции микроорганизмов.

Микроорганизмы – преимущественно одноклеточные организмы с размерами до 0,1 мм. Предмет исследования в микробиологии являются морфология, физиология, биохимия, систематика, генетика и экология микроорганизмов.

Микробиология подразделяется на разделы:

– по объекту исследования: общая микробиология – изучает общие закономерности строения, жизнедеятельности, генетику микроорганизмов, их взаимоотношения с окружающей средой; частная микробиология – рассматривает структурно-функциональные особенности для отдельных представителей микромира.

– по целям исследования: медицинская, биотехнологическая (биосинтез веществ с использованием микроорганизмов), ветеринарная, сельскохозяйственная (синтез удобрений, борьба с вредителями), морская, космическая и др.

Микроорганизмы – это наиболее популярные объекты исследования в фундаментальных исследованиях по генетике и биохимии.

Понятие «микроорганизм» не имеет таксономического смысла.

Данные о различии в строении клеток микроорганизмов, входящих в группу протистов начали накапливаться с конца XIX в. Это повлекло за собой деление группы на высшие и низшие протисты, которое происходило в соответствии с двумя выявленными типами клеточной организации – эукариотической и прокариотической. Термины были предложены в 30-х гг. XX в. протозоологом **Э. Шаттоном**. Высшие протисты имеют эукариотическое строение клеток, низшие – прокариотическое.

Р. Стейниер (1916-1982) и **К. ван Ниль** (1962) сделали весьма важное заключение, что прокариотическая клетка является структурной единицей, присущей исключительно двум группам организмов – бактериям и сине-зеленым водорослям. Для всех остальных организмов – растений, животных, грибов, водорослей и простейших характерна более сложная эукариотная клетка

Р. Мюррей (1968) разделил все клеточные организмы на два царства: Прокариоты (*Procaruyota*) и Эукариоты (*Eucaryota*). К царству *Procaruyotae* Мюррей отнес бактерии и цианобактерии (сине-зеленые водоросли), к царству *Eucaryotae* – все остальные организмы – растения, животные и высшие протисты (грибы, водоросли, простейшие). Неклеточные формы жизни – вирусы составляют самостоятельное царство *Vira*.

А.Л. Тахтаджян в общей системе живых организмов выделяет два надцарства: Доядерные организмы (*Procaruyota*) и Ядерные организмы (*Eucaryota*). К надцарству *Procaruyotae* он относит единственное царство – Дробянки (*Muchota*), которое подразделяет на два подцарства: Бактерии (*Bacteriobionta*) и Цианеи, или Сине-зеленые водоросли (*Cyanobionta*). В надцарство *Eucaryotae* А.Л. Тахтаджян включает три остальные царства: Животные (*Animalia*), Грибы (*Mycetalia*, *Fungi* или *Mycota*) и Растения (*Plantae*).

В 70-х гг. XX в. обнаружены микроорганизмы, структурно относящиеся к

прокариотному типу, но значительно отличающиеся химическим строением важных клеточных макромолекул и способностью осуществлять уникальные биохимические процессы. Эти необычные прокариоты были названы вначале архебактериями, а в настоящее время переименованы в «археи». В 1990 г. **К. Вез** предложил разделить все живые организмы на три домена: бактерии (Bacteria), археи (Archeae), эукариоты (Eucaryota) (рисунок 1). Т.е. прокариоты разделены на Bacteria и Archeae, причем указанные таксоны имеют тот же ранг, что и Eucaryota.

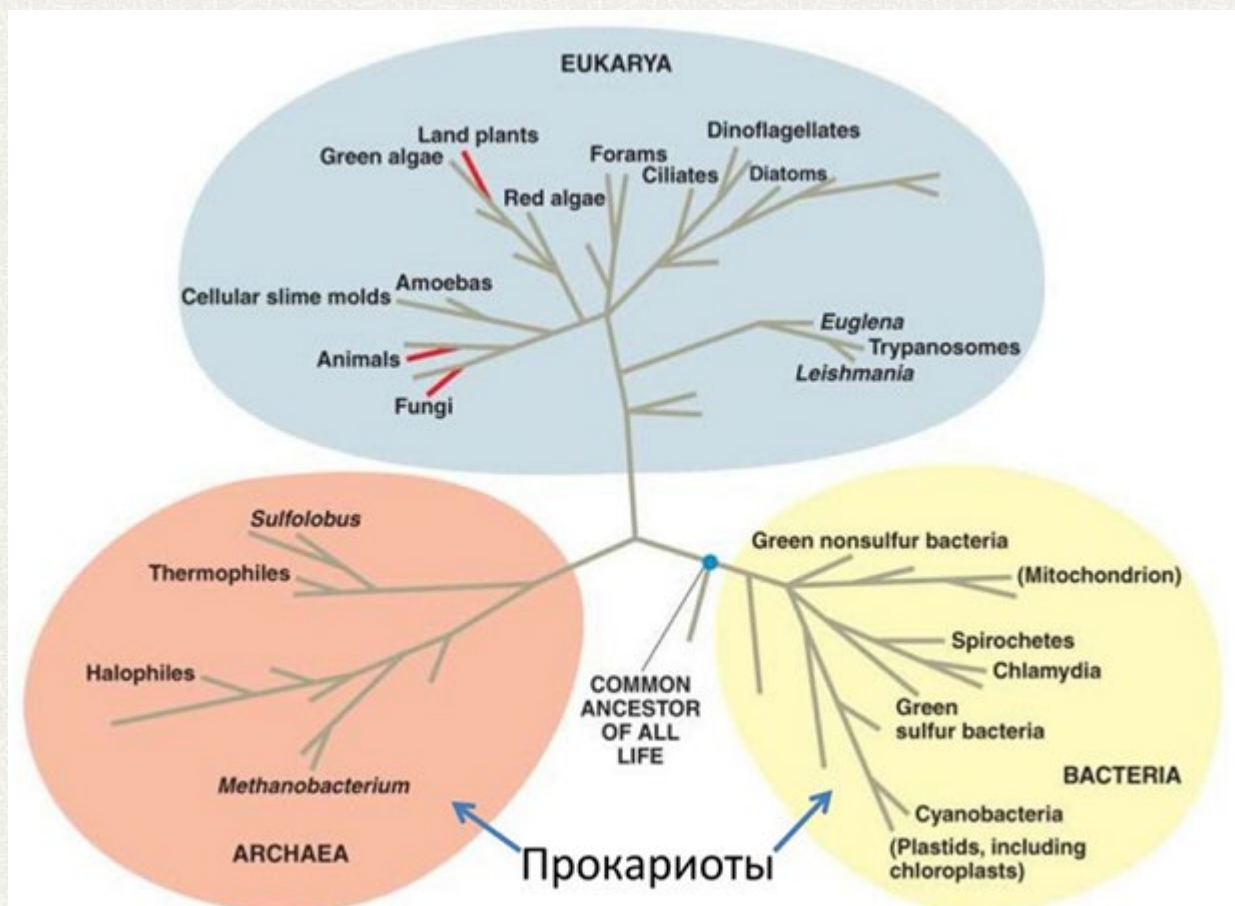


Рисунок 1 – Три домена жизни по К. Везу

В прокариоты объединяют организмы с прокариотическим типом строения клетки. Это древнейшие известные организмы, которые они появились на Земле около 3,5–3,8 млрд лет назад. К отличительным чертам структурной организации прокариотной клетки относятся отсутствие ядерной мембраны и мембранных органелл, присутствие в цитоплазме рибосом 70 S-типа.

В настоящее время прокариоты очень многочисленны, они населяют все среды обитания (воздух, воду, почву и другие организмы). В атмосфере они присутствуют в каплях воды и частичках пыли; встречаются на высоте до 8 км. Прокариоты населяют все водоёмы Земли: горячие кислотные источники (с температурой выше 90 °С), океанические разломы (при температуре выше 360 °С). Они найдены во льдах Антарктики, взятых с глубины более 430 м. Огромное количество прокариот обитает в почве, они играют важную роль в круговороте различных химических элементов. Обитая в других организмах, они могут быть возбудителями различных заболеваний (бактериальные инфекции) или помогать организму хозяина переваривать пищу (жвачные животные и термиты). Некоторые прокариоты – автотрофы, осуществляющие фото- или хемосинтез, другие – гетеротрофы.

Роль прокариот, и в частности бактерий, в природе велика (рисунок 2), они участвуют в круговороте веществ в природе, в почвообразовании, в образовании полезных ископаемых, симбиотическом взаимодействии с грибами и растениями, процессах биологической очистки водоёмов. Микроорганизмы

применяются в различных технологических процессах (например, получение кисломолочных продуктов). Одновременно микроорганизмы вызывают порчу пищевых продуктов, разрушение построек и механизмов, цветение воды, заболевания растений, животных и человека (возбудители холеры, чумы, дифтерии, туберкулёза и др.).



Рисунок 2 – Значение бактерий

В развитии микробиологии можно выделить несколько периодов:

- эвристический (Дж. Фракасторо);
- описательный (А. Левенгук);
- физиологический (Л. Пастер, Р. Кох);
- иммунологический (И.И. Мечников, П. Эрлих);
- вирусологический (Д.И. Ивановский);
- современный (молекулярно-генетический).

Важные имена и события в микробиологии

Джироламо Фракасторо (1478—1553)

- Один из основоположников эпидемиологии как науки.
- Описал корь, чуму, оспу, бешенство, чахотку, проказу, сыпной тиф.
- Сформулировал положение, что зараза – это материальное начало («контагий телесен»).
 - Автор трехтомной книги «О контагии, контагиозных болезнях и лечении» (1546–1546).



Антоний ван Левенгук (1632–1723)

- Создал модели микроскопов, позволяющие увеличить изображение в 300 раз.
- Открыл простейших и бактерий.

Луи Пастер (1822–1895)

- Открыл возможность анаэробноз.
- Описал основные типы брожения.
- Доказал невозможность самозарождение жизни в условиях современной Земли.
- Изучил природу и выявил возбудителей различных инфекционных болезней.
- Предложил способ сохранения пищевых продуктов (**пастеризация**).
- Разработал **вакцину** от куриной холеры и



бешенства.

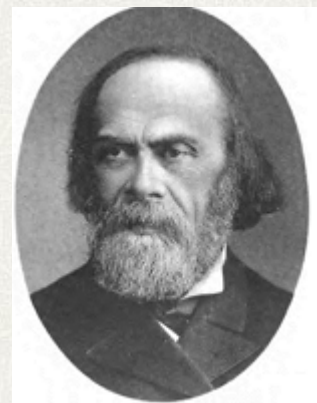


Роберт Кох (1843–1910)

- Установил возбудителей сибирской язвы, туберкулеза, холеры.
- Выделил **туберкулин**.
- Усовершенствовал микробиологические методы исследования.

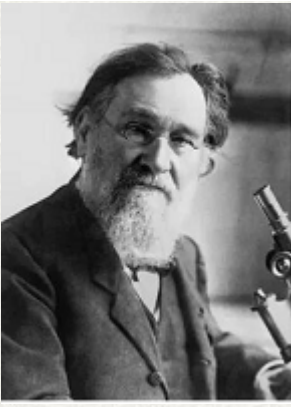
Л.С. Ценковский (1822–1887)

- Разработал оригинальную систематику низших организмов, в том числе протистов, водорослей, бактерий, включив в нее сине-зеленые водоросли.
- Указал на отсутствие резкой границы между растительным и животным миром.
- Основоположник научной **бактериологии**.
- Разработал вакцину от сибирской язвы.



И.И. Мечников (1845–1916)

- Открыл явление **фагоцитоза**
- Основоположник фагоцитарной теории **иммунитета**.
- Разработал биологическую теорию воспаления.
- Разработал теорию старения и **атрофии**.



- Начал исследования в области **пробиотиков**.
- Установил **этиологию** холеры и методику вакцинации.

Д.К. Заболотный (1866–1929)

- Установил источник возникновения эпидемий чумы.
- Разработал методику мониторинга очагов чумы.
- Изучал **эпидемиологию** сифилиса, дифтерии, малярии, гриппа, сыпного тифа и множества других инфекционных болезней



- Основатель целостного учения об эпидемиологии холеры.



П. Эрлих (1854–1915)

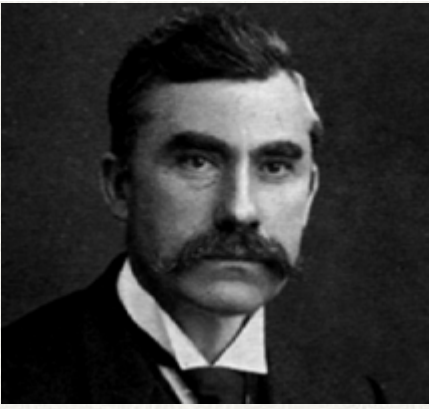
- Разработал концепцию гуморальной теории иммунитета.
- Работал над методами лечения инфекционных болезней.
- Заложил основы метода химиотерапии опухолей.
- Разработал лекарство от «сонной» болезни.

С.Н. Виноградский (1856–1953)

- Открыл явление **хемосинтеза**.
- Открыл нитрифицирующие бактерии и явление **нитрификации**.
- Открыл азотфиксирующие бактерии.
- Основоположник почвенной и сельскохозяйственной микробиологии.



М.В. Бейеринк (1851–1931)



- Открыл азотфиксирующих симбионтов бобовых растений.
- Выделил свободноживущих аэробных азотфиксаторов рода *Azotobacter*.
- Разработал метод накопительных культур.
- Экспериментально доказал, что мозаика табака вызывается мелким нефилтруемым агентом («заразной живой жидкостью»).

В.Л. Омелянский (1876–1928)

- Изучал процессы бактериального разложения клетчатки, роль бактерий в круговороте азота и углерода.
- Открыл анаэробные бактерии, разлагающие целлюлозу.
- Открыл метанобразующие бактерии и специфические бактерии, разлагающие муравьиную кислоту.
- Разработал дифференциально-диагностические среды.



Д.И. Ивановский (1864–1920)

- Основоположник вирусологии.
- Установил возбудителя мозаичной болезни табака как фильтрующегося агента (вирус).
- Основоположник патанатомии и патфизиологии растений.



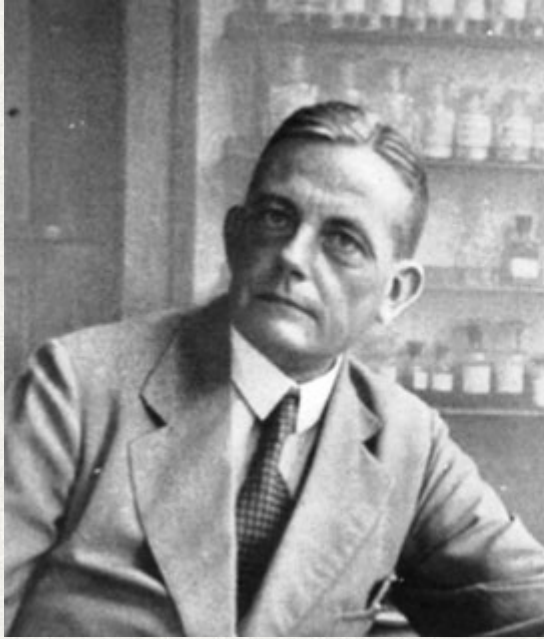
А.Я. Клейвером проведено сравнительное изучение физиологии, биохимии и генетики далеко отстоящих друг от друга систематических групп микроорганизмов. Эти работы позволили сделать вывод об однотипности макромолекул, составляющих все живое, и об универсальности молекул АТФ, как источников энергии. Разработка общей схемы метаболических путей в значительной степени базируется на исследованиях фотосинтеза высших растений и бактерий, проведенных К. ван Нилем. Изучение обмена веществ различных фотосинтезирующих прокариот позволило сформулировать обобщающее суммарное уравнение фотосинтеза:



где H_2A – вода или другое окисляемое вещество.

Такое уравнение предполагало, что именно вода, а не углекислый газ, разлагается при фотосинтезе с выделением кислорода. К середине XX в. выводы А.Я. Клейвера, К. ван Ниля и др. легли в основу принципа

Все живые организмы построены из однотипных органических макромолекул, универсальной единицей биологической энергии служит АТФ, в основе жизни лежит обмен веществ (метаболизм).



А.Я. Клюйвер (1888–1956)



К. ван Ниль (1897–1985)

Теория биохимического единства жизни основана на единстве основополагающих структурных компонентов клетки (клеточное строение), механизмах получения энергии в энергетических процессах, универсальной роли высокоэнергетических соединений (АТФ и др.), биологических катализаторов (ферментов), однотипных химических органических соединений (белки, липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты и др.), материальной основе наследственности (ДНК, РНК и ДНК у вирусов), единстве механизмов передачи генетической информации в ряду дочерних поколений при воспроизводстве потомства.

К основным достижениям молекулярно-биологического периода (со второй половины XX в.) в развитии микробиологической науки относятся:

- расшифровка молекулярной структуры и молекулярно-биологической организации большинства бактерий и вирусов;
 - открытие новых форм жизни (инфекционных белков – **прионов** и инфекционных РНК – **вирионов**);
 - разработка методов культивирования животных и растительных клеток;
 - разработка принципиально новых способов диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний (иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, иммуноблоттинг, гибридизация нуклеиновых кислот, полимеразная цепная реакция);
 - открытие новых возбудителей вирусных и бактериальных инфекций (ВИЧ, возбудители геморрагических лихорадок, легионелл и др.);
 - создание принципиально новых вакцин и других лечебных, профилактических и диагностических препаратов.
-

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Правила работы в микробиологических лабораториях

Учебная микробиологическая лаборатория относится к лабораториям первого уровня биобезопасности (самым низким), где студенты работают с биологическими агентами, которые представляют минимальную опасность для человека и окружающей среды (микроорганизмы IV группы патогенности, т.е. условнопатогенные и непатогенные микроорганизмы).

В учебной лаборатории должны иметься приспособления для мытья рук, легко обеззараживаемые рабочие поверхности, прочная мебель, окна с противомоскитными сетками, отсутствие автоматической вентиляции, личная защитная одежда (перчатки, халаты), автоматические дозаторы, защита глаз и лица.

В микробиологической лаборатории запрещается:

- оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с материалом;
- переливать жидкий инфекционный материал через край сосуда (пробирки, колбы, флакона);
- хранить верхнюю одежду, головные уборы, обувь, зонты, хозяйственные сумки, косметику, а также продукты питания;
- курить, пить воду, принимать пищу;
- оставлять без надзора рабочее место;
- сливать жидкие отходы (инфицированные жидкости, исследуемый материал и другое) в канализацию без предварительного обеззараживания;
- содержать и выращивать цветы в вазонах.

Занятие 1

Лабораторная работа. Приготовление элективной натуральной жидкой питательной среды для выращивания *Bacillus subtilis*

Материалы и оборудование: сено, весы, ножницы, колбы объемом 100–200 мл, мел, электроплитки, ватные пробки.

Ход работы

Питательные среды

1. Около 1 г сена из разнотравья мелко нарезать ножницами, поместить в коническую колбу объемом 100–200 мл, добавить около 50–100 мл воды, добавить щепотку мела и кипятить в течение 10–15 мин.

2. Колбу закрыть ватной пробкой и поместить в термостат при температуре +25 °С на 2–3 суток. На сене всегда имеются споры сенной палочки; при кипячении споры не гибнут и после остывания питательного субстрата дают начало вегетативным клеткам.

На поверхности сенного отвара образуется сероватая пленка, состоящая из особей *Bacillus subtilis* (сенной палочки).

Bacillus subtilis (*Bacillaceae*) – аэроб, гетеротроф, сапрофит, обитает в почве, на поверхности растений, питаясь органическими веществами отмерших листьев. При иссушении субстрата образует споры, поэтому на поверхности сена всегда имеются споры сенной палочки. Сенная палочка грамположительна, подвижна, имеет перитрихальное жгутикование. По мере старения культуры происходит деление клеток, в результате чего появляются цепочки клеток, как подвижные, так и неподвижные (рисунок 31).

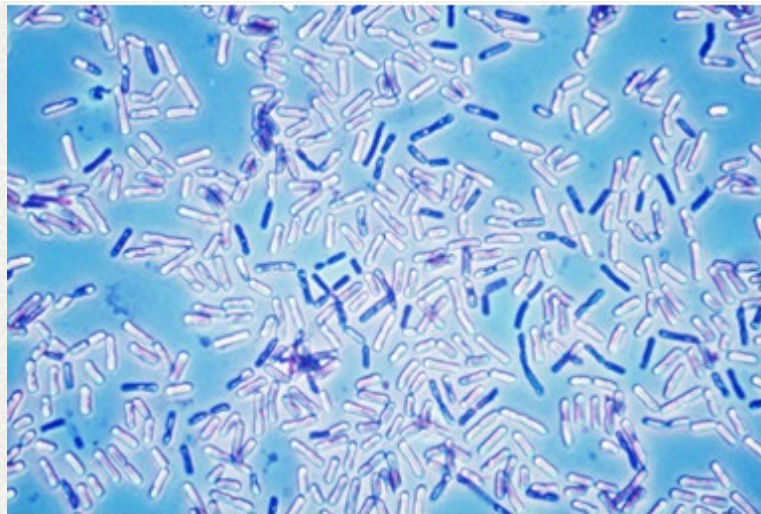


Рисунок 31 – *Bacillus subtilis*

Лабораторная работа. Получение элективной культуры *Bacillus mesentericus* на природной твердой питательной среде
Материалы и оборудование: неочищенные клубни картофеля, чашки Петри, скальпель, мел.

Ход работы

1. Промыть клубень картофеля и, не снимая кожуры, нарезать плоские ломтики. Их поверхность слегка натереть мелом и положить в чашки Петри.

2. Выдержать чашки с ломтиками картофеля 10 мин. в сушильном шкафу, а затем поместить в термостат при температуре +25–+30 °С на 2–3 суток.

На поверхности ломтиков картофеля образуется плотная морщинистая пленка, состоящая из особей *Bacillus mesentericus* (картофельной палочки).

Bacillus mesentericus (*Bacillaceae*) – аэроб, гетеротроф, сапрофит, обитает на отмерших растительных остатках, в верхних слоях почвы. Бактерия подвижна, имеет многочисленные жгутики. При неблагоприятных условиях образует споры. Картофельная палочка синтезирует и выделяет наружу активную амилазу – фермент, расщепляющий крахмал до моносахаров (рисунок 32).



Рисунок 32 –

Bacillus mesentericus

Лабораторная работа. Приготовление синтетической накопительной питательной среды для свободноживущих азотфиксирующих бактерий

Почва является хорошей средой для обитания микроорганизмов в связи с наличием в ней питательных веществ и влаги. Почва хорошо защищает их от влияния прямого солнечного света, высушивания. Среди почвенных микроорганизмов встречаются азотфиксаторы – бактерии, которые в качестве источника азота используют молекулярный азот воздуха.

Материалы и оборудование: колба на 500 мл, колбы 100–150 мл, ватные пробки, весы, шпатели, плодородная почва.

Ход работы

1. Приготовить питательную среду.

Состав среды на 1 л дистиллированной воды: сахароза, глюкоза или маннит – 20 г; K_2HPO_4 – 0,2 г; $MgSO_4$ – 0,2 г; NaCl – 0,2 г; K_2SO_4 – 0,1 г; $CaCO_3$ – 5,0 г.

2. Питательную среду, не стерилизуя, разлить в колбы объемом 100–150 мл слоем 1–1,5 см и заразить парниковой почвой (0,5 чайной ложки).

3. Колбы закрыть ватными пробками и поместить в термостат при температуре 28–30 °С.

Через 5–7 суток на поверхности питательной среды образуется коричнево-бурая пленка *Azotobacter chroococcum*. Кроме того, жидкость в колбе пенится и издает запах масляной кислоты, что указывает на развитие в нижней части питательной

среды бактерий *Clostridium pasteurianum*.

Azotobacter chroococcum (*Azotobacteraceae*) – облигатный аэроб, гетеротроф. В молодой культуре содержатся палочковидные клетки, подвижные, размером 3–7 мкм. В старой культуре клетки кокковидные, соединены в пары и сарциноподобные пакеты. Клетки окружены слизистой капсулой и содержат много блестящих зерен волютина. При неблагоприятных условиях образуют цисты. При недостатке азота в среде азотобактер переходит к фиксации. Активность азотфиксации в культурах азотобактера составляет 15–20 мг азота на 1 г потребленного органического вещества (рисунок 33).

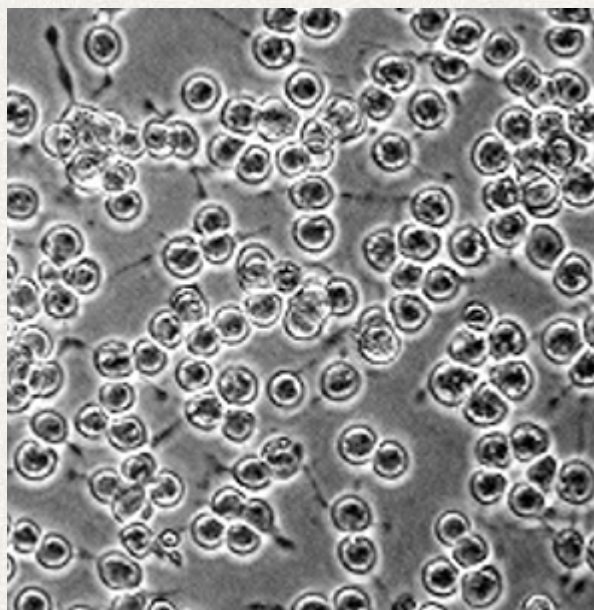


Рисунок 33 – *Azotobacter chroococcum*

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие вещества применяют для уплотнения питательных сред?
2. Перечислите требования, которые предъявляются к питательным средам.
3. Чем отличаются элективные культуры от чистых культур?
4. Какова последовательность получения чистой культуры микроорганизмов?
5. Какими способами осуществляется проверка чистоты культуры?
6. В какой фазе роста при периодическом культивировании бактерии наиболее биохимически активны?
7. Какие приборы применяют для непрерывного культивирования микроорганизмов?
8. Назовите методы иммобилизации клеток микроорганизмов. Какой метод иммобилизации клеток бактерий наиболее эффективен?
9. В каких целях применяют культивирование иммобилизованных клеток?

Занятие 2

Методы микроскопического анализа микроорганизмов

Лабораторная работа. Микроскопирование методом прижизненной окраски микробов

Материалы и оборудование: красители (метиленовая синь, нейтральный красный), комплект оборудования для микроскопирования, культуры микроорганизмов.

Ход работы

Метод является видоизменением метода раздавленной капли. Для лучшей видимости микробов жидкость можно слегка подкрасить, вводя под покровное стекло небольшую каплю раствора метиленовой сини или нейтрального красного. При этом бактерии сохраняют жизнеспособность, приобретают синюю или красную окраску и будут отчетливо видны в поле зрения микроскопа.

Лабораторная работа. Метод фиксации и окраски препарата

Материалы и оборудование: карболовый фуксин, метиленовая синь, подставка для стекол, стакан с водой, культуры микроорганизмов.

Ход работы

1. *Приготовление мазка.* На середину чистого и обезжиренного предметного стекла нанести каплю воды, в нее ввести немного бактерий, взятых с плотной питательной среды кончиком стерильной бактериальной иглы, и тщательно перемешать. Полученную слабо мутную суспензию размазать тонким слоем на поверхности предметного стекла на площади 2–3 см². Необходимо следить, чтобы мазок не был слишком плотным.

Если изучается микрофлора жидкой питательной среды, то на предметное стекло нанести каплю этой микробной взвеси без добавления воды.

Полученный мазок высушить при комнатной температуре на воздухе. Мазок должен быть таким тонким, чтобы мог высохнуть на воздухе в течение 1–2 минут.

2. *Фиксация мазка.* Стекло с сухим мазком провести 3–4 раза над пламенем спиртовки. При фиксации клетки бактерии погибают и закрепляются на поверхности стекла.

3. *Окрашивание мазка.* На охлажденный фиксированный мазок нанести на 1–2 минуты раствор метиленовой сини или карболового фуксина. Избыток краски смыть слабой струей воды. Промывание закончить, когда промывная вода станет неокрашенной.

Промытый препарат тщательно просушить фильтровальной бумагой, прикладывая ее к мазку. Препарат рассмотреть сначала на большом увеличении с объективом $\times 40$, а затем с объективом с иммерсией $\times 100$.

Зарисовать и подписать увиденные объекты.

Занятие 3 Морфология микроорганизмов

Лабораторная работа. Микроскопическое исследование зубного налета

Материалы и оборудование: спички или зубочистки, фуксин, спиртовки, комплект для микроскопирования.

Ход работы

1. Спичкой или зубочисткой взять немного зубного налета, смешать на предметном стекле с каплей воды, приготовить мазок, фиксировать и окрашивать фуксином. Промытый и высушенный препарат рассмотреть с объективами $\times 40$ и $\times 90$ ($\times 100$) (с иммерсией).

2. Рассмотреть формы бактерий, имеющиеся в приготовленном препарате, сравнить с типичным составом нормальной микрофлоры полости рта.

Типичный состав нормальной микрофлоры ротовой полости человека разнообразен. Чаще всего обнаруживаются (рисунок 34):

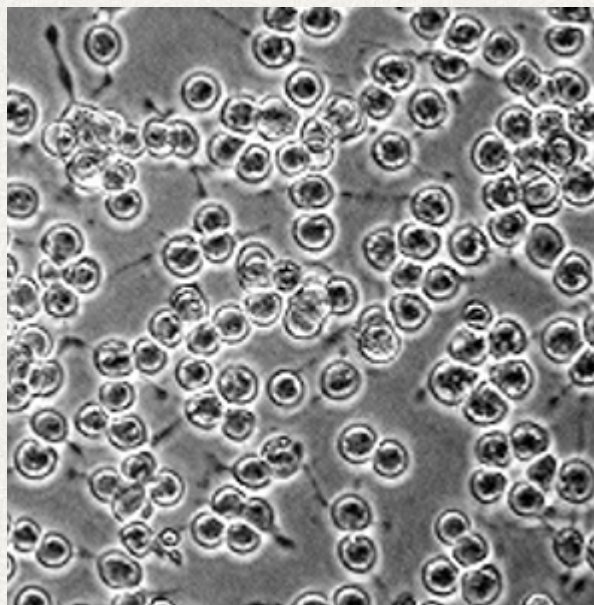


Рисунок 34 – Типичный состав нормальной микрофлоры зубного налета:

1 – большая зубная палочка (*Bacillus maximosus buccalis*);

2 – одиночные кокки (монококки); 3 – зубной вибрион (*Vibrio buccalis*);

Зарисовать типичный состав нормальной микрофлоры зубного налета.

Сделать вывод об отличии видового состава приготовленного препарата от типичного состава.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие размеры имеют прокариоты?
2. Для какой группы прокариот характерны многоклеточные организмы?
3. Объясните причины формирования скопления клеток в виде стрептококков, стафилококков, сарцин.
4. Вспомните извитые формы клеток. В чем различие между ними. Каким образом осуществляется передвижение извитых форм?
5. Какие формы клеток встречаются у архебактерий?
6. Объясните, чем обусловлен плеоморфизм у микоплазм.

Занятие 4 Окраска бактерий по методу Грама

Лабораторная работа. Метод Грама

Материалы и оборудование: культуры *Escherichia coli* (кишечная палочка), *Bacillus subtilis* или *Bacillus mesentericus*, 0,1 % фуксин, генциановый фиолетовый, раствор Люголя, комплект оборудования для микроскопирования, 96 % этанол, полоски фильтровальной бумаги.

Ход работы

1. Приготовить мазок, зафиксировать его. Мазки должны быть по возможности ровными и тонкими. При толстом мазке дифференциация его будет затруднена и грамотрицательные формы бактерий могут выглядеть грамположительными.

2. На мазок нанести полоски фильтровальной бумаги и на них 2–3 капли 1 %-го генцианового фиолетового на 2–3 минуты.

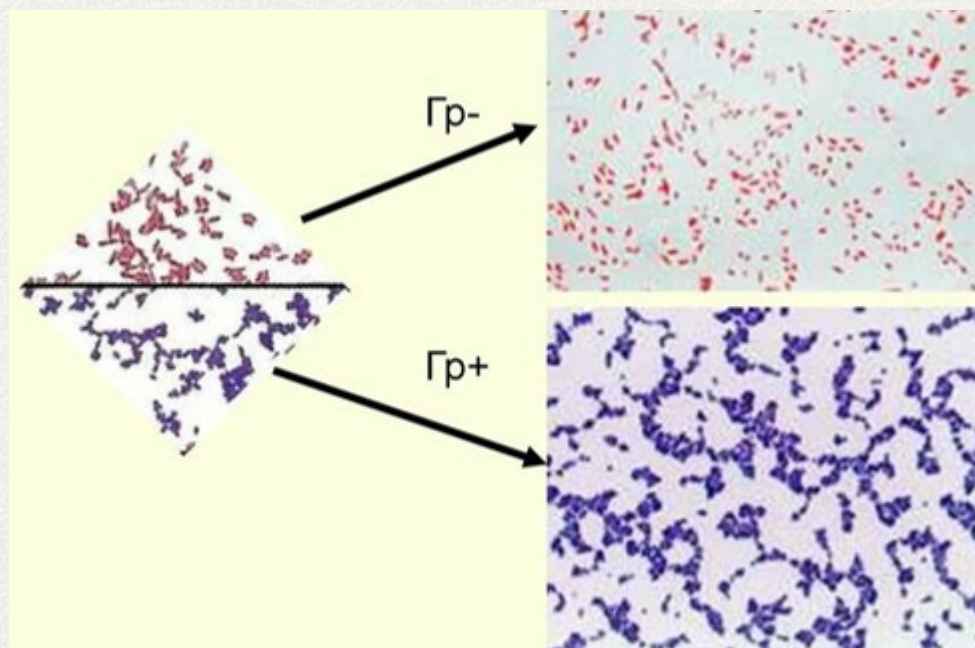
3. Снять фильтровальную бумагу, краситель смыть раствором Люголя и залить препараты этим же раствором. По истечении 1–2 минут препарат промывают водой.

4. На мазок нанести на 60 секунд 96 %-ый спирт. Дифференциацию мазка прекратить, когда закончится вымывание красителя из препарата, а затем быстро промыть водой. На обесцвечивание мазка спиртом следует обратить особое внимание. При недостаточной обработке все клетки сохраняют окраску, при избыточной – обесцвечиваются.

5. Окрасить препарат на 0,1 %-м раствором фуксина в течение 1–2 минуты, промыть водой, просушить и микроскопировать объективом $\times 40$ или $\times 100$ (с иммерсией).

Грамположительные клетки окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные – в розовый (рисунок 35).

Сделать вывод о грампринадлежности изучаемых культур.



Вопросы для самоконтроля:

1. Чем определяет способность клеток прокариот по-разному удерживать комплекс красителей по методу Грама?
2. Назовите особенности химического состава муреина грамположительных и грамотрицательных бактерий?
3. Какие дополнительные функции имеет клеточная стенка грамотрицательных бактерий?
4. В чем различие в строении жгутика грамположительных и грамотрицательных бактерий?
5. В каких случаях образуются L-формы бактерий?

**Занятие 5
Окраска нуклеоида бактерий**

Лабораторная работа. Метод окраски нуклеоида бактерий

Материалы и оборудование: молодые культуры *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum*, 1 %-й раствор формалина, 40 %-й формалин, 0,1–1 %-й раствор фуксина, предметные стекла, спиртовка, чашка Петри с обрезками стекла, термометр, промывалки, водяная баня, стакан 50–100 мл с 1 н соляной кислотой.

Ход работы

1. Из суточной культуры микробов приготовить суспензию и нанести мазок на предметное стекло.
2. Мазок высушить на воздухе и зафиксировать парами 40 %-го формалина и высушить в течение нескольких секунд (или парами 2 %-го раствора осмиевой кислоты в течение 2–3 минут). Для фиксации мазка на дно чашки Петри нанести 2–3 капли фиксатора, а предметное стекло поместить на обрезки стекла мазком вниз.
3. Мазок подвергнуть гидролизу в 1 %-м растворе соляной кислоты при температуре 60 °С (2–3 минуты) и немедленно тщательно промыть мазок водой. Провести гидролиз мазка, погружая препарат в небольшой химический стакан с соляной кислотой, помещенный в водяную баню.
4. Мазок залить 1 %-м раствором формалина на 1,5 минут и вновь промыть водой.
5. Мазок окрасить 0,1–1 %-м водным раствором основного фуксина на 1–2 минуты, промывают водой, высушить на воздухе и микроскопировать, пользуясь объективом $\times 100$ (с иммерсией).

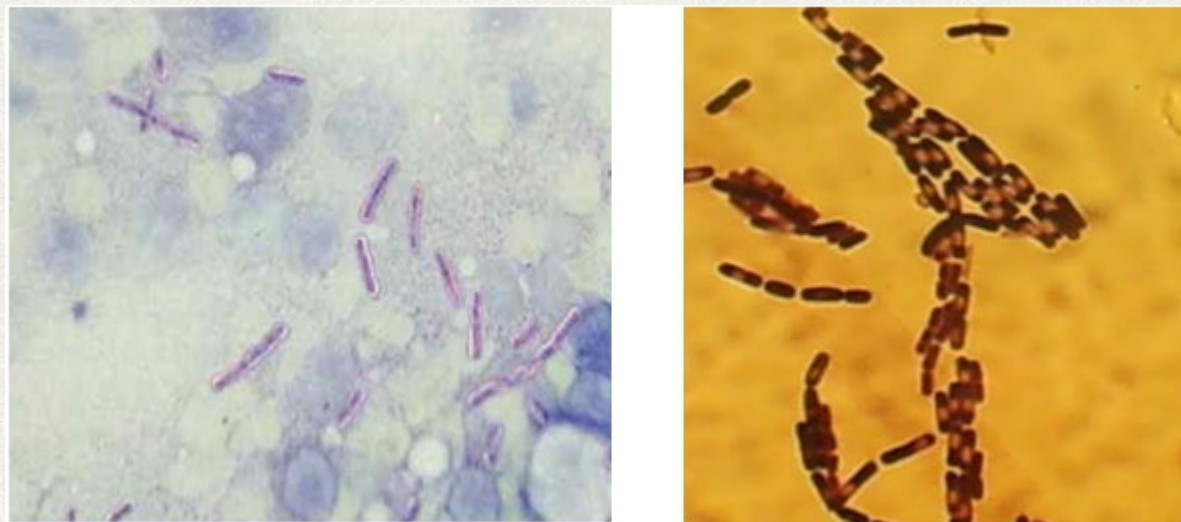


Рисунок 36 – *Bacillus subtilis*

В препарате на розовом фоне цитоплазмы выделяется нуклеоид, окрашенный в ярко-малиновый цвет в виде образования неопределенной формы по центру клетки либо в виде двух тел, лежащих ближе к полюсам (рисунок 36).

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие компоненты бактериальной клетки являются носителями генетической информации?
2. Какой смысл вкладывается в термин «бактериальная хромосома»?
3. Какова структура ДНК прокариот?
4. В каких случаях прокариотическая клетка имеет несколько молекул ДНК?
5. Объясните механизм репликации ДНК у прокариот.

Занятие 6 Окраска спор

Лабораторная работа. Метод окраски спор по Цилю

Материалы и оборудование: молодые 24–48-часовые культуры *Bacillus subtilis* и *Bacillus mesentericus* (бациллярный тип спороношения), *Clostridium pasteurianum* (кlostридиальный тип), карболовый фуксин Циля, раствор метиленовой сини Лефлера либо раствор метиленовой сини 1:40, 5 % серная кислота, комплект оборудования для микроскопирования, полоски фильтровальной бумаги.

Ход работы

1. Мазок из культуры *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Clostridium pasteurianum* или другой спороносной бактерии подсушивают и наносят на него 5 % раствор хромовой кислоты (подогревают 5 минут до появления паров). При отсутствии хромовой кислоты можно нанести на мазок 1–2 капли 0,5 % раствора соляной кислоты и подогреть 1–2 минуты над пламенем горелки (до появления паров).

2. Кислоту сливают, мазок промывают водой, высушивают и фиксируют, пронося препарат 3–4 раза над пламенем спиртовки.

3. Охлажденный фиксированный мазок покрывают полоской фильтровальной бумаги и заливают раствором карболового фуксина Циля. Красят в течение 7 минут, подогревая препарат до появления паров. Необходимо следить, чтобы препарат не подсыхал. По мере испарения краситель добавляют, не давая препарату подсохнуть.

4. Краситель тщательно смывают водой.

5. На препарат наносят 5 % раствор серной кислоты на 20–40 секунд, после чего сразу промывают водой. При этой операции протоплазма клеток обесцвечивается, а споры остаются окрашенными.

6. На промытый препарат на 2–3 минуты наносят 2–3 капли метиленовой сини Лефлера. При отсутствии метиленовой сини Лефлера можно использовать раствор метиленовой сини 1:40 в течение 5–10 минут.

7. Препарат промывают водой, а затем просушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют с объективом $\times 40$ или $\times 100$ (с иммерсией).

На препаратах споры будут окрашены в красный цвет, а клетки – в голубой (рисунок 37).

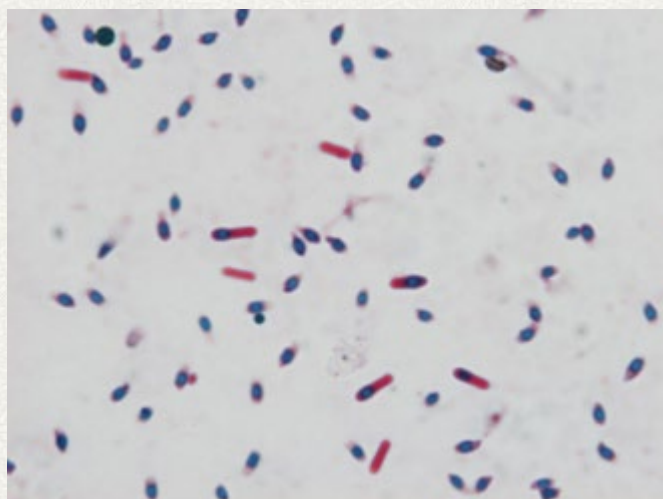


Рисунок 37 – Клетки *Clostridium perfringens* со спорами (окраска по Цилю)

Занятие 7

Итоговое занятие по теме «Морфология и структурно-функциональная организация прокариот»

Задания:

1. Определите клеточные структуры, обозначенные цифрами на рисунке 38.

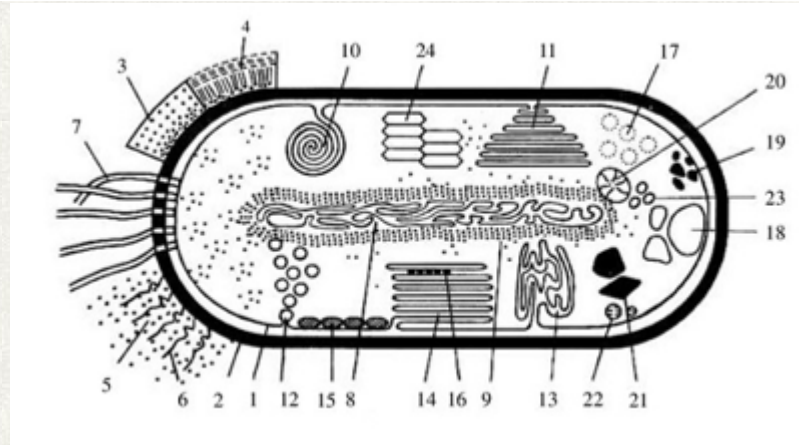


Рисунок 38 – Строение бактериальной клетки

2. Рассмотрите схему образования эндоспор у бактерий на рисунке. Назовите этапы спорообразования, обозначенные буквами на указанном рисунке 39.

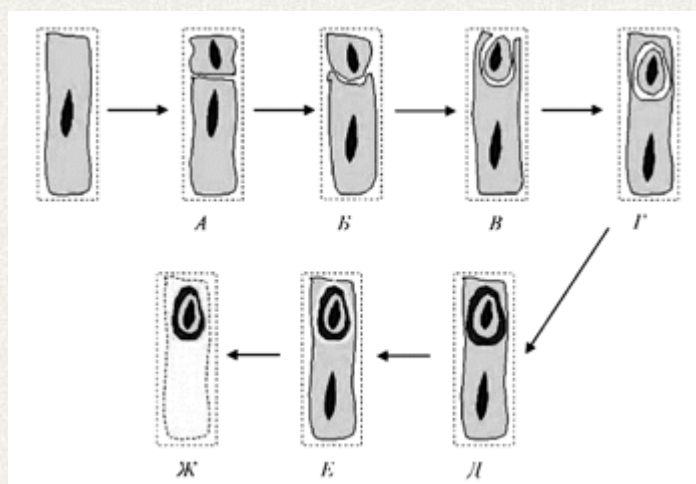


Рисунок 39 – Образование эндоспор

Обозначение	А	Б	В	Г	Ж	Е	Д
Этап							

3. Составьте сравнительную характеристику прокариот и эукариот по предлагаемой таблице 3.

Таблица 3 – Сравнительная характеристика прокариотической и эукариотической клетки

Признак	Прокариоты	Эукариоты
Размеры клеток		
Организация генетического аппарата		
Хромосомы		
Организация генов		
Локализация ДНК		
Цитоплазматические органеллы		
Рибосомы		
Движение цитоплазмы		
Жгутики		
Компартментализация клеток		
Основной компонент клеточной стенки		
Место локализации рибосом		
Фотосинтетический аппарат		
Дыхательный аппарат		
Вакуоли		
Способы клеточного деления		

Способы обмена наследственной информацией		
Термостойкие эндоспores		

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие формы клеток характерны для бактерий?
2. В чем различие в ультраструктуре клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий?
3. Какие органоиды имеет бактериальная клетка?
4. Какова роль мезосом в клетке прокариот?
5. Перечислите цитоплазматические включения, характерные для прокариотических клеток. Каково назначение указанных включений?
6. Какие запасные вещества могут накапливаться в бактериальных клетках?
7. Чем различаются слизистые образования бактериальных клеток?
8. Сравните строение и функции ворсинок и жгутиков прокариот?
9. Охарактеризуйте способ размножения бактерий.
10. Какие покоящиеся стадии формируют бактерии? Чем обусловлена их резистентность?

Занятие 8 Молочнокислород брожение

Лабораторная работа. Микроорганизмы молочнокислород брожения

Материалы и оборудование: простокваша, кефир, раствор метиленового синего, смесь Никифорова, комплект оборудования для микроскопирования.

Ход работы

1. Указанные продукты нанести петлей на предметное стекло, смешать с каплей воды (кроме рассолов) и сделать тонкий мазок. Мазок высушить на воздухе.
2. Высушенный мазок обезжирить и одновременно зафиксировать смесью спирта с эфиром в соотношении 1:1 (смесь Никифорова). Для этого смесью Никифорова несколько раз облить мазок на стекле (10 минут). При такой фиксации параллельно идет извлечение эфиром жира (капельки молочного жира мешают рассмотрению микроорганизмов).
3. Окраску мазка произвести в течение 3–5 минут в водном растворе метиленовой сини, промыть.
4. Готовый препарат высушить, мазок микроскопировать объективом $\times 40$ или $\times 100$ (с иммерсией).

В простокваше обнаруживают:

Streptococcus lactis (молочный стрептококк) – мелкие, диаметром 0,5–1 мкм кокки, нередко соединяющиеся по 2–3 и более в цепочки.

Lactobacillus bulgaricus (болгарская палочка) – крупная бактерия длиной 4–5 мкм, неподвижная, грамположительная, располагается в виде отдельных клеток и коротких цепочек. Оптимальная температура ее развития – 40–45 °С.

В кефире обнаруживают молочнокислород стрептококки, болгарскую палочку и кефирные дрожжи (*Saccharomyces kefirii*) (рисунок 40).

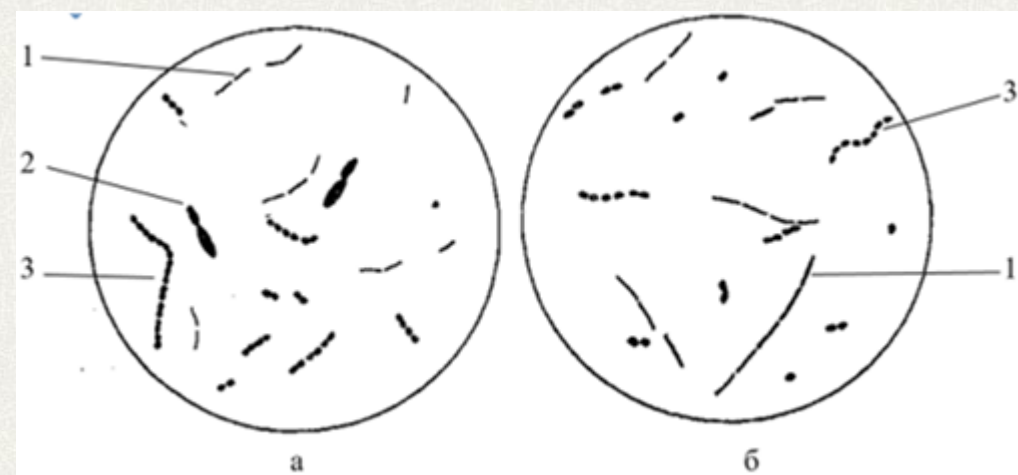


Рисунок 40 – Микрофлора молочнокислород продуктов:

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие субстраты используют молочнокислые бактерии?
2. В чем заключается различие в химизме гомоферментативного и гетероферментативного молочнокислого брожения?
3. При каком типе молочнокислого брожения выход молочной кислоты выше?
4. Дайте морфо-физиологическую характеристику молочнокислым бактериям?
5. Где в природе можно обнаружить молочнокислые бактерии? Каково значение молочнокислого брожения в природе?
6. Какова роль молочнокислых бактерий для здоровья человека?

Занятие 9 Маслянокислое брожение

Лабораторная работа. Микроорганизмы маслянокислого брожения

Материалы и оборудование: большие пробирки, ватные пробки к ним, клубни картофеля, скальпели, мел, водяная баня, 5 %-й раствор хлорного железа.

Часть 1. Приготовление питательной среды для получения элективной культуры маслянокислых бактерий

Ход работы

1. Неочищенный картофель нарезать ломтиками, которые могут легко войти в пробирку. Заполнить ими пробирку на 1/3 объема, добавить щепотку мела и заполнить водой почти до верха.
2. Пробирки поместить в водяную баню при температуре 80 °С на 10–15 минут.
3. Пробирки закрыть пробками (для предотвращения доступа кислорода) и поставить в термостат с температурой 35 °С. В этих условиях уже через 2–3 дня в жидкости можно обнаружить бактерии маслянокислого брожения.

Для преимущественного развития указанных бактерий созданы анаэробные условия, бесспорные формы убиты предварительным нагреванием, добавка мела нейтрализует образующиеся кислоты и способствует развитию бактерий.

Часть 2. Микроскопическое исследование морфологии бактерий маслянокислого брожения

Ход работы

1. На предметное стекло нанести каплю культуральной жидкости, к которой добавить каплю раствора Люголя. Маслянокислые бактерии содержат в своих клетках гранулезу, которая окрашивается раствором Люголя в синий цвет.

2. Микроскопировать раздавленную каплю с сухим объективом или с масляной иммерсией.

Clostridium pasteurianum (*Clostridiaceae*) – анаэроб, хемоорганотроф. Преобладает на слабо аэрированных почвах, затопляемых водой. Подвижные палочки с перитрихальным жгутикованием. Температурный оптимум находится в пределах 30–40 °С. Образуют споры высоко устойчивые к неблагоприятным воздействиям, выдерживают кипячение в течение нескольких минут и погибают только при длительной стерилизации.

Рассмотреть микропрепарат с объективом ×40 (рисунок 41).

3. С культуральной жидкостью провести качественную реакцию на масляную кислоту. Для этого к 5 мл жидкости добавить 2 мл 5 %-го хлорного железа. При нагревании образуется маслянокислое железо коричневого цвета.

Рисунок 41 – *Clostridium pasteurianum* (×40)

Вопросы для самоконтроля:

1. Назовите этапы маслянокислого брожения.
 2. Какие виды маслянокислого брожения выделяют в зависимости от способности сбраживать те или иные органические соединения?
 3. Перечислите морфофизиологические особенности маслянокислых бактерий?
 4. Каково распространение и роль маслянокислых бактерий в природе?
 5. Каково практическое применение маслянокислого брожения?
-

Занятие 10

Итоговое занятие по теме «Физиология прокариот»

Задания:

1. Вспомните о факторах роста прокариот. Какие бактерии являются прототрофами? Вследствие каких причин прототрофность может быть утрачена клеткой? Объясните значение термина ауксотрофность. Ознакомьтесь с методиками идентификации ауксотрофных микроорганизмов.

Для идентификации выделенных ауксотрофных мутантов (то есть для определения нуждаемости в тех или иных метаболитах) используют синтетические питательные среды, к которым добавляют факторы роста, и проверяют способность мутантов расти на этих средах.

Методика 1. Вначале берут три варианта среды: содержащая смесь всех аминокислот, смесь всех витаминов и смесь азотистых оснований.

В качестве добавок используют гидролизат казеина (наличие аминокислот), дрожжевой экстракт (источник витаминов) и гидролизат дрожжевой нуклеиновой кислоты, способный удовлетворять потребность в пуринах, пиримидинах, нуклеозидах и нуклеотидах. Если исследуемый мутант растет на среде, содержащей гидролизат казеина, значит он нуждается для роста в одной из аминокислот. Какая именно аминокислота нужна для роста, легко установить, добавляя к синтетической среде все аминокислоты по отдельности. Таким же образом поступают, если мутанты вырастают на других вариантах сред, содержащих витамины или азотистые основания.

Методика 2. Ауксография по М. Бейеринку (1912) предполагает следующее. Изучаемые клоны высевают в чашки Петри вместе с минимальным агаром. После того как агар застынет, на его поверхность наносят различные добавки. Ответ на специфическую добавку определяют по образованию колоний, возникающих в месте нанесения на агар соответствующего фактора роста или их комбинаций.

Методика 3. Методика Р. Холлидея основана на использовании определенного сочетания различных факторов роста (таблица 4), добавленных в минимальный агар. Как видно из таблицы, каждая из 12 чашек включает до шести различных факторов роста, причем каждый метаболит встречается не менее чем в двух чашках. Отмечая колонии, выросшие на различных из 12 чашек, устанавливают, в каких факторах роста нуждается тестируемый клон ауксотрофных микроорганизмов, например, если рост колоний отмечен в 6-й и 10-й чашках, это значит, что мутант нуждается для своего роста в гистидине и т. д.

Таблица 4 – Сочетание факторов роста по Р. Холлидею

Чашки	Чашки					
	1	2	3	4	5	6
7	аденин	биотин	фенилаланин	аланин	аргинин	лейцин
8	гипоксантин	фолиевая кислота	серин	цистеин	орнитин	глицин
9	цитозин	–	триптофан	треонин	аспарагиновая кислота	изолейцин
10	–	–	тирозин	–	пролин	гистидин
11	тимин	тиамин	–	метионин	глутаминовая кислота	лизин
12	урацил	рибофлавин	никотиновая кислота		инозит	валин

2. Определите группу по типу питания для представителей прокариот (роды, виды), заполните таблицу 5.

Таблица 5 – Типы питания прокариот

Род, вид бактерий	Источник углерода		Источник энергии*			Донор электронов*			Тип питания
	CO ₂	органические вещества	свет	реакции окисления неорганических веществ	реакции окисления органических веществ	H ₂ O	органические вещества	неорганические вещества	

*Примечание – выбрать необходимый вариант, используя знак «+».

3. Сравните основные типы брожения по плану:

- субстрат брожения;
- тип окислительного этапа;
- продукты брожения;
- энергетический выход (на 1 молекулу глюкозы);
- возбудители.

4. Составьте сравнительную характеристику фотосинтетического аппарата прокариот (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнительная характеристика фотосинтетического аппарата прокариот

Фотосинтетический аппарат	Пурпурные бактерии	Зеленые серные бактерии	Цианобактерии
Светособирающая система			
Хлорофиллы или бактериохлорофиллы			
Фикобиллипротеиды			
Каротиноиды			
Фотохимические реакционные центры			
Система транспорта электронов			
Фотосистемы			

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите основные энергетические процессы, встречающиеся у микроорганизмов.
2. Охарактеризуйте пути расщепления гексозы до ПВК, возможные у прокариот.
3. Чем отличается фосфорилирование на уровне субстрата от мембранного фосфорилирования? Какой тип фосфорилирования характерен для процессов брожения?
4. Чем отличается брожение от аэробного дыхания?
5. Укажите причину более низкого энергетического выхода при брожении в сравнении с аэробным дыханием.
6. Чем отличается аэробное дыхание от анаэробного дыхания?
7. Укажите причину более низкого энергетического выхода при анаэробном дыхании.
8. Каковы характерные особенности денитрифицирующих бактерий? Как влияет процесс денитрификации на плодородие почвы?
9. Каков биологический смысл процесса восстановления бактериями сульфатов до сероводорода?
10. Чем бактериохлорофиллы отличаются от хлорофиллов?
11. Какие преимущества дает многообразие пигментов группы каротиноидов фототрофным бактериям?
12. Чем отличается процесс фотосинтеза пурпурных и зеленых бактерий от фотосинтеза цианобактерий?

Многообразие микроорганизмов

Лабораторная работа. Цианобактерии

Материалы и оборудование: цианобактерии в чашках Петри с водой и илом, комплект оборудования для микроскопирования.

Ход работы

С помощью микробиологической петли на предметное стекло в каплю воды поместить небольшую часть пленки с поверхности подводных предметов, накрыть покровным стеклом и микроскопировать при малом, а затем при большом увеличении (рисунок 42).

Кокки *Microcystis* и *Gloeocapsa* обычно формируют слизистые колонии. У *Microcystis* колонии неправильной формы, продырявленные, у *Gloeocapsa* – колонии покрыты общим слоистым чехлом.

Пленка *Oscillatoria* состоит из многоклеточных нитей, сложенных одинаковыми цилиндрическими клетками. Трихомы без слизистого влагалища способны к поступательным движениям и вращению вокруг своей оси. При большом увеличении это движение заметно лучше и видно, что каждая нить состоит из мелких однородных клеток без ядра и хроматофоров. Внутренняя – более светлая часть клетки (центроплазма) – содержит нуклеоид, наружная – более темная (хроматоплазма), – в ней просматриваются мелкие зернышки гликогена, цианофитина, газовые вакуоли.

Трихом *Lyngbya* устроен аналогично, но имеет плотное слизистое влагалище, которое просматривается под микроскопом. В период размножения заметно, как гормогонии выскальзывают из влагалища.

Нити *Anabaena* и *Nostoc* имеют вид длинных цепочек, среди ряда основных овальных или округлых клеток которых имеются более крупные и бесцветные – гетероцисты. Колония *Nostoc* представляет собой скопление очень большого количества нитей, погруженных в особую слизистую массу, сливовидной или шаровидной формы в диаметре до 30 см.



Рисунок 42 – Цианобактерии:

- 1 – *Synechococcus aeruginosus*; 2 – *Dactylococcopsis raphidioides*;
- 3 – *Merismopedia glauca*; 4 – *Microcystis aeruginosa*; 5 – *Gloeocapsa turgida*;
- 6 – *Gomphosphaerina aponina*; 7 – *Chamaesiphon curvatus*;
- 8 – *Stigonema ocellatum*; 9 – *Nostoc pruniforme*; 10 – *Anabaena hassalii*;
- 11 – *Aphanizomenon flos-aquae*; 12 – *Tolypothrix tenuis*;
- 13 – *Calothrix tenuis*; 14 – *Oscillatoria chalybea*;
- 15 – *Lyngbya confervoides*

Вопросы для самоконтроля:

1. Назовите признаки, которые используются для определения вида бактерий.
2. Какие группы бактерий входят в состав отдела Firmacutes?
3. Приведите примеры микроорганизмов, относящихся к отделу Gracilicutes.
4. Укажите отдел и класс прокариот, к которым относятся цианобактерии. Что общего у цианобактерий и растений?
5. Почему старое название актиномицет – «лучистые грибы» – ошибочно?
6. Каково строение и образ жизни микоплазм?
7. Чем отличаются архебактерии от остальных прокариот?

Занятие 12

Анализ микрофлоры воздуха

Лабораторная работа. Количественный анализ микрофлоры воздуха

Этап № 1 Подготовка питательной среды и посуды

На первом занятии готовят и стерилизуют пробирки с питательной средой из питательного агара, стерилизуют сухим жаром чашки Петри.

Этап № 2 Посев микрофлоры воздуха

Материалы и оборудование: водяная баня, аппарат Коха, спиртовки.

Ход работы

1. На водяной бане или аппарате Коха расплавляют в пробирках приготовленную ранее стерильную среду. Плавление питательного агара происходит при 100 °С. Пробирки с жидкой средой охлаждают, чтобы было удобнее с ними работать (среда застывает при +60 °С).

2. Расплавленный питательный агар выливают из пробирок в стерильные чашки Петри. При разливе крышку чашки Петри открывают не полностью, а настолько, чтобы под нее вошло горлышко пробирки. Разлив производят на строго горизонтальной поверхности, чтобы агар распределился равномерно по дну чашки. С этой же целью сразу же после того, как агар выльют в чашку и закроют ее крышкой, чашку двигают по столу вращательными движениями.

3. После полного охлаждения чашки Петри и застывания среды производят посев микрофлоры воздуха.

Воздух является неблагоприятной средой для жизни микроорганизмов. Состав микробов воздуха весьма разнообразен. Он зависит от степени загрязнения воздуха минеральными и органическими взвешиваемыми, температуры, осадков, характера местности, влажности и других факторов. Чем выше концентрация в воздухе пыли, дымов, копоти, тем больше микробов. Количество микробов в воздухе колеблется в больших диапазонах: от нескольких экземпляров до многих десятков тысяч в 1 м².

В избранном для анализа месте (возможные варианты опыта: учебная аудитория, коридор, туалет, гардероб, тротуар, двор и др.) чашки ставят на горизонтальную поверхность, снимают крышки ровно на 5 минут. В течение 5 минут из воздуха на поверхность агара будут оседать микроорганизмы и споры. Очевидно, что чем загрязненнее микробами воздух, тем больше их осядет на поверхность агара.

4. Затем чашки Петри закрывают, восковым карандашом помечают варианты опыта, группу и фамилии студентов (на торце или верхней стороне чашки).

5. После посева чашки Петри переворачивают вверх дном, чтобы избежать возможного повреждения колоний микроорганизмов каплями конденсационной воды. Чашки помещают в термостат с температурой около +25 °С для выращивания колоний микроорганизмов.

Этап № 3 Анализ результатов опыта

Материалы и оборудование: фуксин, лупы, комплект для микроскопирования.

Ход работы

1. Подсчет количества колоний бактерий и грибов, выросших на поверхности агара в чашках Петри.

Колонии рассматривают через стекло чашки Петри. Просмотр колоний проводят сначала невооруженным глазом, а затем

с помощью лупы со стороны дна чашки. При большом количестве колоний чашку Петри кладут на лист бумаги, на котором начерчено от 4 до восьми секторов и считают количество колоний в каждом секторе. Данные заносят в таблицу 7.

2. По формуле определяют количество микробов в 10 л воздуха. При этом учитывают, что, по приблизительным подсчетам, на площади 100 см² в течение 5 минут оседает столько микроорганизмов, сколько их содержится в 10 литрах воздуха. Тогда количество микроорганизмов в 10 литрах можно рассчитать по формуле:

$$A = n \times 100 \text{ см}^2 / S,$$

где A – количество микроорганизмов в 10 л воздуха,

S – площадь чашки Петри в см²,

n – количество колоний в чашке Петри.

Таблица 7 – Анализ микрофлоры воздуха

Варианты	Количество колоний в чашке Петри в 0,01 м ³	Количество колоний в 0,01 м ³
1.		
2.		
3.		
и т.д.		

3. Изучение колоний в чашке Петри. Выявить число их типов, сравнивая колонки, выросшие на поверхности питательного агара, по следующим признакам: форма (округлая, овальная, чечевицеобразная, корневидная и др.); окраска; характер края (ровный, волнистый, лучистый, зубчатый); блеск (блестящая, матовая, просвечивающая); профиль приподнятости колоний над поверхностью среды (стелющаяся, плоская, выпуклая, вогнутая, складчатая, зернистая и т. д.); размер (точечная, мелкая, средняя, крупная).

4. Микроскопическое исследование выращенных колоний микроорганизмов. Для этого отбирают наиболее интересные колонии и готовят из них мазки, которые фиксируют и окрашивают фуксином (см. работу 14). Рассматривают препараты на большом увеличении с объективом ×100 (с иммерсией).

Зарисовать выявленные формы бактерий.

В выводах объяснить различия в количественном составе микрофлоры мест исследования.

Занятие 13

Влияния бактерицидных веществ на рост микроорганизмов

Лабораторная работа. Изучение влияния бактерицидных веществ на рост микроорганизмов

Бактерицидность – способность физических, химических и биологических факторов убивать микроорганизмы. Из физических факторов наибольшей бактерицидностью обладают тепловые и лучистые виды энергии. Химические вещества, обладающие бактерицидностью, называются бактерицидными веществами. Бактерицидность присуща и кровяной сыворотке человека и животных вследствие содержания в ней особого вещества – алексина, а также слезам, слюне, молоку, содержащим лизоцим, желудочному соку, в состав которого входит соляная кислота, и т. п. Бактерицидностью обладают вещества, выделяемые растениями – **фитонциды**, открытые Б.П. Токиным в 1928 г. Доказано, что фитонцидная активность присуща всему растительному миру. Одна из важнейших особенностей фитонцидов – специфичность их действия. Даже в микроскопических дозах они могут задерживать рост и размножение одних микроорганизмов, стимулировать рост других и играть существенную роль в регулировании состава микрофлоры воздуха, почвы и воды.

Этап № 1 Закладка опыта

Материалы и оборудование: луковицы лука, чеснока, корни хрена, горчица в порошке, 0,5–40 % формалин, хлорная известь, 3–5 % карболовая кислота, сорбиновая кислота и ее соли, антибиотики, пробирки со стерильным питательным агаром, стерильные чашки Петри, стерильная вода в пробирке, пробирки, культуры микроорганизмов.

Ход работы

1. Расплавить приготовленную питательную среду.
2. Приготовить растворы дезинфицирующих веществ в общепринятой концентрации.
3. В фарфоровой чашке натереть исследуемые части растений, богатых фитонцидами, приготовить кашу из порошка горчицы, таблетки антибиотиков растереть и смешать с небольшим объемом воды.
4. В несколько чашек Петри по количеству вариантов опыта (таблица) вылить расплавленную питательную среду.

5. После застывания питательной среды произвести сплошной посев микроорганизмов на поверхности питательного агара.

Сплошной посев можно произвести различными способами:

– в течение 10–15 минут провести посев микрофлоры воздуха, желательно вместе с большим количеством микроорганизмов;

– приготовить почвенную болтушку, дать отстояться. 1 мл взвеси микробов нанести на поверхность агара, осторожно растереть шпателем, слить излишки жидкости;

– использовать готовые культуры микробов, например, *Bacillus subtilis* или *Bacillus mesentericus*. Если бактерии выращены на твердой питательной среде, готовят водную взвесь микробов (в произвольном отношении). 1 мл взвеси микробов наносят на поверхность агара, осторожно растирают шпателем, излишки жидкости сливают.

6. Обожженным пинцетом наносят на поверхность агара диски, пропитанные антибиотиками, фитонцидами или дезинфицирующими веществами. Диски располагают по окружности чашки (рисунок). Чашки помещают в термостат при температуре +25 °С.

Анализ результатов опыта проводят на следующем занятии.

Этап № 2 Анализ результатов опыта

Материалы и оборудование: чашки Петри с испытуемыми культурами и веществами, согласно количеству вариантов опыта, миллиметровая бумага, лупы.

Ход работы

1. Достать из термостата чашки Петри, сравнить количество и размеры колоний в опытном и контрольном вариантах.

Если испытуемое вещество обладает сильным бактерицидным действием, то в непосредственной близости от нанесенной капли рост бактерий не происходит и образуется стерильная зона (рисунок 43). На некотором удалении может располагаться зона угнетения роста, для которой характерен рассеянный рост колоний.

2. При подведении итогов измеряют полоской миллиметровой бумаги радиус зоны отсутствия роста, данные заносят в свободную таблицу (таблица 8).



Рисунок 43 – Определение антимикробного действия антибиотиков (метод дисков)

Таблица 8 – Влияние бактерицидных веществ на рост микроорганизмов

Испытуемое вещество (варианты опыта)	Размер зоны отсутствия роста, мм
Контроль	
Фитонциды (лука, чеснока, горчицы, хрена)	
Дезинфицирующие вещества (40 % формалин, хлорная известь и др.)	

3. Сделать выводы о степени бактерицидного действия испытуемых веществ.

Занятие 14 Структурная организация вириона

Задание: Составить характеристики простых и сложных вирусов, модели которых представлены на рисунках 44–46, по предложенному в таблице 9 плану.

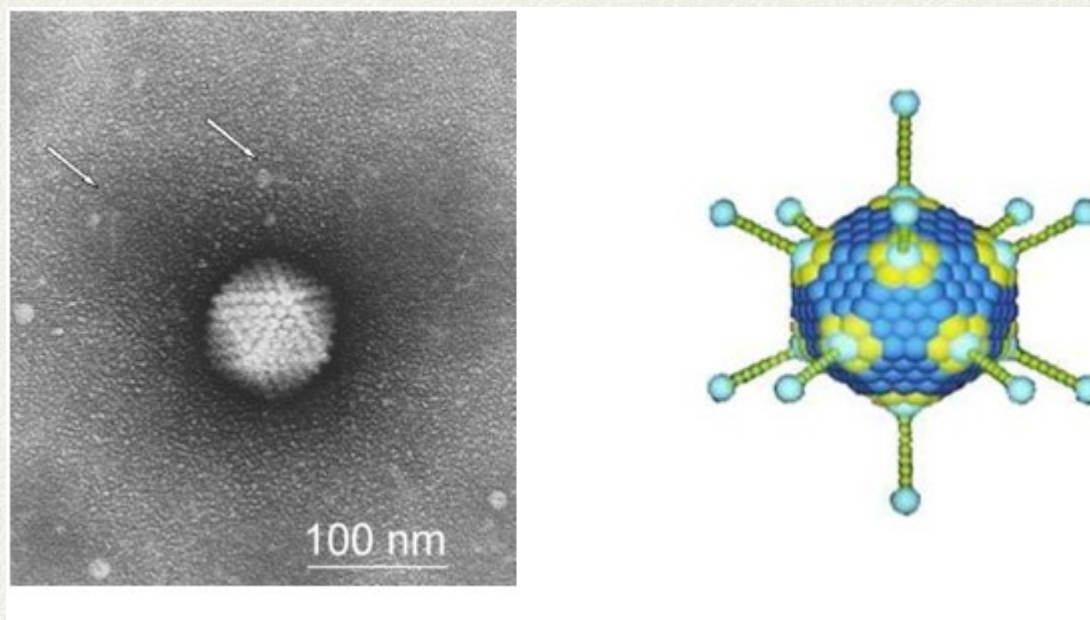


Рисунок 44 – Аденовирус

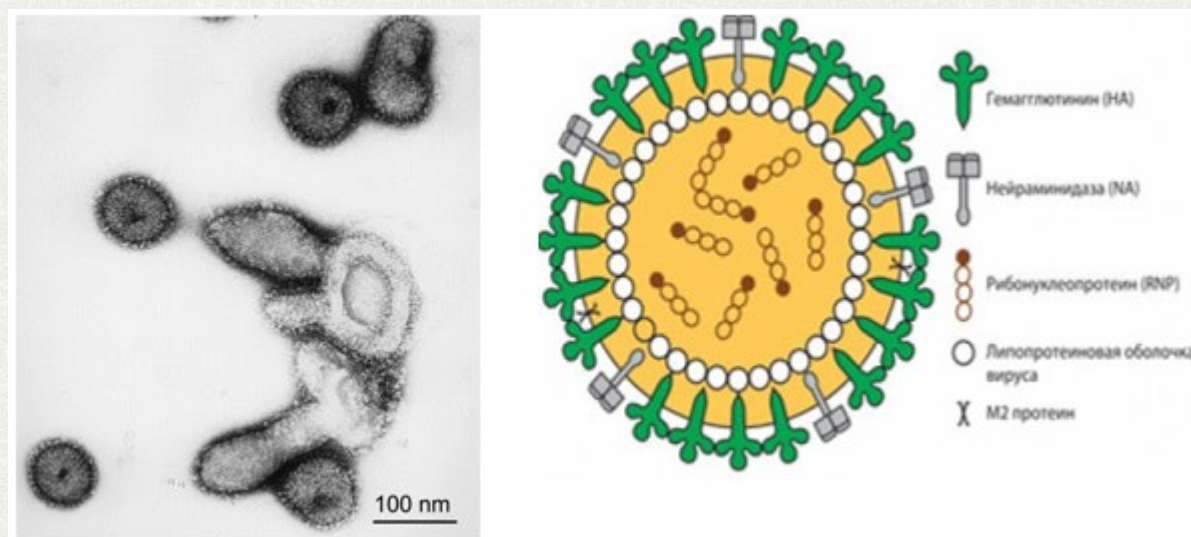


Рисунок 45 – Вирус гриппа

ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ

1. Предмет, задачи, методы микробиологии. Основоположники микробиологической науки.
 2. Классификация питательных сред и требования к ним.
 3. Элективные и чистые культуры. Показатели роста культур микроорганизмов.
 4. Периодическое и непрерывное культивирование.
 5. Культивирование иммобилизованных клеток.
 6. Особенности строения клеток прокариот. Размеры и формы бактерий.
 7. Строение и химический состав клеточной стенки бактерий. Окраска бактерий по методу Грамма.
 8. Строение и функции ЦПМ, ее производные в бактериальной клетке.
 9. Нуклеоид и плазмиды, их роль в бактериальной клетке. Методика окраски нуклеоида.
 10. Рибосомы, включения, запасные вещества бактериальной клетки.
 11. Слизистые образования, ворсинки в бактериальной клетке: строение и значение.
 12. Строение жгутика. Способы движения бактерий.
 13. Размножение бактерий.
 14. Покоящиеся формы у бактерий. Образование эндоспор.
 15. Фенотипическая и генотипическая изменчивость бактерий. Мутации у бактерий.
 16. Конъюгация как способ рекомбинации генов у бактерий.
 17. Трансформация как способ рекомбинации генов у бактерий.
 18. Трансдукция как способ рекомбинации генов у бактерий.
 19. Ассоциативные взаимоотношения между микроорганизмами.
 20. Конкурентные взаимоотношения между микроорганизмами.
 21. Взаимоотношения микроорганизмов с растениями и животными.
 22. Химический состав и источники биогенных элементов прокариот.
- Типы питания прокариот.
23. Факторы роста и ферменты бактериальных клеток.
 24. Представление о конструктивном и энергетическом метаболизме.
- Общая характеристика брожения.
25. Молочнокислое брожение: химизм, типы, возбудители, значение.
 26. Маслянокислое брожение: химизм, типы, возбудители, значение.
 27. Спиртовое брожение химизм, типы, возбудители, значение.
 28. Аэробное дыхание.
 29. Общая характеристика анаэробного дыхания (нитратное, карбонатное, сульфатное, фумаратное дыхание.).
 30. Особенности бактериального фотосинтеза. Аноксигенный и оксигенный фотосинтез.
 31. Отношение микроорганизмов к молекулярному кислороду.
 32. Влияние на микроорганизмы осмотического давления.
 33. Влияние температуры на микроорганизмы.
 34. Зависимость бактерий от реакции среды.
 35. Действие лучистой энергии, гидростатического давления и звука на микроорганизмы.
 36. Влияние антисептиков и антибиотиков на микроорганизмы.

37. Принципы классификации бактерий. Характеристика отдела *Gracilicutes*.

38. Принципы классификации бактерий. Характеристика отделов *Firmicutes* и *Tenericutes*.

39. Принципы классификации бактерий. Характеристика отдела *Mendosicutes*.

40. Общая характеристика вирусов: открытие, уникальные свойства вирусов, гипотезы происхождения вирусов. Понятие о вироидах и прионах.

41. Структурная организация вириона. Этапы репродукции вирусов в клетке. Методы культивирования вирусов.

42. Бактериофаги: морфология, взаимодействие с бактериальной клеткой, резистентность, практическое применение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вирусология : курс лекций / сост. Н. В. Шкуратова. – Брест : БрГУ имени А.С. Пушкина, 2021. – 62 с.
 2. Громов, Б.В. Экология бактерий / Б.В. Громов, Г.В. Павленко – Л.: ЛГУ, 1989. – 248 с.
 3. Ксенофонтов, Б.С. Основы микробиологии и экологической биотехнологии / Б.С. Ксенофонтов. – М.: ИД «ФОРУМ»: ИНФРА-М, 2017. – 224 с.
 4. Микробиология с основами битехнологии : учеб.-метод. комплекс для студентов специальности 1-02 04 01 «Биология и химия» / Брест. гос. ун-т им. А.С. Пушкина ; сост. В.И. Бойко, Н.В. Шкуратова, С.М. Ленивко; – Брест : БрГУ, 2021. – 180 с.
 5. Микробиология: учебно-методический комплекс / авт.-сост.: В. И. Бойко, Н.В. Шкуратова. – Брест : БрГУ, 2015. – 163 с.
 6. Микробиология и санитария / И. Ю. Ухарцева [и др.] – Минск : ИВЦ Минфина, 2006. – 332 с.
 7. Нетрусов, А.И. Микробиология: учебник / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. – М.: Academia, 2007. – 352 с.
 8. Лысак, В.В. Микробиология: учеб. пособие / В.В. Лысак. – Минск: БГУ, 2008. – 343 с.
 9. Лысак, В.В. Микробиология: практикум: / В.В.Лысак, Р.А. Желдакова, О.В. Фомина. – Минск: БГУ, 2015. –115 с.
 10. Лысак, В.В. Систематика микроорганизмов: учебное пособие В.В. Лысак, О.В. Фомина. – Минск : БГУ, 2014. – 304 с.
 11. Павлович, С. А. Микробиология с вирусологией и иммунологией / С.А. Павлович. – Минск : Высшая школа, 2008. – 799 с.
 12. Экологическая микробиология: учеб.-метод. пособие / М.И. Чернявская [и др.]. – Минск: БГУ, 2016. – 63 с.
-

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Пастеризация – способ обработки пищевых продуктов нагреванием в течение определенного времени температурой менее 100 °С. Такая процедура либо уничтожает, либо дезактивирует микроорганизмы и ферменты, которые способствуют порче продуктов и риску ряда заболеваний, передающихся с пищей.

Вакцина – это медицинский или ветеринарный препарат, предназначенный для создания иммунитета к инфекционным болезням. Вакцина изготавливается из ослабленных или убитых микроорганизмов, продуктов их жизнедеятельности или из их антигенов, полученных генно-инженерным или химическим путем.

Туберкулин – это лизат (вытяжка) из микобактерий туберкулеза, инактивированных нагреванием, который применяется для исследования напряженности иммунитета к возбудителю туберкулеза (проба Манту, или туберкулиновая проба).

Бактериология – раздел микробиологии, изучающий бактерий.

Фагоцитоз – процесс поглощения чужеродного материала клеткой, который является защитной реакцией и не требует специфичности, характерной для синтеза антител. Это самый древний механизм защиты, присущий всем живым организмам, начиная с простейших.

Иммунитет – защитная реакция организма на внешние и внутренние биологически активные агенты (антигены), направленная на сохранение постоянства внутренней среды (гомеостаза) организма. Обеспечивает невосприимчивость организма к инфекционным агентам и веществам, обладающим антигенными свойствами.

Атрофия – прижизненное уменьшение размеров органа или ткани организма, сопровождающееся нарушением или прекращением их функций. При атрофии какого-либо органа вследствие уменьшения его общего объема и массы происходит атрофия составляющих его клеток при сохранении опорных соединительнотканых структур.

Пробиотики – это живые непатогенные, нетоксигенные микроорганизмы, поступающие в кишечник человека с пищей, благотворно воздействующие на организм, нормализующие состав и биологическую активность микрофлоры пищеварительного тракта.

Этиология – это учение о причинах и условиях возникновения болезни.

Эпидемиология – это наука, изучающая закономерности возникновения, распространения и течения инфекций в человеческих популяциях.

Хемосинтез – способ автотрофного питания, при котором синтез органических веществ происходит за счет энергии окислительно-восстановительных реакций неорганических соединений.

Нитрификация – биологический процесс превращения аммонийного азота сначала в нитриты, а затем в нитраты в аэробных условиях.

Прионы – белковые инфекционные агенты, не содержащие нуклеиновой кислоты, вызывающие медленные болезни млекопитающих.

Вироиды – инфекционные агенты, представленные кольцевой молекулой РНК, вызывающие болезни растений.

Популяция микроорганизмов – совокупность особей одного вида, относительно длительно обитающих на определенной территории и способных к обмену генетическим материалом. Популяции бактерий состоят из клонов, т.е. потомков отдельных клеток.

Культура микроорганизмов – это популяция микроорганизмов, растущая на питательной среде, т.е. в лабораторных условиях.

Агар – сложный полисахарид, в состав которого входят агароза и агаропектин. Агар получают из красных морских водорослей. Большинство микроорганизмов не расщепляет агар ввиду отсутствия у них фермента целлюлазы. В воде агар образует гель, плавящийся при температуре +80 – +100 °С и затвердевающий при +37 – +40 °С. Поэтому на агаризованных средах можно культивировать микроорганизмы при относительно высокой температуре.

Желатин – это экстракт, получаемый из субстратов, богатых коллагеном – белком костей, хрящей, сухожилий. Используется только для специальных целей, так как образуемый им гель плавится при температуре +25 °С, т.е. более низкой, чем обычная температура инкубации (+37 °С). Желатин разжижается протеолитическими ферментами микроорганизмов. Для приготовления плотных сред добавляют до 10–15 % желатина.

Силикагель, или кремнекислый гель – используется в микробиологии в качестве уплотнителя питательных сред для выращивания хемолитотрофных бактерий. Стерильный золь готовят из раствора силиката натрия и перед использованием, чтобы вызвать образование геля, к нему добавляют питательную среду, содержащую электролиты (конечная концентрация двуокись кремния (SiO₂) в среде около 1,5 %).

Микоплазмы – одноклеточные прокариотические организмы, у которых отсутствует клеточная стенка. Пограничным слоем у микоплазм является тонкая трехслойная мембрана, содержащая в значительном количестве холестерин. Плеоморфны Форма клеток непостоянна. Размеры наиболее мелких микоплазм составляют 0,13–0,15 мкм. Среди микоплазм есть сапрофиты и паразиты.

Бактериоцины – группа веществ белковой природы, продуцируемых некоторыми бактериями, подавляющие рост близкородственных видов и родов бактерий.

11 S, или единица Сведберга – единица измерения коэффициента седиментации, являющегося мерой массы макромолекул. Его находят, измеряя скорость осаждения молекул в центробежном поле.

Фенотип – совокупность внешних и внутренних признаков организма, сформировавшихся в процессе индивидуального развития.

Генотип – совокупность генов организма.

Транзиция – форма точечных мутаций, при которой происходит замена пурина на другой пурин или же пиримидина на другой пиримидин (простая замена). Например, пара Г–Ц может быть заменена на пару А–Т или наоборот.

Трансверсия – форма точечных мутаций, при которой происходит замена пурина пиримидином и наоборот (сложная замена), т. е. вместо пары А–Т появляется пара Т–А или Г–Ц.

Дупликации – это мутации, приводящие к возникновению в данной нуклеотидной последовательности одного или чаще нескольких повторов.

Делеции – это мутации, сопровождающиеся утратой двух или нескольких пар оснований.

Инверсии – мутации, ведущие к изменению порядка нуклеотидов в ДНК на обратный по отношению к ориентации в штаммах дикого типа, возникающее обычно в результате рекомбинации с переворотом.

Транслокации – это мутации, переносящие фрагмент ДНК в новое положение.

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы.

Пермеазы – белки-переносчики локализованные в цитоплазматической мембране, обладающие субстратной специфичностью (каждая транспортирует

определенное вещество). На внешней стороне цитоплазматической мембраны пермеаза адсорбирует вещество – вступает с ним во временную связь и диффундирует комплексно через мембрану, отдавая на внутренней стороне ее транспортируемое вещество в цитоплазму.

Связующие белки – белки, участвующие в активном переносе веществ через мембрану клетки. Не обладают ферментативной активностью и работают всегда в комплексе с пермеазами. Связующие белки характерны для грамотрицательных бактерий и локализируются в периплазматическом пространстве клетки.

Клеточный метаболизм – совокупность всех обменных процессов в клетке, обеспечивающих расщепление и синтез веществ с использованием энергии, накопленной в виде АТФ.

Фотосинтетические пигменты – органические вещества, способные улавливать и поглощать свет определённой длины волны (бактериохлорофиллы, хлорофиллы, каротиноиды и фикобилины). В зависимости от спектрального состава отражённого света пигменты приобретают окраску – зелёную, жёлтую, красную и другие.

Фотосистема – функциональную и структурную единицу белковых комплексов, которые осуществляют первичные фотохимические реакции фотосинтеза: поглощение света, преобразование энергии и перенос электронов. Например, у растений существует две фотосистемы – I и II, молекулы их реакционных центров имеют максимум поглощения света на длине волны 700 нм, вторая – 680 нм (обозначаются соответственно P700 и P680).

Коли-индекс – это количество клеток *Escherichia coli* в 1 л воды. В норме их не должно быть более трех.

Коли-титр – наименьший объем воды в мл, содержащий одну клетку *Escherichia coli*.

Вирион – вирусная частица, внеклеточная стадия развития вируса.

Эндоцитоз – транспорт макромолекул в клетку осуществляется за счет захвата в области впячивания (инвагинации) плазмолеммы, с формированием эндоцитозного пузырька (эндосомы). Далее содержимое эндосомы подвергается внутриклеточной переработке (процессингу).

Симпласт – многоядерное цитоплазматическое образование, формирующееся путем слияния одноядерных клеток.

Синцитий – многоядерная структура, образующаяся вследствие неполной цитотомии при делении клеток.

Иммунологические методы идентификации вирусов – обеспечивают идентификацию вирусов за счет иммунологических реакций, в том числе торможения гемагглютинации, задержки гемадсорбции, связывания комплемента, нейтрализации, преципитации в геле агара.

Фаготерапия – это способ лечения некоторых бактериальных инфекций (брюшного тифа, дизентерии, холеры и др.) специфическими бактериофагами. При использовании бактериофагов в лечебных целях предварительно определяют чувствительность возбудителей к данному бактериофагу.

Фагопрофилактика – применение бактериофагов с целью предупреждения заболеваний в эпидемическом очаге (например, дизентерийный, сальмонеллезный и стафилококковый бактериофаги). В настоящее время фаги применяются для экстренной профилактики брюшного тифа и дизентерии.

Фагодиагностика – внутривидовое определение бактерий с помощью типовых фагов, которые избирательно лизируют отдельные варианты бактерий внутри вида.

Генная инженерия – совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма

(клеток), осуществления манипуляций с генами, введения их в другие организмы и выращивания искусственных организмов после удаления выбранных генов из ДНК. В генной инженерии бактериофаги применяются для естественной передачи генов между бактериями, в качестве векторов, переносящие участки ДНК, а также для конструирования направленных изменений в геноме ДНК клетки.

Составитель:

Шкуратова Наталья Валерьевна
кандидат биологических наук, доцент

Рецензенты:

Кафедра инженерной экологии и химии учреждения образования
«Брестский государственный технический университет»

Доцент кафедры кафедры медико-биологических дисциплин, технологий
оздоровительной и адаптивной физической культуры учреждения образования
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, кандидат
биологических наук, доцент **М.В. Головач**

Микробиология: электронный учебно-методический комплекс студентов
специальности 6-05-0113-03 Природоведческое образование (биология и
химия) / сост. Н.В. Шкуратова. – Брест гос. ун-т им. А.С. Пушкина. – Брест :
БрГУ, 2026.

<https://rep.brsu.by:443/handle/123456789/10817>

Электронный учебно-методический комплекс являются руководством для
освоения содержания теоретического материала учебной дисциплины
«Микробиология» и выполнения лабораторных заданий. Содержит
необходимые методические материалы для подготовки к аттестации по
дисциплине.

Издание предназначено для студентов специальности 6-05-0113-03
Природоведческое образование (биология и химия).

Компьютерный набор и верстка Шкуратова Н.В.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

ЛЕКЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ

Тема 1. Введение. Возникновение и развитие микробиологии

Тема 2. Рост, размножение, культивирование прокариот

Тема 3. Морфология и структурно-функциональная организация прокариот

Формы бактерий. Поверхностные структуры бактериальной клетки

Цитоплазма бактериальной клетки

Функциональные особенности прокариот

Фенотипическая и генотипическая изменчивость прокариот

Тестовые задания по теме «Морфология и структурно-функциональная организация прокариот»

Тема 4. Физиология прокариот

Химический состав и питание прокариот

Энергетический метаболизм прокариот

Бактериальный фотосинтез

Тема 5. Систематика и классификация прокариот

Принципы классификации прокариот

Многообразие прокариот

Тема 6. Экология прокариот

Влияние физических и химических факторов среды на бактерии

Взаимоотношения микроорганизмов

Микроорганизмы и высшие растения

Взаимоотношения микроорганизмов с животными

Тема 7. Основы вирусологии

Общая характеристика вирусов. Репродукция вирусов

Бактериофаги. Прионы

Тестовые задания по теме «Основы вирусологии»

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Правила работы в микробиологических лабораториях

Занятие 1. Питательные среды

Занятие 2. Методы микроскопического анализа микроорганизмов

Занятие 3. Морфология микроорганизмов

Занятие 4. Окраска бактерий по методу Грама

Занятие 5. Окраска нуклеоида бактерий

Занятие 6. Окраска спор по Циллю

Занятие 7. Итоговое занятие по теме «Морфология и структурно-функциональная организация прокариот»

Занятие 8. Молочнокислое брожение

Занятие 9. Маслянокислое брожение

Занятие 10. Итоговое занятие по теме «Физиология прокариот»

Занятие 11. Многообразие микроорганизмов

Занятие 12. Анализ микрофлоры воздуха

Занятие 13. Влияния бактерицидных веществ на рост микроорганизмов

Занятие 14. Структурная организация вириона

ВОПРОСЫ К ЗАЧЕТУ

Тема 2. Рост, размножение, культивирование прокариот

Рост культуры микроорганизмов – это процесс увеличения размеров клеток микроорганизмов и их количества. В подходящей питательной среде, к которой бактерии полностью адаптированы, они находятся в состоянии сбалансированного роста. В период сбалансированного роста удвоение биомассы сопровождается удвоением всех других учитываемых параметров **популяции микроорганизмов**, например, количества белка, ДНК, РНК и внутриклеточной воды, т. е. сохраняют постоянный химический состав.

В условиях сбалансированного роста легко определить величину скорости роста популяции микроорганизмов в каждый момент времени, если измерить прирост любого компонента клетки по отношению к его исходному количеству. Таким образом, в **культуре микроорганизмов**, растущей сбалансированно, скорость прироста вещества клеток в любой данный момент пропорциональна числу или массе имеющихся в это время бактерий.

Удельной скоростью роста (μ), или *коэффициентом пропорциональности*, называют отношение прироста биомассы (Δx) за 1 ч к исходной биомассе бактерий (x):

$$\mu = \Delta x / t \cdot 1 / x,$$

где Δx – прироста биомассы, t – время культивирования,
 x – исходная биомасса.

Данная величина отличается для разных культур, и даже для одной культуры.

Зная удельную скорость роста, можно определить *время генерации* (g) – время, необходимое для удвоения числа клеток популяции:

$$g = 1 / \mu.$$

Если рост клеток в культуре ограничен количеством внесенного в питательную среду компонента, то между его начальной концентрацией и полученной биомассой клеток существует постоянная линейная зависимость (при условии ограничения роста только по одному параметру).

Масса клеток, образованная на единицу использованного компонента среды, представляет собой величину, которую называют *экономическим коэффициентом* (y):

$$y = (x - x_0) / (s_0 - s),$$

где x – масса сухого вещества клеток в 1 мл культуры, вступившей в стационарную фазу роста; x_0 – масса сухого вещества клеток в 1 мл среды сразу после инокуляции среды; $(x - x_0)$ – урожай бактериальной культуры (урожай зависит от количества и природы используемых питательных веществ, а также от условий культивирования); $(s_0 - s)$ – количество потребленного субстрата.

В лабораторных и промышленных условиях используют два основных способа культивирования микроорганизмов: периодическое (статическое) и непрерывное (проточное).

Рост бактерий в *периодической культуре* происходит до тех пор, пока содержание какого-нибудь из необходимых им компонентов питательной среды не достигнет минимума, после чего рост прекращается. Если на протяжении этого времени не добавлять питательных веществ и не удалять конечных продуктов метаболизма, то получается так называемая периодическая культура (популяция клеток в ограниченном жизненном пространстве).

Зависимость концентрации жизнеспособных клеток при *периодическом культивировании* от длительности инкубирования описывается характерной кривой роста (рисунок 3). Графически эту закономерность изобразил в 1942 г. Жак Моно.

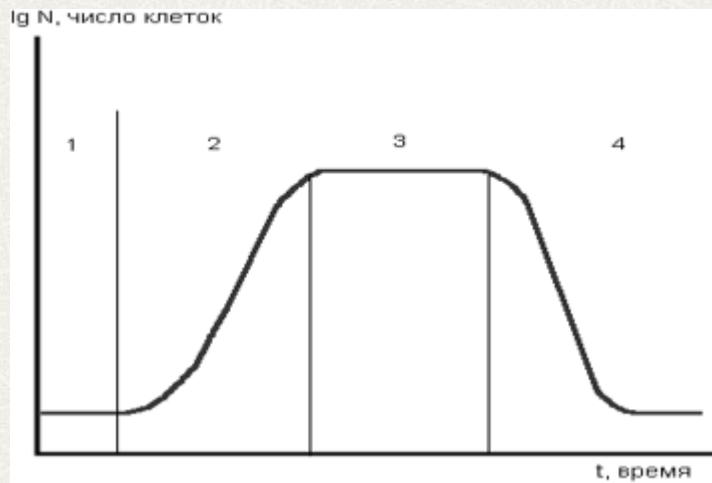


Рисунок 3 – Кривая роста бактериальной популяции в статической культуре:
1 – начальная фаза; 2 – экспоненциальная фаза; 3 – стационарная фаза; 4 – фаза отмирания

На кривой различают *фазы роста*, сменяющие друг друга в определенной последовательности:

– *начальная фаза (лаг-фаза)* – промежуток времени между инокуляцией бактерий и достижением ими максимальной скорости деления. В клетках бактерий в этот период идут в основном процессы, связанные с приспособлением их к условиям культивирования (составу среды, температуре, рН и т. п.). Во время лаг-фазы деления клеток почти не происходит, отмечаются лишь процессы, подготавливающие клетку к размножению;

– *экспоненциальная фаза (фаза логарифмического роста)* – характеризуется постоянной максимальной скоростью деления клеток и скоростью роста. Во время экспоненциальной фазы все клетки в популяции имеют приблизительно одинаковый размер, содержат максимальное количество РНК, количество белка в них также максимально и постоянно. Во время экспоненциальной фазы клетки наиболее жизнеспособны и обладают высокой биохимической активностью;

– *стационарная фаза* наступает тогда, когда число жизнеспособных клеток достигает максимума и не увеличивается, так как скорость размножения бактерий равна скорости их отмирания. Из-за недостатка субстрата, вследствие высокой плотности бактериальной популяции, накопления продуктов метаболизма, а также при низком парциальном давлении кислорода, по причине накопления токсичных продуктов обмена и т. п. снижается скорость роста культуры микроорганизмов. Переход в стационарную фазу включает период *несбалансированного роста*, когда компоненты клеток синтезируются с различными скоростями, соответственно и содержание отдельных химических веществ в клетках на разных стадиях отличается. Клетки в стационарной фазе меньше по размеру, содержат меньше РНК, более устойчивы к физическим и химическим воздействиям;

– *фаза отмирания* характеризуется экспоненциальным снижением числа живых клеток.

В условиях *непрерывного (проточного) культивирования* в сосуд, содержащий популяцию бактерий, подается свежая питательная среда и из него одновременно удаляется часть среды с клетками микроорганизмов. Это позволяет на длительное время задержать культуру в состоянии экспоненциального роста.

Проточное культивирование осуществляется в аппаратах (ферментерах)

двух типов: хемостатах и турбидостатах. *Хемостат* состоит из культиватора, в который с заданной постоянной скоростью поступает питательная среда. Для равномерного и полного смешения питательных веществ содержимое культиватора механически перемешивается и аэрируется стерильным воздухом. Избыточная биомасса клеток с питательной средой вытекает из культиватора через сливной сифон в приемный сосуд. В хемостате прирост биомассы прямо пропорционален скорости притока субстрата и удаления продуктов метаболизма (рисунок 4).

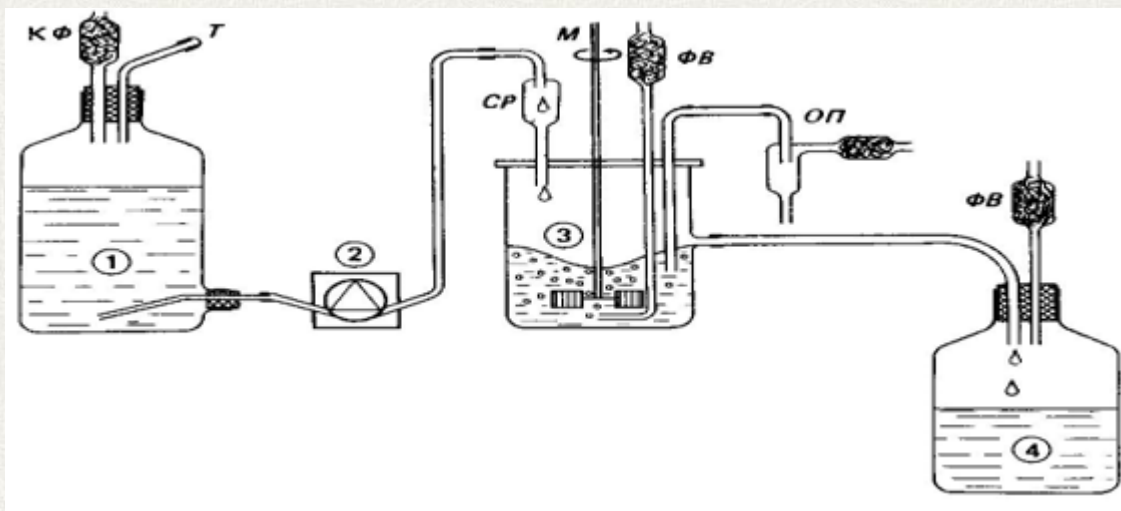


Рисунок 4 – Принцип непрерывной культуры в хемостате (по Г. Шлегелю):
 1 – сосуд с питательной средой; 2 – перистальтический насос;
 3 – культиватор; 4 – приемный сосуд; КФ – компенсационный фильтр;
 Т – трубка для дозирования; СР – приток питательной среды; М – мешалка;
 ФВ – фильтр для воздуха; ОП – приспособление для отбора проб

Турбидостат представляет собой ферментер, в котором поддерживается заданная плотность клеток за счет определения оптической плотности среды культивирования. Когда количество биомассы увеличивается относительно некоторого выбранного уровня, что фиксируется фотоэлементом, соединенным с системой реле, включается подача свежей питательной среды.

Культуры микроорганизмов представляют совокупность клеток, каждая из которых находится на разных стадиях своего индивидуального развития. Синхронизация культур дает более стандартные результаты определения вирулентности, чувствительности к антимикробным препаратам и т.д.

Синхронные культуры – это популяции микроорганизмов, в которых все клетки находятся на одинаковой стадии клеточного цикла и делятся одновременно.

Синхронные культуры используют для изучения процессов обмена веществ на протяжении цикла клеточного деления, для изучения синтеза отдельных клеточных компонентов в процессе деления клетки.

Синхронный рост может быть обусловлен приспособлением культуры к новому питательному субстрату, после чего происходит одновременное деление клеток, в результате одновременного прорастания спор в вегетативные клетки. Через 2–3 генерации синхронность нарушается и преобладает асинхронный рост.

Частичная или полная синхронизация деления клеток в культуре наблюдается сразу после лаг-фазы, после чего скорость накопления клеток понижается.

Для синхронизации микробная популяция путем различных воздействий приводится в однородное физиологическое состояние. Синхронизации культуры достигают путем изменения лимитирующих факторов среды. Например, используют метод вынужденного голодания, когда клетки

помещают на неполноценную среду, культивируют, затем переносят на полноценную. Синхронизации роста клеток достигают путем подавления, ускорения или задержки метаболических функции циклическим способом. Например, добавляют ингибиторы белкового синтеза. У фотосинтезирующих бактерий синхронные культуры получают чередованием световых и темновых режимов культивирования. Также используют механические методы: пропускание культуры через специальные фильтры (отбор клеток одинакового размера) и центрифугирование (клетки, находящиеся в начале цикла деления, более мелкие и оседают медленнее).

Культивирование иммобилизованных клеток микроорганизмов находит широкое применение в биотехнологии: в производстве ценных органических веществ, в деградации токсичных природных и неприродных соединений, а также промышленных отходов, для очистки сточных вод от загрязнений. Методы иммобилизации клеток основаны на способности микроорганизмов к адсорбции на твердых поверхностях. Существуют два принципиально различных подхода к иммобилизации: химические и физические (без образования ковалентной связи между клеткой и носителем).

Химические методы иммобилизации предполагают образование ковалентной связи между какой-либо из функциональных групп на поверхности клетки микроорганизма и материалом носителя. Химические методы применяются сравнительно редко, так как клетки в этом состоянии могут терять нужную активность.

Физические методы иммобилизации реализуются в результате адсорбции микроорганизмов на поверхности различных нерастворимых синтетических или природных пористых материалов, при включении клеток в поры поперечносшитого геля и т. п. Например, при смешивании суспензии клеток с раствором полимера (полиакриламид, агароза и т. п.) с последующей полимеризацией образуется пространственная структура геля с включенными в его ячейки клетками микроорганизмов. В результате микроорганизмы оказываются заключенными в ячейки, которые ограничивают их перемещение, но не препятствуют поступлению питательных веществ и осуществлению каталитических реакций. Полимерный носитель с клетками сворачивают в рулон и помещают в колонку, через которую пропускают питательный раствор. В настоящее время разрабатываются методы иммобилизации клеток путем их включения в белковые мембраны с использованием коллагена, казеина, миозина и других белков или полипептидов. Мембраны с иммобилизованными клетками сохраняют высокую ферментативную активность, что позволяет использовать их в непрерывно действующих технологических процессах. При этом облегчается выделение продуктов биосинтеза.

Микроорганизмы по-разному относятся к молекулярному кислороду. *Аэробные микроорганизмы* осуществляют на поверхности плотных сред либо в тонком слое жидких сред. При глубинном культивировании аэробов на жидких средах осуществляют постоянное аэрирование, чтобы микроорганизмы имели возможность использовать растворенный в среде кислород.

Для *культивирования анаэробов* применяют различные методы создания бескислородных условий. *Анаэростат* – прибор, который предназначен для выращивания микроорганизмов в чашках Петри (рисунок 5). В частности, он используется для культивирования облигатных анаэробных и микроаэрофильных организмов. В анаэростате создаётся бескислородная атмосфера из газов и газовых смесей (обычно 80 % N₂, 10 % CO₂, 10 % H₂), подходящая для выращивания культур в чашках Петри. Обычно анаэростаты имеют встроенные вакуумметры для контроля состояния внутренней газовой среды.

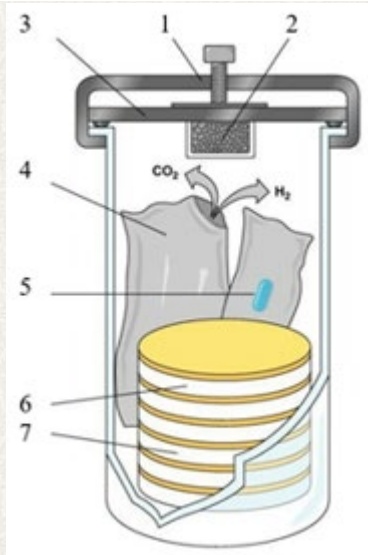


Рисунок 5 – Микроанаэростат

- 1 – винтовой зажим; 2 – гранулы катализатора Pt, Pd; 3 – крышка с герметичной прокладкой;
 4 – пакет с бикарбонатом и боргидридом натрия; 5 – анаэробный индикатор (метиленовый синий – бесцветен в анаэробных условиях); 6, 7 – чашки Петри

Бескислородные условия создают также химическими методами путем добавления химических веществ, поглощающих кислород

Щелочной раствор пирогаллола, дитионит натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$, металлическое железо и др. Также используют восстанавливающие агенты, которые добавляют в большинство сред для снижения окислительно-восстановительного потенциала среды (тиогликолат натрия, цистеин, аскорбиновая кислота).

Применяют биологические методы создания анаэробных условий, в том числе: совместное культивирование аэробов и анаэробов; выращивание анаэробов в высоком слое или толще плотной среды; культивирование анаэробов в вязких средах; заливка среды с посевом анаэробов высоким слоем масла или парафина.

Для культивирования микроорганизмов применяют *питательные среды*, которые являются одновременно и местом обитания микроорганизмов, и источником питательных веществ.

Питательные среды по составу делятся на натуральные, синтетические, полусинтетические. *Натуральными* называют питательные среды, которые состоят из продуктов животного или растительного происхождения. К средам такого типа относятся овощные или фруктовые соки, ткани животных, молоко, отвары мяса, вытяжки почвы, различные части растений, клетки микроорганизмов. На натуральных средах хорошо развиваются многие микроорганизмы, поскольку такие среды содержат все компоненты, необходимые для их роста и развития. Однако эти среды имеют сложный, непостоянный химический состав и малопригодны для изучения обмена веществ микроорганизмов, так как в них трудно учесть потребление ряда компонентов и образование продуктов метаболизма. Натуральные среды используются главным образом для поддержания культур микроорганизмов, накопления биомассы и для диагностических целей.

Синтетические питательные среды – это среды, в которые входят соединения определенного химического состава, взятые в точно указанных количествах. Они широко используются при исследовании обмена веществ, физиологии и биохимии микроорганизмов.

Главными компонентами полусинтетических сред являются соединения известного химического состава – углеводы, соли аммония или нитраты, фосфаты и др. Однако в них всегда включаются вещества неопределенного состава, такие как дрожжевой, почвенный, кукурузный экстракт или

гидролизат казеина. Эти среды находят широкое применение в промышленной микробиологии для получения аминокислот, витаминов, антибиотиков и других важных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

По физическому состоянию различают жидкие, сыпучие, плотные питательные среды.

Жидкие питательные среды применяют для накопления биомассы или продуктов обмена, для исследования физиологии и биохимии микроорганизмов.

Сыпучие питательные среды применяют главным образом в промышленной микробиологии для культивирования некоторых продуцентов физиологически активных соединений. К таким средам относятся, например, разваренное пшено, отруби и др.

Плотные питательные среды используют для выделения чистых культур, определения количества жизнеспособных микроорганизмов, хранения культур в коллекциях, для накопления биомассы. В целях уплотнения сред применяют гелеобразные вещества: **агар** (2–3 %), **желатин** (10–15 %) или **силикатгель** (кремнекислый гель). Эти компоненты добавляют к жидким питательным средам, например, к мясопептонному бульону (МПБ), получая, таким образом, мясопептонный агар (МПА).

По назначению питательные среды подразделяют на селективные и дифференциально-диагностические.

Селективные (избирательные, накопительные) питательные среды предназначены для выделения микроорганизмов из мест их естественного обитания. Селективная среда по химическому составу и физическим свойствам обеспечивает преимущественное развитие определенной физиологической группы микроорганизмов. Избирательность создается температурными условиями, рН среды, добавлением антибиотиков и т. д.

Дифференциально-диагностические среды дают возможность быстро отличить одни виды микроорганизмов от других и выявить некоторые их особенности. Эти среды особенно широко применяются в санитарной и медицинской микробиологии для быстрой идентификации микроорганизмов. Дифференциально-диагностические среды (среда Гисса, среда Эндо, среда Левина и др.) содержат индикатор, меняющий свой цвет при изменении рН в результате расщепления ферментами углеводов питательных сред.

Питательные среды, применяемые для выращивания микроорганизмов, должны быть стерильными, содержать все необходимые для роста микроорганизмов компоненты, иметь оптимальные значения рН, окислительно-восстановительного потенциала, осмотического давления и т. д.

На селективной питательной среде определенные микроорганизмы удается изолировать от многих сопутствующих. Получаемая *селективная (накопительная) культура микроорганизмов* состоит преимущественно из клеток одного вида или из клеток близких физиологических групп микроорганизмов.

Пересев микроорганизмов на стерильные питательные среды в лабораторной практике осуществляют для получения чистых культур, при длительном хранении микроорганизмов, изучении их физиологии и т. д.

Чистой культурой считается выращенная масса клеток, состоящая из микроорганизмов, которые принадлежат одному виду и получены как потомство одной клетки. Микроорганизмы чистых культур широко используются в технологии производства многих пищевых продуктов (кисломолочные сыры, хлеб, вино, пиво и т. д.).

При длительном хранении культур в лабораторных условиях могут измениться отдельные физиолого-ботанические или морфологические особенности микроорганизмов. Поэтому применяют традиционный метод

хранения – пассирование, или субкультивирование – пересев на свежие среды с временными интервалами в зависимости от вида микроорганизма, среды и условий хранения.

Посев микроорганизмов на питательные среды может осуществляться следующими способами: в жидкую питательную среду; на плотную питательную среду (в пробирки со скошенным агаром или в чашки Петри); уколом в столбик питательной среды.

При посеве необходимо соблюдать обычные правила предосторожности против заражения среды посторонними микроорганизмами.

Тема 3. Морфология и структурно-функциональная организация прокариот

- Формы бактерий. Поверхностные структуры бактериальной клетки
- Цитоплазма бактериальной клетки
- Функциональные особенности прокариот
- Фенотипическая и генотипическая изменчивость прокариот
- Тестовые задания по теме «Морфология и структурно-функциональная организация прокариот»

Формы бактерий. Поверхностные структуры бактериальной клетки

В среднем линейные размеры бактериальных клеток находятся в пределах 0,5–3 мкм, но есть среди бактерий и свои «гиганты» и «карлики». В частности, клетки нитчатой серобактерии *Beggiatoa alba* имеют диаметр до 500 мкм; бактерии *Achromatium oxaliferum* имеют в длину 15–100 мкм при поперечнике примерно 5–33 мкм, а длина клеток спиросхет может быть до 250 мкм. Самые мелкие из известных бактерий – **микоплазмы**, имеющие диаметр клеток 0,1–0,15 мкм.

Для бактерий характерны три основные формы клеток: кокковидная, палочковидная и извитая (рисунков 6).

Кокковидные бактерии обычно имеют форму правильного шара диаметром 1,0–2,0 мкм, но могут быть овальными, эллипсоидными, бобовидными. Кокковидные бактерии способны делиться в нескольких плоскостях, при этом после деления клетки могут не расходиться и формировать различного вида скопления. Если деление кокков происходит в одной плоскости, то могут образовываться пары клеток – диплококки и цепочки клеток разной длины – *стрептококки*. Кокки, делящиеся в двух взаимно перпендикулярных плоскостях и не расходящиеся после этого, образуют тетрады кокков – *тетракокки*. Когда деление клеток происходит в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, образуются пакеты из восьми кокков в виде тюков кубической формы – *сарцины*. У некоторых видов бактерий при делении кокков в нескольких плоскостях могут образовываться неправильные по форме скопления, напоминающие гроздь винограда – стафилококки.

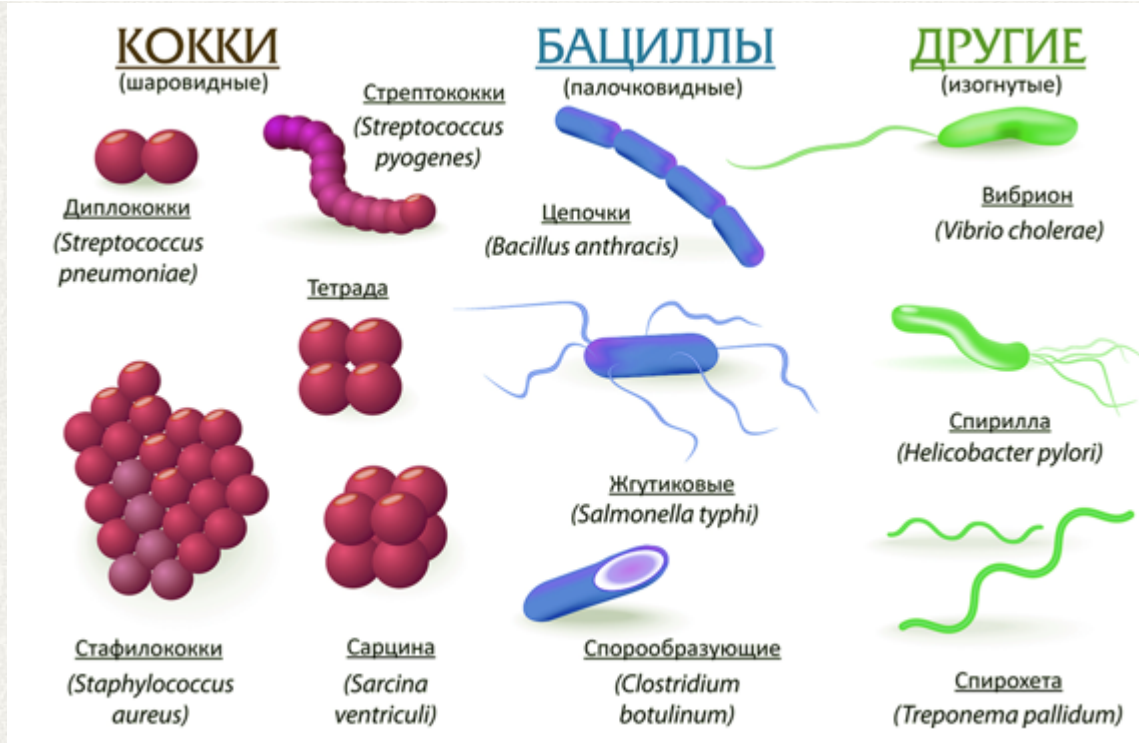


Рисунок 6 – Основные формы бактерий

Палочковидные клетки сильно различаются по величине отношения длины клетки к ее поперечнику. Делясь только в одной плоскости, клетки могут располагаться поодиночке – *монобациллы*, образовывать пары – *диплобациллы* или цепочки – *стрептобациллы*.

Извитые клетки различаются количеством образуемых витков. В зависимости от формы и количества витков различают: *вибрионы*, изогнутые клетки наподобие запятой; *спириллы*, имеющие 3–5 крупных витков; *спирохеты* – клетки с большим количеством мелких витков.

Известны и клетки иных типов: клетки с выростами; булавовидной формы; веретенообразные; ланцетовидные; разветвленные и неразветвленные нитчатые формы; имеющие вид замкнутого или незамкнутого кольца; ветвящиеся. Среди археобактерий встречаются необычные плоские клетки, имеющие вид пластинок и коробочек разнообразной геометрической формы, сходные с кусочками битого стекла.

Для микоплазм и некоторых других бактерий при прохождении цикла развития наблюдается изменение формы клетки (в виде палочек, кокков или обнаруживают слабое ветвление), т. е. *плеоморфизм* (морфологическая изменчивость).

подавляющее большинство прокариот являются одноклеточными организмами, только среди цианобактерий встречаются как одноклеточные (*Chroococcus*, *Microcystis*, *Gloeocapsa*), так и многоклеточные формы (*Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Anabaena*, *Nostoc*). У многоклеточных форм клетки соединены при помощи плазмодесм и особью является не клетка, а отдельный трихом (нить). Нити *Anabaena* и *Nostoc* среди ряда основных овальных или округлых клеток имеются более крупные и бесцветные – *гетероцисты*.

Цитоплазма вместе с цитоплазматической мембраной составляют протопласт клетки, снаружи от него расположены поверхностные структуры. К их числу относятся клеточная стенка, капсулы, чехлы, слизистые слои, жгутики, ворсинки.

Клеточная стенка является обязательным структурным элементом бактериальной клетки. Основным компонентом клеточной стенки большинства бактерий является муреин.

Муреин – гетерополимер класса пептидогликанов, построенный из цепочек, в которых чередуются остатки N-ацетил-глюкозамина и

N-ацетилмурамовой кислоты, соединенные между собой гликозидными связями (рисунок 7).

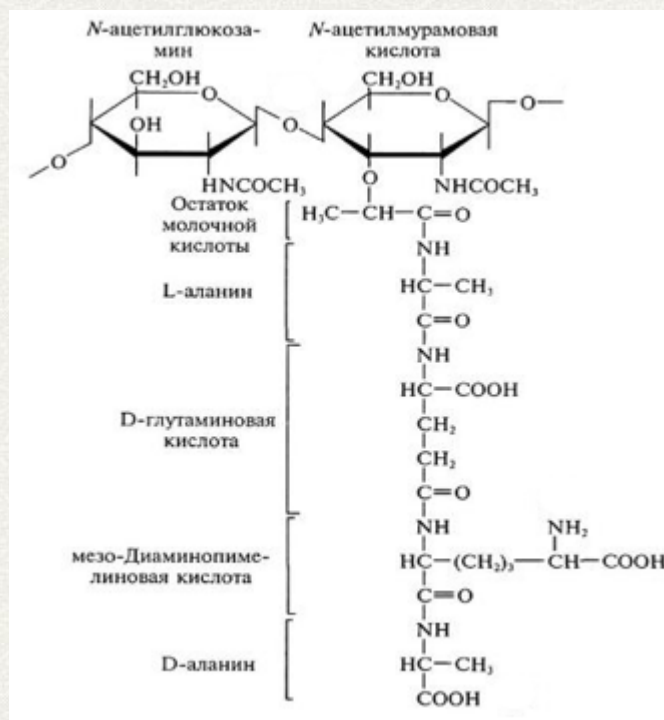


Рисунок 7 – Молекула пептидогликана

Остатки N-ацетилмурамовой кислоты соединены с тетрапептидом, в составе которого обнаруживаются аминокислоты: L-аланин, D-глутаминовая кислота, мезо-диаминопимелиновая кислота и D-аланин. Гетерополимерные цепи связаны между собой и образуют мешкообразную гигантскую молекулу – муреиновый мешок, который выполняет функцию опорного каркаса клеточной стенки.

В 1884 г. датский ученый Х. Грам предложил способ окраски, который является важным диагностическим методом в микробиологической практике. Метод основан на способности некоторых видов бактерий образовывать в клетке прочные соединения основного красителя генцианового фиолетового с йодом. Эти виды бактерий при дальнейшей обработке их 96 %-м этанолом или ацетоном сохраняют фиолетовую окраску и носят название *грамположительных*. В отличие от них другие виды бактерий не образуют столь прочного соединения краски с йодом, легко обесцвечиваются под действием спирта, имеют цвет дополнительного красителя и называются *грамотрицательными*.

Клеточная стенка грамположительных и грамотрицательных бактерий различается по химическому составу и ультраструктуре (рисунок 8).



Рисунок 8 – Схематическое строение клеточной стенки

Клеточная стенка грамположительных бактерий плотно прилегает к цитоплазматической мембране и представляет собой гомогенный плотный слой толщиной варьирует от 20 до 80 нм в зависимости от вида. Муреин в клеточной стенке грамположительных бактерий составляет от 50 до 90 % ее сухой массы. С муреином связаны тейхоевые кислоты – полимеры, образованные остатками спирта рибита или глицерина, связанными фосфодиэфирными мостиками. В составе клеточной стенки грамположительных бактерий в небольшом количестве также обнаружены полисахариды, белки и липиды. К грамположительным бактериям относятся: *Bacillus subtilis*, *Sarcina ventriculi*, *Streptococcus lactis*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium pasterianum* и др.

Клеточная стенка грамотрицательных бактерий многослойна, толщина ее составляет от 14 до 17 нм. Внутренний слой клеточной стенки представлен муреином, на долю которого приходится от 1 до 10 % сухой массы клеточной стенки. Внешний слой клеточной стенки (наружная мембрана) образован фосфолипидами, липопротеинами и белками. Содержание липидов в наружной мембране составляет в среднем 22 % сухой массы клеточной стенки. В наружной мембране находятся трансмембранные белки (порины), которые насквозь пронизывают мембрану. Порины осуществляют транспорт через мембрану гидрофильных низкомолекулярных веществ. В клеточной стенке грамотрицательных бактерий отсутствуют тейхоевые кислоты. Электронно-прозрачный слой, или *периплазматическое пространство*, разделяет компоненты клеточной стенки у грамотрицательных бактерий, а также отделяет клеточную стенку от цитоплазматической мембраны. К грамотрицательным бактериям относятся: *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pestis*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.

Основными функциями клеточной стенки являются: формообразующая, защитная, обеспечение связи с окружающей средой, проведение веществ в цитоплазму и выделение метобалитов в окружающую среду.

В некоторых случаях бактериальные клетки могут терять клеточные стенки. Такие клетки называют протопласты, сферопласты, L-формы (рисунок 9).

Протопласты (у грамположительных бактерий) – формы, имеющие размеры, превышающие исходные клетки в несколько раз, и, полностью лишённые клеточной стенки. Для их поддержания требуется изотоническая среда. Они устойчивы к антибиотикам и бактериофагам.

Сферопласты (у грамотрицательных бактерий) – формы, утратившие внешнюю мембрану клеточной стенки, т.е. покрыты цитоплазматической мембраной и тонким слоем пептидогликана.

Для поддержания сферопластов требуется среда с повышенным осмотическим давлением. Сферопласты способны взаимодействовать с бактериофагами, так как содержат остатки пептидогликанового слоя. После удаления ингибиторов, вызвавших нарушение синтеза клеточной стенки, измененные бактерии реверсируют в исходное состояние, то есть восстанавливают полноценную клеточную стенку и первоначальную форму клеток.

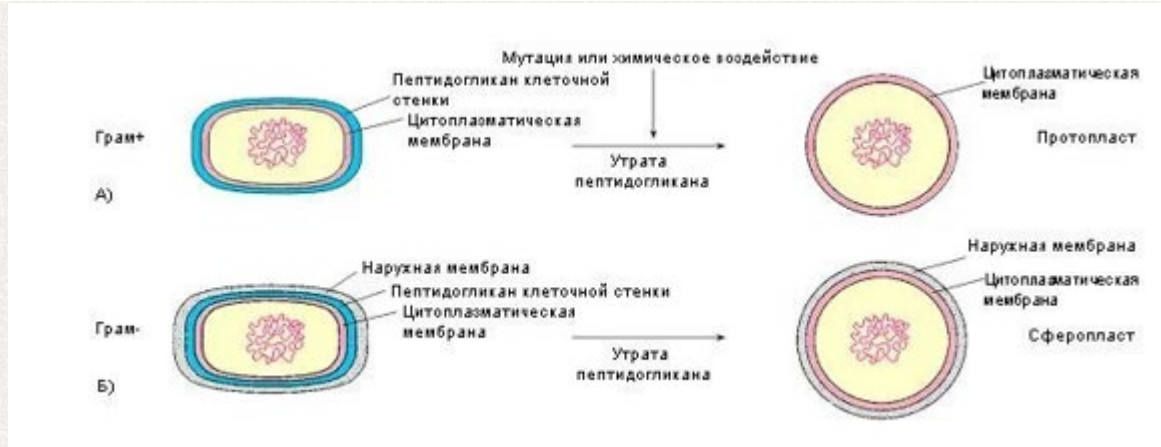


Рисунок 9 – Схема образования дефектных форм бактерий

L-трансформация индуцируется антибиотиками, ферментами. *L-формы клеток* представляют бактерии, которые частично или полностью лишены клеточной стенки, но сохранившие способность к ее развитию в естественной среде. Позже были описаны L-формы у самых разных видов бактерий (*Bacillus anthracis*, *Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori*, *Rickettsia prowazekii*, *Borrelia burgdorferi* и др.).

L-формы плеоморфны. В отличие от протопластов и сферопластов, клетки L-форм имеют мезосомы, а в отличие от нормальных клеток L-формы часто содержат крупные вакуоли. Обладают пониженным уровнем метаболической активности по сравнению с исходными бактериями. Способны к размножению, легко разрушаются при механических воздействиях. У патогенных микроорганизмов переход в L-форму можно рассматривать как способ переживания бактериями неблагоприятных условий.

Существует мнение, что устойчивая потеря клеточной стенки в процессе эволюции привела к образованию особой группы бактерий – микоплазмы.

Поверхностные структуры бактериальной клетки. Капсула, слизистые чехлы, ворсинки.

Многие микроорганизмы продуцируют на поверхности *слизистое вещество*. Слизистые вещества по химической природе являются полисахаридами. Особенно обильное их образование наблюдается у многих микроорганизмов при выращивании на среде с сахарозой. Различают слизи, капсулы, слизистые чехлы, между которыми у прокариот обнаружено много переходных форм.

Слизистое вещество следует рассматривать как продукт жизнедеятельности, поверхностных слоев цитоплазмы, выделяемый клеточной оболочкой наружу. В слизистом веществе капсул обнаружены полисахариды: декстраны, галактаны, целлюлозы. Кроме полисахаридов в состав капсул входят полипептиды, состоящие главным образом из цепочек молекул глютаминовой кислоты. Химический состав капсул различных бактерий характеризуется строгой специфичностью.

В зависимости от толщины слизистого слоя принято различать *микрокапсулу* толщиной до 0,2 мкм (она видима лишь в электронном микроскопе). Связь микрокапсулы с клеточной стенкой настолько прочна, что ее иногда предлагают рассматривать как элемент клеточной стенки. Макрокапсула представлена слоем слизи толщиной более 0,2 мкм.

Слизью называют вещество, окружающее клетку, имеющее аморфный, бесструктурный вид и легко отделяющееся от поверхности бактериальной клетки, а по толщине часто превосходящее.

В отличие от капсул и слизистых слоев, *слизистые чехлы* имеют сложную тонкую структуру; в их составе выявляют несколько слоев разного строения и сложного химического состава. Чехлы ряда бактерий, метаболизм которых связан с окислением восстановленных соединений металлов, часто

инкрустированы их окислами.

Слизистые образования не являются обязательными структурами бактериальной клетки. Их появление или разрушение не приводят к какому-либо нарушению клеточной активности. Слизистые образования выполняют ряд функций в клетке: защищают клетку от неблагоприятных факторов внешней среды, механических повреждений, высыхания; создают дополнительный осмотический барьер; повышают вирулентность у некоторых бактерий, препятствуя адсорбции бактериофагов на клетках бактерий; являются источником запасных питательных веществ; объединяют клетки в цепочки, колонии; обеспечивают прикрепление клеток к поверхности субстрата.

Жгутики представляют собой спирально закрученные нити, состоящие из субъединиц белка *флагеллина*. Жгутик состоит из нити (филамент), крюка и базального тельца (рисунок 10).

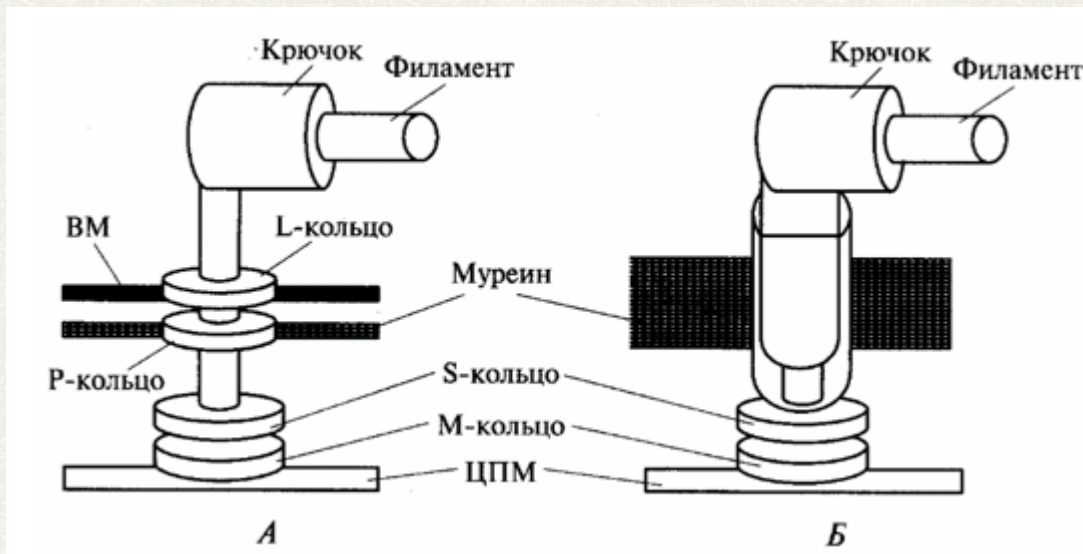


Рисунок 10 – Схема строения жгутика:

А – жгутик грамотрицательных бактерий; Б – жгутик грамположительных бактерий;
ЦПМ – цитоплазматическая мембрана; ВМ – наружная мембрана клеточной стенки

С помощью базального тельца, в которое входит центральный стержень и кольца, жгутик закреплен в цитоплазматической мембране и клеточной стенке. Количество колец зависит от строения клеточной стенки: у грамположительных бактерий два кольца – S, М (S-кольцо располагается в пептидогликановом слое клеточной стенки, М-кольцо – в цитоплазматической мембране); у грамотрицательных бактерий имеются четыре кольца – L, Р, S, М (L-кольцо закреплено в наружной мембране, Р-кольцо – в муреиновом слое клеточной стенки, S-кольцо – в периплазматическом пространстве, М-кольцо – в цитоплазматической мембране клетки).

По расположению и числу жгутиков на поверхности клетки бактерии подразделяют на: *монотрихи* – имеют один жгутик (род *Vibrio*); *лофотрихи* – несут на одном или на обоих полюсах клетки пучок жгутиков (род *Pseudomonas*); *амфитрихи* – имеют по жгутику на обоих полюсах клетки (род *Spirillum*); *перитрихи* – большое количество жгутиков, располагающихся по всей поверхности клетки (род *Bacillus*, род *Clostridium*) (рисунок 11).



Рисунок 11 – Типы жгутикования бактерий

Типы движения бактерий. Большинство бактерий передвигаются при помощи жгутиков. Если клетка имеет много жгутиков, они при движении собираются в пучок, который образует своеобразный пропеллер. Пучок жгутиков, быстро вращаясь против часовой стрелки, создает силу, заставляющую бактерию двигаться почти по прямой линии. Так как у грамположительных бактерий наружная пара колец отсутствует, то считают, что для вращения жгутиков необходимо наличие только внутренней пары (кольца S и M) путем их вращения относительно друг друга. Это вращение передается крючку и далее основной нити жгутика. Движение жгутика происходит за счет энергии трансмембранного электрохимического потенциала, которая преобразуется в механическую энергию.

Своеобразный тип движения характерен для спирохет. В периплазматическом пространстве этих грамотрицательных бактерий находятся пучки нитчатых структур – *аксиальные фибриллы*, которые, как и жгутики, состоят из белка флагеллина. Эти структуры обеспечивают движение спирохет как в жидкой среде, так и на разделе фаз жидкой и плотной сред.

Клетка содержит по два набора фибрилл, прикрепленных субполярно у каждого полюса клетки. Каждая аксиальная фибрилла тянется практически вдоль всей длины клетки, а в центральной части клетки аксиальные фибриллы перекрываются. Фибриллы, вращаясь или сокращаясь, обуславливают характерное для спирохет движение: путем изгибания, вращения вокруг оси, волнообразно, винтообразно.

У некоторых прокариот установлен *скользящий тип передвижения*. Способность к скольжению выявлена у некоторых микоплазм, миксобактерий, цианобактерий, нитчатых серобактерий и др. Общим для всех микроорганизмов, способных к скольжению, является выделение слизи. Согласно гипотезе реактивного движения, скользящее передвижение обусловлено выделением слизи через многочисленные слизевые поры в клеточной стенке. Кроме того, у ряда таких прокариот в составе клеточной стенки между пептидогликановым слоем и наружной мембраной выявлен тонкий слой белковых молекул. Скольжение нитчатых форм сопровождается одновременным их вращением, поэтому каждая точка на поверхности трихома описывает при движении спираль.

Для подвижных бактерий характерны *таксисы*, т. е. направленная двигательная реакция в ответ на определенный фактор. В зависимости от природы фактора различают хемотаксис (движение относительно источника химического вещества), фототаксис (движение относительно источника света), магнитотаксис (способность передвигаться по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита) и вискозитаксис (способность передвигаться в направлении изменения вязкости раствора) и т. д.

Ворсинки, или **фимбрии** – поверхностные структуры, состоящие из белка

пилина и не выполняющие функцию движения. По размерам они короче и тоньше жгутиков. Число фимбрий на поверхности клетки колеблется от 1–2 до нескольких тысяч, их имеют как кокковидные, так и палочковидные бактерии. Они имеют вид полых белковых трубочек длиной от 0,5 до 10 мкм. Различают два типа ворсинок.

Фимбрии общего типа обеспечивают прикрепление клетки к поверхности субстрата, участвуют в поступлении крупномолекулярных соединений в цитоплазму клетки. *Специфические ворсинки (половые пили, F-пили)* обнаружены у клеток-доноров, содержащих половой фактор (F-плазмиду) или другие донорспецифические плазмиды. Такие клетки способны синтезировать одну-две F-пили на клетку для образования конъюгационных пар при переносе генетического материала от клетки донора в клетку реципиента.

Цитоплазматическая мембрана составляет в зависимости от вида бактерий 8–15 % сухой массы клетки. Химический состав ее представлен белково-липидным комплексом, в котором на долю белков приходится 50–75 %, на долю липидов – 15–50 %. Главным липидным компонентом мембраны являются фосфолипиды. Белковая фракция цитоплазматической мембраны представлена структурными белками, обладающими ферментативной активностью. Белковый состав цитоплазматической мембраны разнообразен. Так, в цитоплазматической мембране бактерий *Escherichia coli* содержится около 120 различных белков. Кроме того, в составе мембран обнаружено небольшое количество углеводов.

Цитоплазматическая мембрана бактерий по химическому составу в целом сходна с мембранами эукариотических клеток, но мембраны бактерий богаче белками, содержат необычные жирные кислоты и в основном не имеют стеролов.

К строению цитоплазматической мембраны бактерий приложима жидкостно-мозаичная модель, разработанная для мембран эукариот. Согласно этой модели, мембрана состоит из бислоя липидов. Гидрофобные «концы» молекул фосфолипидов и триглицеридов направлены внутрь, а гидрофильные «головки» – наружу. В двойной слой липидов встроены белковые молекулы. По расположению и характеру взаимодействия с липидным бислоем белки цитоплазматической мембраны подразделяются на интегральные, периферические и поверхностные (рисунок 12).

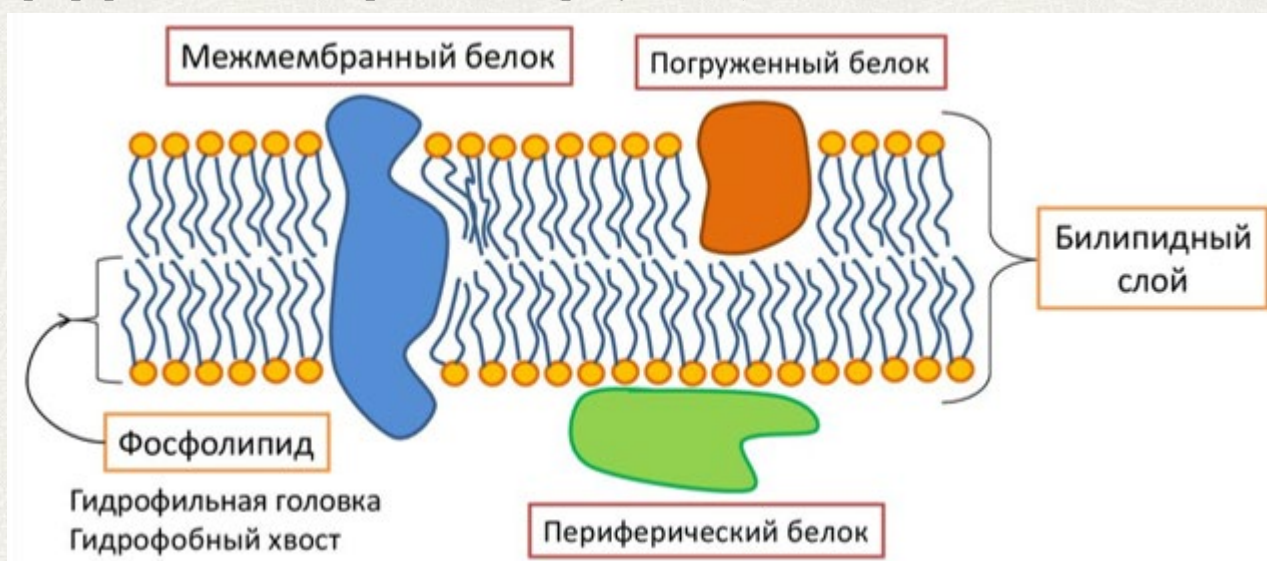


Рисунок 12 – Модель строения цитоплазматической мембраны

Функции цитоплазматической мембраны следующие:

– поддержание внутреннего постоянства цитоплазмы клетки, что достигается за счет уникального свойства – полупроницаемости цитоплазматической мембраны (проницаема для воды и низкомолекулярных веществ, но не проницаема для ионизированных соединений);

- обеспечивает транспорт веществ в клетку и вывод их наружу;
- несет электронтранспортную цепь и ферменты окислительного фосфорилирования;
- участвует в синтезе клеточной стенки и капсулы;
- является местом закрепления жгутиков и обеспечивает энергию для их работы.

У прокариот разных таксономических групп обнаружены *мезосомы*, которые образуются при впячивании (инвагинации) цитоплазматической мембраны в цитоплазму. По форме различают *ламеллярные* (пластинчатые), *везикулярные* (в виде пузырьков), *тубулярные* (трубчатые) мезосомы и мезосомы смешанного типа.

К функциям мезосом относятся:

- усиление мембранозависимых функций клетки. В мембранах мезосом находятся ферменты, участвующие в энергетическом метаболизме бактерий, и фотосинтетические пигменты, обеспечивающие фотосинтез у прокариот;
- участие в репликации ДНК и обеспечение расхождения ее копий по дочерним клеткам;
- участие в процессе инвагинации и формирования поперечной перегородки при клеточном делении.

Цитоплазма бактериальной клетки

Цитоплазма – это содержимое клетки, окруженное цитоплазматической мембраной, представленной двумя фракциями. *Гомогенная фракция (цитозоль)*, содержит набор растворимых РНК, ферментных белков, продуктов и субстратов метаболических реакций. *Гетерогенная фракция* цитоплазмы представлена структурными элементами: рибосомами, внутрицитоплазматическими включениями, запасными веществами, нуклеоидом.

Ядерный аппарат прокариот представлен молекулой (молекулами) ДНК, уложенной в компактную структуру и локализованной в ограниченных участках цитоплазмы, не имеющей, в отличие от эукариот, собственной ядерной мембраны. Учитывая эти особенности, генетический аппарат прокариот принято называть *нуклеоидом*. При применении световой микроскопии нуклеоид выглядит как бобовидное тело с хорошо очерченными контурами, занимающее центральную часть бактериальной клетки, длиной около 1 мкм. Полностью «уложенный» нуклеоид представляет собой достаточно компактное образование. Стабилизирующую роль в такой организации играют специфические основные белки, сходные по аминокислотному составу и другим свойствам с гистонами эукариот.

Замкнутая в кольцо молекула ДНК нуклеоида (исключение: виды актиномицетов и некоторые другие имеют линейную ДНК) включает несколько тысяч генов, расположенных линейно, и приравнивается к *бактериальной хромосоме*. У большинства видов бактерий клетка содержит одну хромосому, поэтому большинство бактерий – гаплоидные организмы. Однако клетки бруцелл, *Rhodobacter sphaeroides*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Leptospira interrogans* имеют по две неодинаковые хромосомы, клетки *Burkholderia cepacia* – три разные хромосомы. Поэтому термины «нуклеоид» и «хромосома» не всегда совпадают. В зависимости от условий нуклеоид бактериальной клетки может состоять из одной или нескольких копий одной и той же хромосомы. Например, у *Azotobacter chroococcum* в экспоненциальной фазе роста на одну клетку приходится 20–25 копий хромосомы.

Обычно деление бактериальной клетки по времени осуществляется после завершения цикла репликации молекулы ДНК. Однако в интенсивно растущих

культурах репликация ДНК может опережать деление клетки и нередко в ней содержится ДНК в 4–8 раз больше, чем масса одной хромосомы.

Плазмиды – внехромосомные молекулы ДНК, наделяющие бактерии дополнительными полезными свойствами. Плазмиды способны к автономной репликации. Представлены кольцевой двухцепочечной молекулой ДНК, которая по молекулярной массе значительно меньше хромосомной ДНК (плазмиды содержат от 40 до 50 генов). Плазмиды придают бактерии различные способности (продуцировать экзотоксины и ферменты, устойчивость к лекарственным препаратам, синтез **бактериоцинов** и т.д.).

Основные типы плазмид:

- F-плазмиды – донорские функции, индуцируют деление;
- R- плазмиды – контролируют устойчивость к лекарственным препаратам;
- Col-плазмиды – отвечают за синтез колицинов (бактериоцинов), т.е. факторов конкуренции близкородственных бактерий (антогонизм);
- Hly-плазмиды – отвечают за синтез гемолизинов;
- Ent- плазмиды – отвечают за синтез энтеротоксинов;
- Tox-плазмиды – отвечают за токсинообразование.

Рибосомы прокариот имеют константу седиментации 70 S. Они образованы двумя субъединицами – 30 S и 50 S. По величине и некоторым другим особенностям рибосомы бактерий сходны с рибосомами митохондрий и хлоропластов. Меньшая субъединица 30 S содержит молекулу 16 S рРНК и обычно 21 молекулу различных белков. Субъединица 50 S состоит из двух типов молекул рРНК (23 S и 5 S) и около 35 молекул различных белков.

Бактериальная клетка содержит от 5 до 50 тыс. рибосом, число их тем больше, чем больше скорость роста клетки. Рибосомы служат местом синтеза белка. Синтез белка осуществляется *полирибосомами* (*полисомами*), состоящими из рибосом, информационной (иРНК) и транспортных (тРНК). Полирибосомы могут быть связаны с мембранными структурами или же находиться свободно в цитоплазме.

Внутрицитоплазматические включения – активно функционирующие структуры, к которым относятся хлоросомы, фикобилисомы, аэросомы, карбоксисомы, магнитосомы.

Хлоросомы зеленых бактерий и *фикобилисомы* цианобактерий принимают непосредственное участие в фотосинтезе и содержат пигменты, поглощающие кванты света и передающие энергию возбуждения на фотореакционные центры. Это эллипсоидные образования, окруженные однослойной белковой мембраной.

Аэросомы, или *газовые вакуоли*, обнаружены у бактерий, обитающих в воде. Аэросомы снижают удельную массу бактериальной клетки и благодаря этому поддерживают ее во взвешенном состоянии в водоеме. Аэросома представляет собой скопление газовых пузырьков веретенообразной формы. Их оболочка состоит только из белка, т. е. устроена не так, как обычная мембрана. Белковые молекулы ориентированы таким образом, что внутренняя сторона оказывается гидрофобной, а наружная – гидрофильной.

Карбоксисомы, или *полиэдрические тела*, содержатся в клетках некоторых автотрофных бактерий. Они имеют форму многогранника диаметром 90–100 нм, окруженного однослойной белковой оболочкой. В карбоксисомах содержится рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза – фермент, катализирующий фиксацию CO₂ в цикле Кальвина в процессе фото- и хемосинтеза.

Магнитосомы содержатся в клетках водных бактерий, способных ориентироваться в магнитном поле и перемещаться в направлении линий магнитного поля. В их состав входит 0,4 % железа (по сухому веществу). Магнитосомы располагаются в клетках вблизи мест прикрепления жгутиков.

Запасные вещества – это продукты клеточного метаболизма, не выделяющиеся наружу, а откладывающиеся внутри клетки, содержатся в клетках в осмотически инертной форме, т. е. не растворимы в воде. В условиях благоприятных для роста, когда в этих веществах возникает потребность, они снова включаются в метаболизм.

К запасным веществам относятся полифосфаты, полисахариды, жиры, сера. Эти вещества накапливаются, если в питательной среде находятся соответствующие исходные соединения.

Из *полисахаридов* в клетках микроорганизмов откладываются гликоген, крахмал и крахмалоподобное вещество – гранулоза. Запасные вещества полисахариды образуются из молекул D-глюкозы, которые связаны гликозидными связями. Много крахмала имеют клетки бактерий вида *Acetobacter pasteurianus*. Гранулоза содержится в большом количестве в клетках бактерий рода *Clostridium*. Гликоген, или «животный крахмал», синтезируется у бактерий *Escherichia coli*, у бактерий рода *Salmonella*, у бацилл, дрожжей и других микроорганизмов. Запасные полисахариды используются микроорганизмами в качестве источников углерода и энергии.

Жиры накапливаются в виде гранул или капелек, преломляющих свет по-иному, чем содержимое цитоплазмы, и поэтому хорошо различимы в световом микроскопе. Запасное жироподобное вещество многих бактерий – поли-β-гидроксимасляная кислота, которая является хорошим источником углерода и энергии. Микроорганизмы могут накапливать также триглицериды (нейтральные жиры). Особенно много их запасается в клетках дрожжей и других грибов. Кроме того, микобактерии могут содержать до 40 % восков.

Полифосфаты откладываются в гранулах, называемых *волютиновыми зернами*. Полифосфаты играют роль фосфатных депо и источников энергии.

У многих пурпурных и бесцветных серобактерий, зеленых серных бактерий и других, окисляющих сульфид до сульфата, в процессе метаболизма в клетке откладывается *молекулярная сера* в виде шариков, сильно преломляющих свет. Количество накапливаемой серы зависит от содержания H_2S в окружающей среде. В условиях отсутствия H_2S сера, находящаяся в клетке, окисляется до SO_2 . Сера служит источником энергии и донором электронов.

Специфическими запасными веществами цианобактерий являются *цианофитиновые гранулы*, состоящие из полипептида, в который входят аргинин и аспарагиновая кислота в эквимолярных количествах. Цианофитиновые гранулы служат резервом азота, который используется цианобактериями при его недостатке в среде.

Функциональные особенности прокариот

Деление бактериальной клетки. Рост прокариотической клетки представляет собой согласованное увеличение количества всех химических компонентов, из которых она построена. Рост является результатом множества скоординированных биосинтетических процессов, находящихся под строгим регуляторным контролем, и приводит к увеличению массы и размеров клетки. Но рост клетки не беспределен. После достижения критических размеров клетка подвергается делению. Для прокариот характерно *прямое бинарное деление* клетки.

В норме делению клетки всегда предшествует репликация молекулы ДНК, происходящая по полуконсервативному механизму.

Полуконсервативный механизм предполагает, что родительская двойная спираль раскручивается и каждая полинуклеотидная цепь служит матрицей для синтеза новой комплементарной цепи. Таким образом, новая двойная молекула

оказывается «гибридом» старой и вновь синтезированной цепи.

Процесс репликации начинается с присоединения к специфическим точкам на мембране участков ДНК, определяющих начало и конец ее репликации. В местах, где происходит присоединение хромосомы к мембране, локализованы ферменты, обеспечивающие репликацию ДНК. Контакт ДНК с ЦПМ осуществляется посредством мезосом. Репликация, начавшаяся в точке прикрепления, идет затем в двух противоположных направлениях, образуя характерную для кольцевой хромосомы промежуточную структуру.

В зоне репликации (репликативной вилке) на небольшом участке происходит разрыв водородных связей, обеспечивающих поддержание двунитевой структуры ДНК. На подготовленных таким путем однонитевых участках, служащих матрицами, начинается синтез комплементарных нитей. Время удвоения хромосомы *Escherichia coli* занимает приблизительно 40 мин.

Возникающие дочерние хромосомы остаются прикрепленными к мембране. Репликация молекулы ДНК происходит параллельно с синтезом ЦПМ на этом участке, в результате чего происходит сегрегация (разделение) дочерних хромосом в пространстве и расхождение к полюсам материнской клетки (рисунок 13).

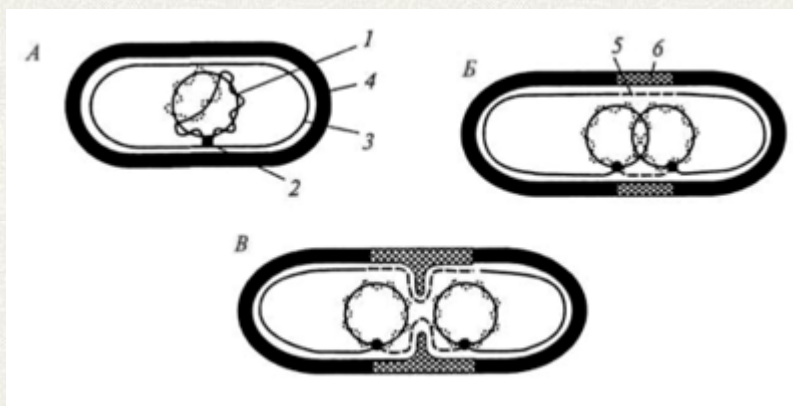


Рисунок 13 – Деление бактериальной клетки

А – репликация ДНК; Б – сегрегация дочерних хромосом;

В – деление протопласта при помощи перегородки; 1 – ДНК;

2 – белковая субъединица; 3 – цитоплазматическая мембрана;

4 – клеточная стенка; 5 – досинтез цитоплазматической мембраны в районе мезосомы; 6

– досинтез клеточной стенки

У большинства грамположительных бактерий и нитчатых цианобактерий деление протопласта происходит путем синтеза *поперечной перегородки*, приводящее чаще к образованию двух одинаковых дочерних клеток (равновеликое бинарное поперечное деление). При таком способе в середине клетки сначала имеет место кольцевое впячивание ЦПМ, сопровождающееся формированием мезосом разного внешнего вида. Они образуются в месте закладки поперечной перегородки и активно участвуют в процессах синтеза пептидогликана и других компонентов клеточной стенки. Поперечная перегородка формируется из ЦПМ и пептидогликанового слоя, ее наружные слои синтезируются позднее.

Клетки большинства грамотрицательных бактерий делятся путем *перетяжки* (неравновеликое бинарное поперечное деление). У *Escherichia coli* на месте деления обнаруживается постепенно увеличивающееся и направленное внутрь искривление ЦПМ и клеточной стенки.

Эндоспоры образуют грамположительные бактерии, формируются эндогенно, т. е. внутри материнской клетки, которая называется спорангием. Бактериальная эндоспора отличается от вегетативной клетки тем, что она характеризуется повышенной резистентностью к нагреванию, действию ультрафиолетовых лучей, антибиотиков и других факторов. Поскольку одна клетка образует одну эндоспору, увеличения числа бактерий при ее

прорастании не происходит. Эндоспоры представляют собой стадию покоя и приспособлены к перенесению неблагоприятных условий.

Процесс *образования эндоспор* включает следующие этапы (рисунок 14):

1. *Подготовительный этап* – в вегетативной клетке бактерий, переходящей к спорообразованию, прекращаются ростовые процессы, завершается репликация ДНК и изменяется метаболизм, в клетке накапливается дипиколиновая кислота.

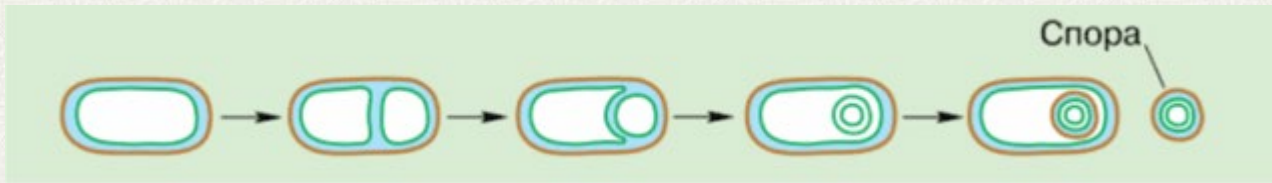


Рисунок 14 – Общая схема образования эндоспоры

2. *Этап формирования споры* начинается с особого неравного деления клетки. Цитоплазматическая мембрана вегетативной клетки образует инвагинацию и отделяет часть протопласта материнской клетки, в результате чего этот протопласт содержит один нуклеоид с участком уплотненной цитоплазмы. Протопласт будущей споры обрастает цитоплазматической мембраной материнской клетки, а образующаяся структура носит название *проспора*.

Проспора расположена внутри материнской клетки и ограничена от нее двумя мембранами. Каждая из этих мембран участвует в синтезе стенки споры: мембрана протопласта споры синтезирует снаружи от себя стенку зародышевой клетки; мембрана, происходящая от материнской цитоплазматической мембраны, синтезирует вовнутрь *кортекс*. Кортекс состоит из многослойного муреина, но более кислого, чем муреин клеточной стенки материнской клетки. Также материнской клеткой синтезируется дополнительная наружная оболочка споры, которая в значительной степени представлена полипептидами. У большинства видов спорообразующих бактерий эндоспора заключена еще в один дополнительный наружный слой – *экзоспориум*, в состав которого входят белки, липиды, углеводы. По мере формирования многослойных покровов проспора превращается в эндоспору, которая состоит из нуклеоида, уплотненной цитоплазмы и покровов.

3. *Этап созревания споры*. Спора приобретает характерную форму и занимает определенное положение в клетке, в результате чего бактериальная клетка принимает иную форму. Различают три типа спорангиев: *бацилярный* – споры в клетке располагаются центрально (род *Bacillus*), *кlostридиальный* – споры в клетке располагаются субтерминально (вид *Clostridium botulinum*), *плектридиальный* – споры в клетке располагаются терминально и со спорой могут принимать форму веретена или теннисной ракетки (вид *Clostridium tetani*).

Споры освобождаются при лизисе спорангия. Зрелые споры не проявляют метаболической активности. Они чрезвычайно устойчивы к воздействию высокой температуры, разного рода излучений и химических агентов.

При попадании в благоприятные условия споры прорастают в вегетативные клетки. Прорастания спор начинается с поглощения воды и гидратации структур споры, сопровождающихся активацией ферментов и возрастанием дыхания. Литические ферменты разрушают многослойные покровы споры, в среду выделяются дипиколинат кальция, аминокислоты и пептиды. В месте разрыва оболочки споры образуется ростовая трубка новой вегетативной клетки. В формировании клеточной стенки молодой клетки участвует внутренняя мембрана споры и частично кортекс. Прорастание спор длится около 4–5 ч.

Изменчивость микроорганизмов – это способность клеток изменять видовые признаки и свойства. Смена фенотипов может происходить без участия наследственного аппарата (генотипа) или являться следствием его повреждения. Все наблюдаемые изменения можно разделить на две группы:

– **ненаследственная, фенотипическая** или **модификационная изменчивость** – это изменения в **фенотипе**, которые, как правило, проявляются у большинства особей в популяции при изменении внешних условий;

– **наследственная, или генотипическая изменчивость** – это изменения, обусловленные изменениями в **генотипе**.

Модификационная изменчивость рассматривается как ответ на изменение условий окружающей среды и наблюдается до тех пор, пока действует фактор, вызывающий эти изменения. Модификации возникают под воздействием сильных и слабых химических (глицерин, хлорид кальция, железо), физических (температура, влажность, действие ультрафиолетовых лучей), биологических (антитела, антибиотики) факторов.

Модификационная изменчивость проявляется на уровне фенотипа и не затрагивает генотип, наблюдается при смене условий или старении в однородной генетически культуре и происходит у подавляющего большинства особей в популяции, в то время как при мутационной изменчивости изменение генотипа происходит только у единичных клеток. Эта форма изменчивости рано или поздно утрачивается, и бактерия вновь приобретает фенотип исходной культуры, поэтому считают, что модификационная изменчивость не играет существенной роли в эволюции микро-организмов.

Изменчивость биологических свойств, возникающая при модификации, возникает в рамках имеющегося генотипа вида, поэтому спектр, выраженность, длительность фенотипических проявлений у разных видов неодинаковы. Модификации бывают **лабильными** (кратковременными) и **стабильными** (длительными).

Адаптивные модификации полезны для организма, способствуют его выживанию. Их примером может служить адаптация клеток бактерий *Escherichia coli* к лактозе как новому субстрату: в этих условиях начинают синтезироваться индуцибельные ферменты, т. е. происходит фенотипическое проявление генов, «молчащих» при отсутствии лактозы в среде.

При стрессовых воздействиях на бактериальную клетку в ней ингибируется синтез обычных белков, но индуцируется синтез небольшой группы белков, функции которых заключаются в противодействии стрессовому воздействию путем защиты важнейших клеточных структур, в первую очередь нуклеоида и мембран. Адаптивные модификации расширяют возможности организма к выживанию и размножению в более широком диапазоне условий внешней среды.

Мутации – изменения, возникающие в генетическом аппарате бактерий и передающиеся по наследству.

В соответствии с характером изменений в первичной структуре ДНК различают точковые и хромосомные мутации.

Точковые мутации затрагивают только одну пару оснований и приводят к замене одной пары оснований на другую. Например, пара А–Т может быть заменена G–C или наоборот. Для точковых мутаций характерна высокая частота реверсии. Мутации такого рода могут протекать в виде **транзиций** и **трансверсий**.

Хромосомные мутации затрагивают множество пар нуклеотидов и делятся на **дупликации, делеции, инверсии, транслокации**.

В зависимости от причины мутации разделяют на спонтанные и

индуцированные. *Спонтанные мутации* возникают в популяции бактерий без целенаправленного вмешательства. Как правило, спонтанные мутации можно объяснить случайными ошибками при репликации ДНК. Например, тимин, который обычно образует пару с аденином, может перейти в енольную форму и образовать водородные связи с гуанином. В результате во вновь синтезированной молекуле ДНК вместо пары Т–А появляется пара G–C. Возникают такие мутации довольно редко. В среднем частота спонтанных мутаций составляет 10^{-4} – 10^{-10} , т. е. измененной оказывается одна клетка на 10^4 – 10^{10} клеток в популяции.

Индукцированные мутации возникают с помощью воздействия тех или иных факторов – мутагенных агентов, которые существенно повышают частоту возникновения мутаций. *Мутагенами* могут быть химические (азотистая кислота, аналоги азотистых оснований, некоторые антибиотики, акридиновые красители, сернистый иприт), физические (УФ-лучи, ионизирующее излучение) и биологические агенты, действующие на генетический аппарат бактерий. Мутагенные агенты характеризуются неспецифичностью действия, т. е., используя какой-то мутаген, нельзя надеяться на выделение клеток с определенным типом или характером мутаций. Мутагены способны только повышать частоту возникновения мутаций.

Как мутагенные факторы биологической природы рассматривают *мигрирующие генетические элементы бактерий* – дискретные сегменты ДНК, способные к самостоятельному перемещению из одного участка в другой в пределах репликона, а также к перемещению из одного репликона (хромосомного, плазмидного или фагового) в другой. К таким элементам относятся простые вставочные последовательности (*IS*-элементы), транспозоны (*Tn*-элементы) и фаги-транспозоны (фаг *Mu*). Интеграция их в репликоны осуществляется независимо от системы общей рекомбинации клеток, которая требует гомологии у рекомбинирующих структур.

IS-элементы представляют собой линейные фрагменты двухцепочечной ДНК длиной от 200 до 20 000 п.н. Они содержат только гены *tnp*, кодирующие синтез фермента транспозазы, необходимого для их перемещения, или транспозиции. *IS*-элементы являются нормальными компонентами бактериальных хромосом и плазмид. *IS*-элементы могут перемещаться из одного участка генома в другой, в частности из бактериальной хромосомы в плазмиду и, наоборот, от плазмиды к плазмиде, включаясь в различные участки генома. При перемещениях они могут встраиваться в пределах одного гена и инактивировать его или изменять его регуляцию.

Транспозоны – сложные перемещающиеся элементы. От *IS*-элементов они отличаются тем, что кроме генов, ответственных за транспозицию, содержат структурные гены, отвечающие за проявление какого-либо фенотипа. Транспозоны могут контролировать резистентность к антибиотикам и ионам тяжелых металлов, способность к катаболизму лактозы, деградации толуола, синтезу энтеротоксинов и т. п., поэтому их легче обнаружить, чем *IS*-элементы. Длина транспозонов свыше 2000 п.н. Как и *IS*-элементы, транспозоны имеют концевые повторы, которыми часто служат *IS*-элементы.

Интеграция транспозонов или *IS*-элементов способна индуцировать образование мутаций. Включаясь в разные участки генома, они могут нарушать нуклеотидную последовательность гена, вызывать делеции, инверсии. В результате может синтезироваться функционально неполноценный белок или же его синтеза не происходит, в результате возникают соответственно делеционные или инверсионные мутанты. Наряду с плазмидами и фагами транспозоны или *IS*-элементы могут обеспечивать перенос генов между различными видами бактерий, иногда весьма отдаленными, и, следовательно, играют важную роль в эволюции микроорганизмов, используются в генетической инженерии.

Плазмиды – стабильно наследуемые внехромосомные генетические элементы, способные к автономной репликации. Молекулярная масса плазмид составляет около 20 % молекулярной массы хромосомы этих бактерий. Плазмиды бактерий представляют собой двухцепочечные суперскрученные ковалентнозамкнутые кольцевые молекулы ДНК. Благодаря такой структуре они не подвергаются действию клеточных нуклеаз. Существуют также линейные плазмиды, на которые нуклеазы не действуют, поскольку их концевые участки защищены специфическими белками.

Плазмиды не являются жизненно важными наследственными структурами бактериальной клетки. При элиминации плазмид с помощью УФ-облучения, митомицина С, акридиновых красителей и других агентов жизнеспособность бактерий сохраняется.

Важнейшим свойством плазмид являются: способность к автономной репликации; трансмиссивность (способность передаваться из клетки в клетку при конъюгации); способность интеграции в бактериальную хромосому осуществляется с помощью IS-элементов и транспозонов, несовместимость (родственные плазмиды не могут существовать в одной клетке); поверхностное исключение (если в клетке уже имеется плазида, контролирующая соответствующий признак, то при конъюгации плазмидная ДНК другой клетки проходит через клеточную стенку с трудом).

Плазмиды придают клеткам различные *фенотипические признаки*: устойчивость к антибиотикам, ионам тяжелых металлов, мутагенам (*R*-плазмиды); способность вызывать биodeградацию камфоры, ксилола, нафталина, салицилата, толуола и других неприродных и природных соединений (ксенобиотиков) (плазмиды биodeградации или *D*-плазмиды); способность синтезировать антибиотики, бактериоцины, пигменты, инсектициды, гемолизины, токсины, фибринолизины, сероводород, поверхностные антигены (*Col*-плазмиды); способность использовать в качестве источника углерода различные углеводы и необычные аминокислоты; способность вызывать образование опухолей у растений (*Ti*-плазмиды); способность конъюгировать с реципиентными штаммами бактерий или донорные свойства; способность конъюгировать с реципиентными штаммами бактерий (*F*-плазида) и др.

Плазмиды бактерий широко применяются в генетической инженерии. С их помощью можно получить рекомбинантные молекулы ДНК, вероятность образования которых в природе крайне низка или возникновение их вообще невозможно.

Способы генетического обмена у бактерий. У бактерий существует горизонтальный перенос генов, при котором из клетки-донора в клетку-реципиента передается часть генетического материала (хромосомы), в результате образуется неполная зигота, или *мерозигота*. Затем переданный фрагмент хромосомы донора спаривается с хромосомой реципиента с последующей рекомбинацией. За рекомбинацией следует процесс репликации ДНК и деления клетки, в результате чего возникают *клетки-рекомбинанты*, содержащие только рекомбинантную хромосому.

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

Конъюгация – вид рекомбинации генетического материала, при которой перенос генетической информации от клетки-донора к клетке-реципиенту осуществляется при непосредственном контакте клеток. Конъюгация у бактерий была открыта в 1946 г. Э. Тейтумом и Д. Ледербергом на примере двух штаммов *Escherichia coli*, неспособных расти на минимальной питательной среде. Первый штамм был ауксотрофен по биотину и метионину, другой – по треонину, лейцину и тиамину. После смешения указанных

штаммов и последующего посева на плотную питательную среду появились колонии бактерий, способные самостоятельно синтезировать все пять названных факторов роста. Возникновение прототрофных клеток, размножающихся на минимальной питательной среде, произошло благодаря рекомбинации двух генотипов родительских ауксотрофных штаммов.

Конъюгация описана у бактерий из родов *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Nocardia*.

При конъюгации перенос генетического материала обеспечивается конъюгативными плазмидами (F -плазида, F -фактор или половой фактор), ответственными за перенос генетического материала, синтез половых пилей, за перенос самой плазмиды или мобилизацию переноса хромосомной ДНК из клетки в клетку. В зависимости от состояния F -фактора различают три типа клеток-доноров: F^+ клетки содержат его в виде свободной плазмиды; у Hfr -клеток он встроен в хромосому; F' клетки имеют модифицированный половой фактор в виде автономной частицы, несущей несколько новых генов. Клетки-реципиенты (F^- клетки) F -фактор не содержат (рисунок 15).

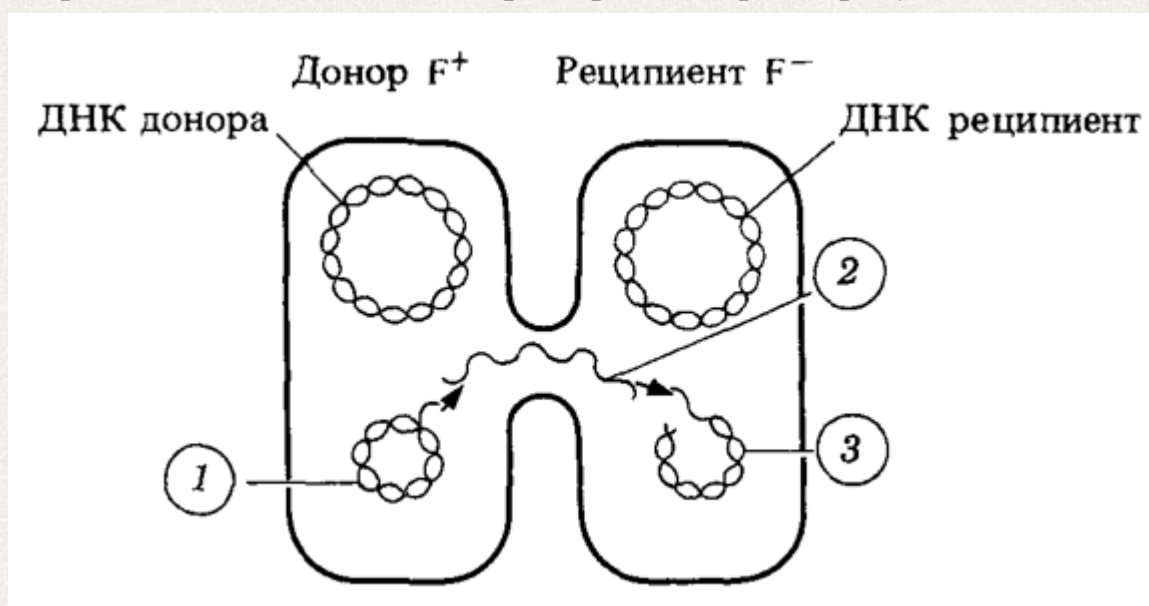


Рисунок 15 – Схема конъюгации у бактерий

F^+ клетки и F^- клетки сближаются и между ними образуется конъюгационный мостик, в образовании которого участвуют F -пили. Передача плазмиды или хромосомы начинается с одностороннего разрыва в области плазмиды, которая называется точкой начала передачи. Для того чтобы произошла передача хромосомных генов, плазида F должна интегрироваться в хромосому. Разорванная ДНК разматывается на этом участке, и односторонняя ДНК, начиная с 5'-конца, переносится в реципиентную клетку. Одновременно на обеих нитях плазмидной и хромосомной ДНК синтезируются комплементарные им нити. Благодаря этому в клетке-доноре восстанавливается целостность хромосомы и F -плазмиды.

Процесс переноса хромосомных генов при конъюгации может осуществляться также при участии содержащихся в хромосоме конъюгативных транспозонов.

Трансформация – вид рекомбинации генетического материала, при которой перенос генетической информации происходит в форме свободной ДНК от разрушенной клетки в клетку-реципиент. Явление было открыто в 1928 г. Ф. Гриффитсом, который обнаружил, что при одновременном введении в организм убитых нагреванием капсульных пневмококков и живых бескапсульных штаммов этих же микроорганизмов последние приобретают способность образовать капсулы. Трансформация установлена у *Diplococcus*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Streptococcus*.

Трансформация может осуществляться в лабораторных условиях и за счет ДНК, спонтанно выделившейся из клетки без участия экспериментатора. При спонтанной, или естественной, трансформации выход ДНК из клетки обусловлен автолизом и бактерия-донор ДНК при этом обязательно погибает. Естественная трансформация является одним из способов горизонтального переноса генов в природных условиях.

Начальным этапом генетической трансформации является необратимая адсорбция ДНК на поверхности клетки и ее поглощение (рисунок 16). К необратимой адсорбции и поглощению ДНК способны лишь клетки бактерий, находящиеся в состоянии компетентности. Последующие этапы, как и при других парасексуальных процессах, связаны с рекомбинацией трансформирующей хромосомной ДНК донора с хромосомой реципиента и пострекомбинационными событиями. Получаемые при этом способе генетического обмена рекомбинанты называются **трансформантами**. Генетическая трансформация у бактерий может осуществляться не только хромосомной, но и плазмидной ДНК.



Рисунок 16– Общая схема трансформации

Трансдукция – вид рекомбинации генетического материала, при которой перенос генетического материала от клетки-донора к клетке-реципиенту осуществляют умеренные дефектные бактериофаги.

Трансдукцию у бактерий открыли лауреаты Нобелевской премии Д. Ледерберг и Н. Циндер.

Взаимодействие умеренного фага с бактерией может осуществляться по литическому и лизогенному пути.

При лизогенном пути взаимодействия происходит интеграция фаговой ДНК в хромосому клетки-хозяина и переход фага в *профаг*. *Профаг* – умеренный фаг, геном которого объединился с геномом бактерии-хозяина. Биологическое явление симбиоза микробной клетки с умеренным фагом (профагом) называется *лизогенией*. Культура бактерий, содержащая профаг, является *лизогенной*.

Фаговая конверсия – изменение свойств бактерий под влиянием профага. В состоянии лизогенности у бактерий появляются новые признаки и свойства, кодируемые геномом фага (изменяются форма колоний, цвет колоний, токсигенность штаммов, появляются новые антигенные детерминанты и т. д.). Лизогенные культуры невосприимчивы к повторному заражению гомологичным или близкородственным фагом.

Поскольку лизогенные клетки продолжают размножаться, то профаг при размножении клетки реплицируется синхронно с геном бактерии, не вызывая ее лизиса, поэтому наследуется всеми дочерним клеткам.

Связь профага с геномом бактерии достаточно прочная и в естественных условиях нарушается с частотой 10^{-2} – 10^{-5} (*спонтанная продукция фага*). Частоту отщепления профага от бактериальной хромосомы может увеличить воздействуя на лизогенные бактерии ультрафиолетовыми лучами, ионизирующей радиацией и химическими мутагенами (*индукция лизогенных бактерий*).

В некоторых случаях при переходе из интегрированного состояния в вегетативную форму профага включаются гены бактерий (обычно часть фаговой ДНК, которая остается в геноме бактериальной клетки, замещается бактериальными генами). Утратившие часть своего генома *умеренные дефектные фаги* осуществляют перенос генов – трансдукцию.

Различают три типа трансдукции:

1. *Общая (генерализованная) трансдукция* осуществляется фагами с множественной локализацией на бактериальной ДНК (Ми-1). При этом фагом переносятся любые гены, объем которых равен длине утраченного фрагмента фаговой ДНК. Генерализованная трансдукция возникает с низкой частотой – 10^{-4} – 10^{-7} на одну фаговую частицу.

2. *Специфическая (ограниченная) трансдукция* осуществляется фагами, обладающими избирательной локализацией на бактериальной ДНК и способными переносить ограниченное число генов, прилегающих к специфическим участкам интеграции (λ , P2, p22). Фаг λ (лямбда) интегрирует с геномом кишечной палочки в районе галактозного локуса, а поэтому может переносить только один из прилегающих к зоне встраивания ген (*gal* или *bio*).

3. *Абортивная трансдукция* представляет собой вариант общей трансдукции, при котором перенесенный фагом фрагмент ДНК клетки-донора остается в цитоплазме клетки-реципиента в автономном состоянии. Абортивная трансдукция встречается в 10 раз чаще общей трансдукции.

С помощью трансдуцирующего фага могут передаваться как единичные гены, так и сцепленные маркеры, проявляющиеся в фенотипе в виде таких признаков и свойств, как способность сбрасывать различные углеводы, синтезировать аминокислоты и витамины, резистентность к антибиотикам, вирулентность, токсигенность, жгутики. Образующиеся рекомбинанты называются *трансдуктантами*. Приобретенные в процессе трансдукции признаки стабильны и передаются по наследству.

Трансдукция обнаружена у многих видов бактерий: *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* и др. Чаще удается внутривидовая трансдукция, т. е. фаговый перенос генетического материала в пределах определенного вида бактерий. Большой интерес представляют данные о межвидовой трансдукции и особенно о возможности

этого вида рекомбинаций в природных условиях. Трансдукция служит активным механизмом формирования культур с измененными свойствами и может играть большую роль в эволюции микробов.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

для студентов для специальности
6-05-0113-03 Природоведческое образование (Биология и химия)

№ п/п	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов		
		Всего	Лекции	Лабораторные занятия
1	Введение. Возникновение и развитие микробиологии	2	2	
2	Рост, размножение, культивирование прокариот	6	2	4
3	Морфология и структурно-функциональная организация прокариот	18	8	10
4	Физиология прокариот	12	6	6
5	Систематика и классификация прокариот	4	2	2
6	Экология прокариот	6	2	4
7	Основы вирусологии	6	4	2
	Итого	54	26	28



Тема 4. Физиология прокариот

- Химический состав и питание прокариот
- Энергетический метаболизм прокариот
- Бактериальный фотосинтез

Химический состав и питание прокариот

Химический состав клеток прокариот близок к таковому эукариот. Содержание воды в прокариотических клетках составляет 80–90 % от общей массы. Оставшиеся 10–20 % приходится на сухое вещество. В составе сухой массы клетки 50–80 % приходится на белки, до 16 % – на РНК, 3–4 % – на ДНК, 5–30 % – липиды, 10–30 % – углеводы, 1–14 % – на минеральные соединения.

Элементарный состав сухих веществ прокариотической клетки следующий: углерод – 50 %, кислород – 20 %, азот – 10–15 %, водород – 10 %, фосфор – 2–6 %, серу и другие элементы – 3–8 %. Для нормального роста и развития прокариот необходимы ионы металлов, представленные макроэлементами (калий, кальций, магний, железо) и микроэлементами (марганец, молибден, цинк, медь, кобальт, никель и др.).

Прокариоты различны по своим потребностям к веществам питательного субстрата.

Углерод входит в состав любого органического соединения прокариотной клетки. По источнику углерода для конструктивного обмена все прокариоты делятся на две группы: *автотрофы*, потребляющие в качестве главного источника углерода углекислый газ, и *гетеротрофы*, усваивающие углерод из органических соединений. Автотрофные прокариоты различаются по характеру источника энергии: *фототрофы* – используют солнечный свет, *хемотрофы* получают энергию за счет окислительно-восстановительных реакций.

Гетеротрофные организмы могут выступать в роли *сапрофитов*, если используют органические вещества опада, или *паразитов*, если живут за счет органических веществ живой клетки. Для большинства гетеротрофов оптимальным и наиболее доступным источником углерода служат углеводы (особенно широко бактерии используют моносахариды – гексозы, некоторые пентозы). Источником углерода для бактерий могут служить многоатомные спирты, аминокислоты, органические кислоты. Коринебактерии, микобактерии и псевдомонады потребляют восстановленные соединения углерода – углеводородов.

Миксотрофы – это организмы, способные использовать одновременно различные источники энергии или синтезировать один и тот же компонент клеток из различных соединений углерода (некоторые серобактерии, водородные бактерии и др.).

Азот необходим для синтеза аминокислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Восстановленные формы азота бактерии используют в виде солей аммония и аммиака, реже органические азотсодержащие вещества – белки, аминокислоты, мочевины, разрушая их с выделением аммиака. Окисленные формы азота – нитриты, нитраты также усваиваются различными группами бактерий. Прокариоты-*азотфиксаторы* способны фиксировать молекулярный азот атмосферы для построения необходимых компонентов клетки.

Фосфор в клетках прокариот входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферментов, АТФ. Источником фосфора для бактерий в основном служат фосфаты калия или натрия, а из органических соединений – нуклеиновые кислоты.

Сера в клетке прокариот в основном встречается в восстановленной форме и входит в состав аминокислот (цистеин), витаминов и коферментов (биотин, кофермент А и др.). Источником серы для большинства микроорганизмов служат сульфаты, которые в клетке восстанавливаются в сульфиды. Некоторые бактерии нуждаются в соединениях, содержащих серу в восстановленной форме, таких как сероводород, тиосульфат, цистеин и метионин.

Ферменты прокариот относятся к шести классам: оксиредуктазы, трансферазы, гидролазы, лигазы, лиазы, изомеразы. Некоторые ферменты состоят только из белка, другие состоят из апофермента – белка и кофермента – органической молекулы меньшей величины, обычно содержат фосфат. Состав клеточных ферментов относительно постоянен, определяется геномом клетки и является важным таксономическим признаком ранга семейства, рода или вида.

Прокариоты синтезируют *эндоферменты* (регулируют процессы внутри клетки) и *экзоферменты* (выделяются клеткой в окружающую среду). Например, эндофермент *пируватдекарбоксилаза* катализирует отщепление углекислого газа от пировиноградной кислоты; экзоферменты гидролазы, выделяясь в окружающую среду, расщепляют крупные молекулы пептидов, полисахаридов, липидов до мономеров и димеров, способных проникнуть внутрь клетки. Наличие экзоферментов можно определить при помощи дифференциально-диагностических сред.

Различают *конститутивные* ферменты (их синтез происходит в течение всего клеточного цикла и концентрация в клетке примерно постоянна) и *индуцибельные* (их синтез инициируется соответствующим субстратом). Например, конститутивными являются ферменты гликолиза, индуцибельными – *протеаза, амилаза* и т. п.

Ферменты различаются специфичностью, числом субстратов, на которые они могут действовать. Некоторые ферменты абсолютно специфичны, например, фермент мальтозы расщепляет только мальтозу, а лактаза – только лактозу.

Активность ферментов регулируется физическими факторами (температурой, давлением, светом, магнитным полем, электрическими импульсами) и химическими факторами. Действие химических факторов, приводящее к изменению ферментативной активности, может проявляться в таких формах, как: связывание с активным центром; взаимодействие со специальными участками на поверхности молекулы, путем ковалентного обратимого связывания с ферментом определенной группировки.

Аллостерические ферменты – белки с высокой молекулярной массой, состоящие из нескольких субъединиц одного или разного типа. В первом случае каждая субъединица содержит каталитический и регуляторный (аллостерический) центры. Во втором – одни субъединицы обладают каталитической активностью, другие выполняют регуляторную функцию.

Каталитическая активность аллостерического фермента меняется в результате связывания с его регуляторным центром определенных *метаболитов-эффекторов*. Эффекторами могут быть субстраты, конечные продукты данного пути или конечные продукты родственных метаболических путей. Различают два типа эффекторов:

– *ингибитор* – эффектор, который приводит к понижению каталитической активности фермента;

– *активатор* – эффектор, который повышает каталитическую активность фермента.

Факторы роста – органические соединения, без которых рост и развитие бактерий не возможны. К таким соединениям относятся аминокислоты, пурины и пиримидины, витамины и др.

Прототрофные бактерии, или *прототрофы*, способны синтезировать в своей клетке данное соединение, являющееся фактором роста. *Ауксотрофные бактерии*, или *ауксотрофы*, характеризуются нарушением биосинтеза соединения – фактора роста. Ауксотрофы без наличия фактора роста не способны расти на минимальных питательных средах. Ауксотрофами также являются мутантные штаммы бактерий, нуждающиеся в факторах роста, не являющихся необходимыми для исходных штаммов дикого типа.

Бактерии могут быть *ауксотрофными* по отношению к тому или иному соединению или *полиауксотрофными*. Для идентификации ауксотрофности используют синтетические питательные среды, к которым добавляют факторы роста, и проверяют их способность расти на этих средах.

Прокариоты различаются по потребностям в факторах роста. Например, молочнокислые бактерии ауксотрофны по ряду аминокислот, золотистый стафилококк ауксотрофен по витамину B5, для пневмококков и гонококков фактором роста является парааминобензойная кислота.

Факторы роста необходимы бактериям в ничтожно малых концентрациях: аминокислоты – 20–50 мкг/мл, пурины и пиримидины – 10–20 мкг/мл, витамины – 0,2–50 мкг/мл.

У прокариот выделяют четыре основные *физиологические группы питания*:

- *фотолитоавтотрофы* (цианобактерии, зеленые, серные пурпурные бактерии);
- *фотоорганавтотрофы* (некоторые пурпурные бактерии);
- *хемолитоавтотрофы* (нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии);
- *хеморганогетеротрофы* (аммонификаторы, азотфиксаторы, пектиноразрушающие, клетчаткоразрушающие, молочнокислые и др.).

Для характеристики этих групп используются одновременно три критерия: источник углерода (CO₂ и органические соединения), источник энергии (свет или реакции окисления неорганических веществ) и донор электронов (неорганические соединения у *литотрофов* или органические соединения у *органотрофов*). Нередко один и тот же организм при изменении условий среды может переключаться с одного типа метаболизма на другой.

Поступление питательных веществ в клетку прокариот осуществляется различными путями (рисунок 17). При *простой диффузии* транспорт веществ через цитоплазматическую мембрану происходит по градиенту концентрации, без затраты энергии, при этом скорость перемещения веществ низкая. *Облегченная диффузия* веществ также осуществляется по градиенту концентрации и происходит через канал и с помощью локализованных в цитоплазматической мембране переносчиков-*пермеаз*. На внешней стороне цитоплазматической мембраны пермеаза адсорбирует вещество, вступая с ним во временную связь и диффундирует комплексно через мембрану, отдавая на внутренней стороне ее транспортируемое вещество в цитоплазму.

Активный транспорт происходит против градиента концентрации с затратой энергии и обеспечивает избирательный перенос веществ через цитоплазматическую мембрану в клетку. В процессе переноса веществ участвуют как пермеазы, так и особые *связующие белки*, локализованные в периплазматическом пространстве.

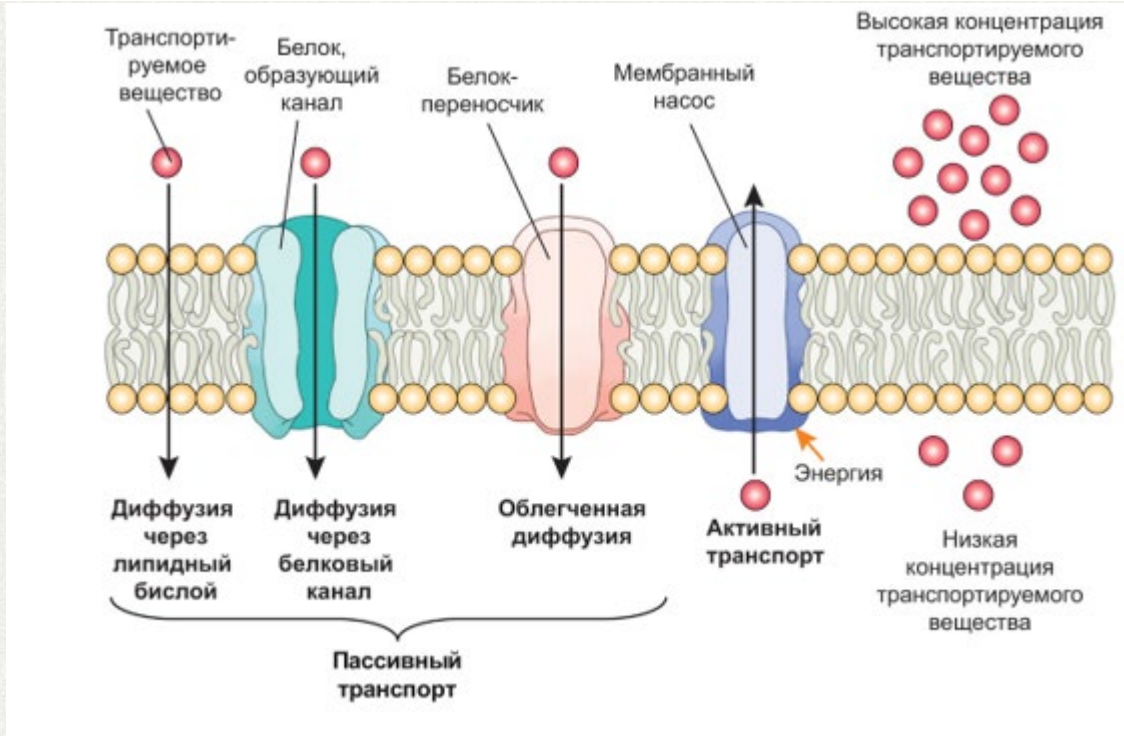


Рисунок 17 – Транспорт веществ через клеточную мембрану

Энергетический метаболизм прокариот

Клеточный метаболизм складывается из потоков реакций энергетического и конструктивного метаболизма.

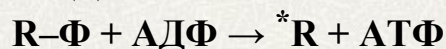
Энергетический метаболизм – это поток реакций, сопровождающийся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую или химическую (АТФ) форму, которая затем может использоваться во всех энергозависимых процессах.

Образование АТФ может происходить двумя способами:

1. Фосфорилирование в электронтранспортной цепи дыхания и фотосинтеза связано с мембранами, вследствие чего его называют мембранным фосфорилированием:



2. Фосфорилирование на уровне субстрата (характерно для процессов брожения), заключающееся в переносе фосфатной группы на АДФ от вещества, более богатой энергией, чем АДФ:



Все окислительно-восстановительные реакции энергетического метаболизма у хемотрофных микроорганизмов можно разделить на три типа: брожение; аэробное дыхание, или аэробное окисление; анаэробное дыхание.

Конструктивный метаболизм – поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ осуществляется биосинтез вещества клеток. Этот процесс связан с потреблением свободной энергии, запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений.

Более 95 % клеточного материала микроорганизмов состоит из макромолекул или полимеров: белков, полисахаридов, липидов, РНК, ДНК. На долю белков приходится 52 %, а на долю нуклеиновых кислот – 19 % массы сухого вещества. Около 3 % сухого вещества клеток составляют низкомолекулярные органические соединения и соли.

Образованию полимеров из глюкозы предшествует синтез составляющих их мономеров: в случае полисахаридов – различных моносахаридов, в случае нуклеиновых кислот – рибо- и дезоксирибонуклеотидов, в случае белков – аминокислот и т. д.

Мономеры синтезируются из промежуточных метаболитов

(амфиболитов), которые образуются при катаболизме глюкозы. Такими промежуточными метаболитами являются пентозофосфаты, фосфоенолпируват, пируват, ацетил-КоА, щавелевоуксусная и α -кетоглутаровая кислоты. Они являются исходным материалом для синтеза всех необходимых клетке аминокислот, витаминов, сахарофосфатов, жирных кислот, рибо- и дезоксирибонуклеотидов, которые образуются в реакции полимеризации.

Процессы биосинтеза разнообразных веществ, роста, размножения, поглощения и выделения веществ, движения и т. д. происходят за счет энергии, аккумулированной в макроэргических связях АТФ.

По отношению к энергетическим источникам все микроорганизмы подразделяются на две группы: хемотрофные и фототрофные. Хемотрофные микроорганизмы используют для синтеза молекул АТФ энергию, освобождаемую в результате химических реакций, фототрофные – световую энергию в процессе протекания фотосинтеза.

Брожение – это способ получения энергии, при котором АТФ образуется в результате анаэробного окисления органических субстратов в реакциях субстратного фосфорилирования. При брожении продукты расщепления одного органического субстрата могут одновременно служить и донорами, и акцепторами электронов. Сбраживанию могут подвергаться различные субстраты, но лучше других используются углеводы. АТФ при брожении синтезируется в результате реакций субстратного фосфорилирования.

Процесс брожения состоит из двух этапов: окислительного, при котором органический субстрат окисляется до пировиноградной кислоты, и восстановительного, при котором пировиноградная кислота восстанавливается до конечных продуктов, характер которых определяет тип брожения (маслянокислое, молочнокислое, спиртовое и др.).

Окислительный этап у прокариот может осуществляться несколькими путями (рисунок 18), ведущими к расщеплению сахаров до ПВК:

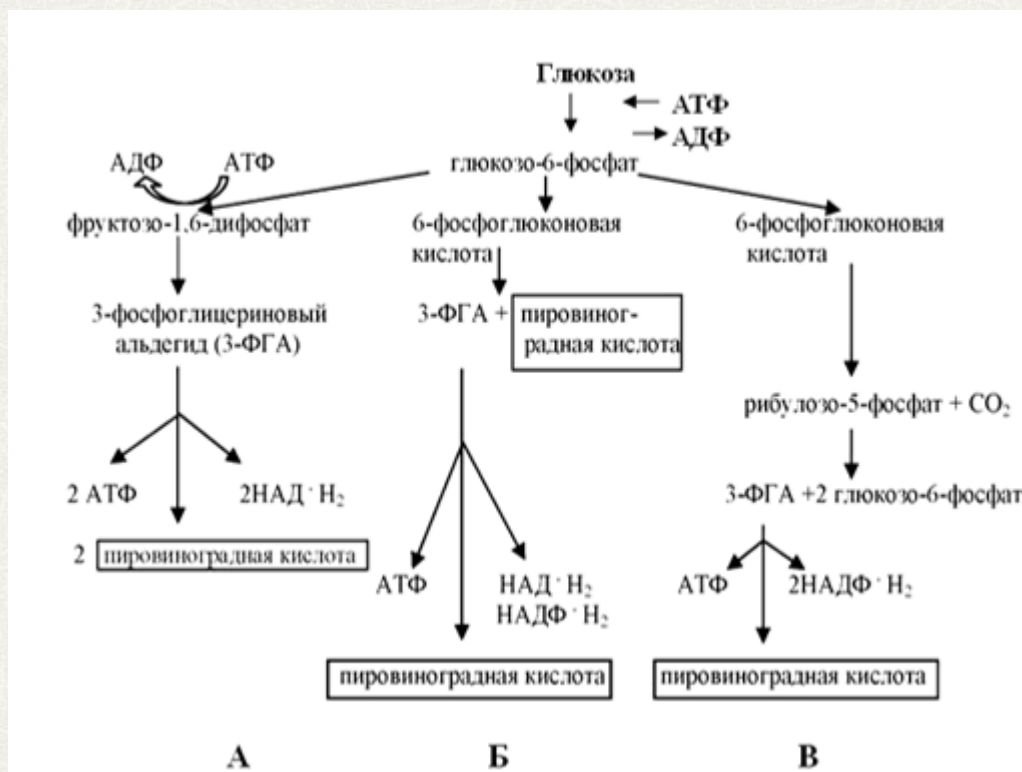
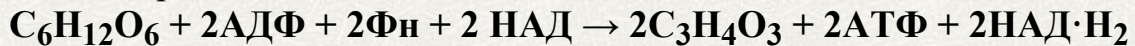


Рисунок 18 – Пути катаболизма глюкозы в клетках прокариот (по В. В. Лысаку): а – гликолиз; б – путь Энтнера – Дудорова; в – пентозофосфатный путь

1. *Гликолиз*, или *фруктозодифосфатный путь*, или *путь Эмбдена – Мейергофа – Парнаса* (ЭМП). Это основной способ расщепления сахаров, встречающийся у разных групп бактерий. Процесс состоит из многих биохимических реакций, общее уравнение которых может быть записано

следующим образом:



Таким образом, при распаде одной молекулы гексозы образуются четыре молекулы АТФ, в которых аккумулируется освободившаяся при гликолизе энергия. Поскольку в самом начале процесса на активирование гексозы были израсходованы две молекулы АТФ, то конечный выход АТФ на одну молекулу глюкозы составит две молекулы.

2. *Пентозофосфатный путь*, или *фосфоглюконановый цикл*, протекает с образованием гексозомонофосфатов и пентозофосфатов, а также с использованием реакций гликолиза для превращения 3-фосфо- глицеринового альдегида в пируват.

Пентозофосфатный цикл представляет собой дополнительный путь, который служит источником НАДФ·Н₂ и пентоз для конструктивного обмена, в основном для синтеза нуклеотидов.

3. *2-кето-3-дезоксиглюкононатовый путь*, или *путь Энтнера – Дудорова*, отличается от пентозофосфатного тем, что 6-фосфоглюконовая кислота под действием фосфоглюкононатедегидратазы превращается в 2-кето-3-дезоксиглюконовую кислоту, которая специфической альдолазой расщепляется на пировиноградную кислоту и 3-ФГА. Последний может превращаться в пировиноградную кислоту гликолитическим путем с образованием двух молекул АТФ и одной молекулы НАД·Н₂ или НАДФ·Н₂. Как и при пентозофосфатном пути, фактический энергетический выход составляет одну молекулу АТФ.

Все перечисленные пути катаболизма глюкозы у микроорганизмов могут протекать при разных типах энергетического метаболизма (аэробное дыхание, анаэробное дыхание, брожение).

Два первых пути распада углеводов (гликолиз и пентозофосфатный цикл) функционируют у большинства аэробных и анаэробных микроорганизмов. Например, маслянокислое брожение, гомоферментативное молочнокислое брожение, сбраживание сахаров дрожжами до пирувата идет по гликолитическому пути, а у гетероферментативных бактерий превращение углеводов происходит по пентозофосфатному пути.

Путь Энтнера – Дудорова менее распространен; он обнаружен у бактерий из родов *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Spirillum* и некоторых других. По-видимому, этот путь сформировался позднее гликолитического и пентозофосфатного путей и возник как ответвление последнего. Важнейшим продуктом, образующимся при любом из трех описанных путей расщепления углеводов, является пировиноградная кислота, которая подвергается дальнейшему превращению.

Далее при сбраживании углеводов и ряда других веществ (по отдельности или в смеси) пировиноградная кислота восстанавливается до таких продуктов, как этанол, молочная, муравьиная, янтарная кислоты, ацетон, СО₂, Н₂ и др. В зависимости от того, какие продукты преобладают или являются особенно характерными, различают спиртовое, молочнокислое, муравьинокислое, маслянокислое, пропионовокислое и другие типы брожения.

Органические вещества, являющиеся конечными продуктами брожений, содержат значительный запас химической энергии. В связи с этим энергетический выход при брожении гораздо ниже, чем при дыхании.

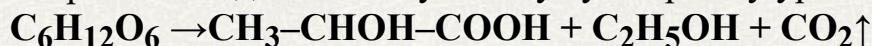
Различают два типа *молочнокислого брожения*: гомоферментативное и гетероферментативное. При гомоферментативном молочнокислом брожении синтезируется практически одна молочная кислота (примерно 90 % всех продуктов брожения). Катаболизм глюкозы в этом случае происходит по гликолитическому пути. Образующаяся при этом пировиноградная кислота не подвергается декарбоксилированию, а под действием лактатдегидрогеназы

восстанавливается до молочной кислоты. Конечным акцептором водорода выступает пировиноградная кислота. Гомоферментативное молочнокислое брожение идет по следующему суммарному уравнению:



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

Гетероферментативное молочнокислое брожение приводит к образованию разнообразных продуктов: молочной и уксусной кислот, этилового спирта, углекислого газа и глицерина. При этом типе брожения расщепление углеводов происходит по пентозофосфатному пути. Конечными акцепторами водорода являются пировиноградная кислота и ацетальдегид. Гетероферментативное молочнокислое брожение идет по следующему суммарному уравнению:



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

Все молочнокислые бактерии анаэробы, но могут развиваться в присутствии кислорода. Молочнокислые бактерии обладают чрезвычайно ограниченными синтетическими возможностями: не способны синтезировать витамины группы В, большинство аминокислот, источником которых для них является молоко. Они обладают высокой кислотоустойчивостью (рН 5–6) и солеустойчивостью.

Молочнокислые бактерии очень широко распространены в природе. Они всегда имеются в почве, на поверхности растений, и это является источником их постоянного появления в молочных и других продуктах.

В промышленности используют культурные расы бактерий, которые имеют ряд преимуществ перед дикими формами. Молочнокислые бактерии находят широкое применение в различных отраслях хозяйственной деятельности человека в процессе приготовления кисломолочных продуктов, сырокопченых колбас, квашения овощей и фруктов, в хлебопечении, для силосования кормов, биологической выделки кож и т. п. Они входят в состав нормальной микрофлоры человека и животных. Многие представители патогенны.

Маслянокислое брожение проходит в строго анаэробных условиях и осуществляют его облигатно анаэробные бактерии рода *Clostridium*. В основе брожения лежит сбраживание углеводов по гликолитическому пути до пировиноградной кислоты, которая далее подвергается декарбоксилированию с образованием ацетил-КоА. Основным продуктом брожения – масляная кислота – синтезируется в результате конденсации двух молекул ацетил-КоА. Превращение ацетил-КоА в масляную кислоту сопряжено с процессами восстановления, в которых в качестве доноров водорода используются молекулы НАД·Н₂, образующиеся ранее в процессе гликолиза. Кроме того, одна из молекул ацетил-КоА, присоединяя неорганический фосфат, может подвергаться фосфорилированию, превращаясь в ацетилфосфат и далее в ацетат, что сопровождается синтезом АТФ при субстратном фосфорилировании. Это третья молекула АТФ, которая синтезируется при маслянокислом брожении (две другие молекулы АТФ образуются при расщеплении глюкозы по гликолитическому пути).

Схематично процесс может быть изображен в виде следующего уравнения:



Маслянокислые бактерии имеют различные активные ферменты, способные производить расщепление сложных углеводов. Образующаяся

масляная кислота в невысоких концентрациях является веществом, стимулирующим рост высших растений.

В зависимости от способности сбраживать те или иные органические соединения маслянокислые бактерии подразделяют на:

- сахаролитические виды, сбраживающие растворимые углеводы, крахмал или пектин (*Clostridium pasteurianum*, *Cl. butylicum*, *Cl. acetobutylicum* и др.);
- протеолитические виды, сбраживающие аминокислоты (*Cl. sporogenes*, *Cl. histolyticum*, *Cl. botulinum* и др.);
- виды, сбраживающие азотсодержащие циклические соединения – пурины и пиримидины (*Cl. acidurici*, *Cl. cylindrosporum*).

Маслянокислое брожение имеет практическое применение для получения масляной кислоты, используемой в парфюмерной промышленности. Для ее производства используют картофель, зерно, мелассу (отходы сахарного производства). Маслянокислые бактерии нередко причиняют вред, вызывая порчу продуктов (прогоркание масла, сметаны, квашеных овощей, силоса), а также при недостаточной стерилизации – порчу консервированных грибных и мясных продуктов.

Процесс *спиртового брожения* идет по следующему суммарному уравнению:



Из уравнения видно, что один продукт брожения (этанол) является более восстановленным, а другой (CO₂) – более окисленным, чем глюкоза. Кроме этанола и углекислоты при брожении нередко в небольшом количестве образуются побочные продукты: амиловый и бутиловый спирты (сивушные масла), глицерин и некоторые другие. Выход АТФ составляет 2 моля на 1 моль глюкозы.

Главными возбудителями спиртового брожения являются некоторые виды дрожжей – одноклеточных грибов, размножающихся почкованием или делением. Дрожжи – факультативные аэробы, осуществляющие в присутствии молекулярного кислорода аэробное дыхание, а в анаэробных условиях – брожение. Кроме дрожжей возбудителями спиртового брожения являются также некоторые виды бактерий (*Zygomonas mobitis*, *Sarcina ventriculi*, *Erwinia amylovora*).

Лучше всего процесс спиртового брожения изучен у дрожжей, которые сбраживают углеводы, имеющие 3, 6 или 9 атомов углерода. Они способны использовать и дисахара, например, сахарозу, предварительно вызывая ее гидролитическое расщепление на глюкозу и фруктозу. Дрожжи не вырабатывают амилазу. Поэтому при использовании в качестве сырья для брожения крахмалистых материалов (зерна, картофеля) нужно добавлять солод, т. е. измельченные проросшие зерна ячменя, которые содержат активную амилазу. Вместо солода можно использовать чистый препарат амилазы.

Наиболее активно спиртовое брожение протекает в кислой среде при pH 4,0–5,0. Среда элективна за счет накопления этилового спирта, концентрация которого в среде может достигать 12–15 %. В дальнейшем процесс брожения прекращается из-за угнетения дрожжей продуктами их собственной деятельности.

Сбраживание сахаров дрожжами идет по пути гликолиза. Пировиноградная кислота под действием пируватдекарбоксилазы в присутствии тиаминпирофосфата распадается на уксусный альдегид и CO₂. Затем ацетальдегид восстанавливается НАД·Н₂-алкогольдегидрогеназой до этанола, при этом используется водород, отщепляемый при окислении фосфоглицеринового альдегида.

При изучении спиртового брожения Л. Пастером было открыто явление

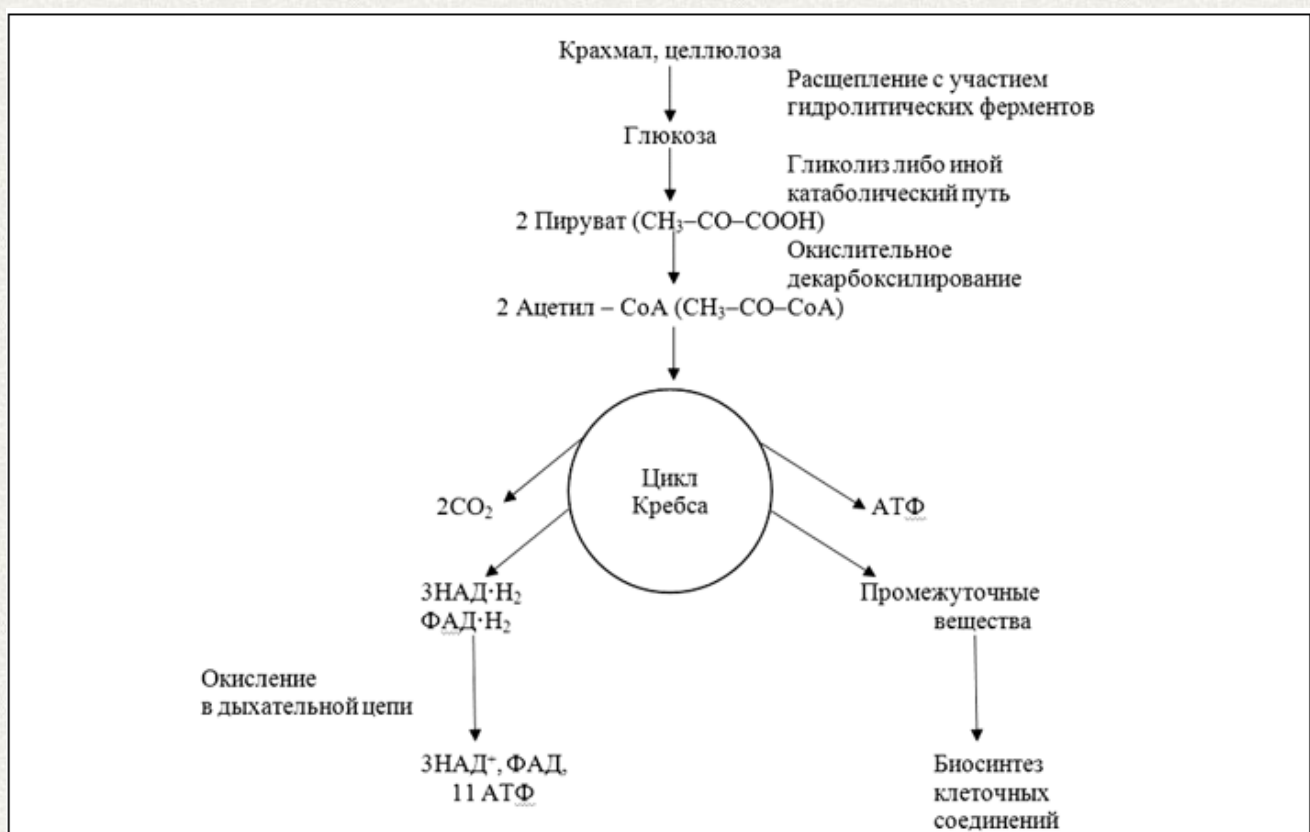
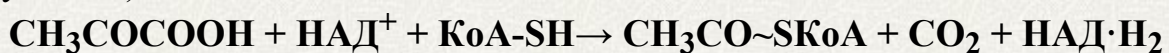
ингибирования данного процесса в присутствии кислорода, получившее название эффекта Пастера. Биологический смысл эффекта Пастера понятен: дыхание дает гораздо больше энергии, чем брожение, поэтому для получения такого же количества АТФ требуется меньше глюкозы. При доступе кислорода НАД·Н₂ окисляется в электронтранспортной цепи и не используется на восстановление уксусного альдегида. Кроме того, может происходить конкуренция за АДФ и неорганический фосфат между процессами субстратного фосфорилирования гликолитического пути и окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи, вследствие чего весь процесс брожения замедляется. В бродильном производстве необходимо учитывать эффект Пастера и добиваться как можно более полного исключения кислорода, который тормозит образование спирта.

Спиртовое брожение широко используется для получения технического спирта, вина, пива, а также в хлебопечении. В последнем случае имеет значение не спирт, а углекислый газ, который образуется в большом количестве (около 45 л на 180 г глюкозы) и вызывает разрыхление и подъем теста. Наибольшее применение в промышленности находят *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces vini*, *Schizosaccharomyces pombe*.

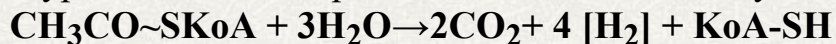
Аэробное дыхание. Дыхание представляет собой процесс разложения органических веществ в живых клетках с выделением энергии. Процесс аэробного дыхания с использованием органических субстратов состоит из трех этапов: 1) анаэробное расщепление простых сахаров с образованием пировиноградной кислоты; 2) окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты; 3) *цикл лимонной кислоты*, или *цикл трикарбоновых кислот* (ЦТК), или *цикл Кребса*.

Все три этапа включают реакции отщепления водорода и электронов, катализируемые соответствующими дегидрогеназами, входящими в состав электронтранспортной цепи.

Пировиноградная кислота, образуемая в одном из трех путей катаболизма глюкозы, подвергается декарбоксилированию и окисляется с участием коэнзима А до ацетил-КоА, который затем включается в цикл Кребса (рисунок 19):

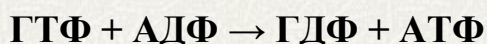


Суммарное уравнение цикл Кребса можно записать следующим образом:



В цикл включается одна молекула ацетил-КоА, соединяясь с оксалоацетатом. При полном обороте цикла происходит присоединение трех молекул H_2O , отщепление двух молекул CO_2 и четырех пар атомов водорода. При окислении изолимонной кислоты водород присоединяется к НАД или НАДФ, α -кетоглутаровой и яблочной – к НАД, а при окислении янтарной кислоты – к ФАД.

Кроме того, при превращении α -кетоглутарата в сукцинат с участием α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса и сукцинил-КоА-синтетазы в результате фосфорилирования на уровне субстрата образуется молекула макроэргического соединения – гуанозинтрифосфата (ГТФ), используемого в дальнейшем на синтез АТФ:



Цикл Кребса может функционировать не только в энергетическом обмене аэробных организмов, но одновременно и в конструктивном обмене.

Главное отличие аэробного дыхания от брожения заключается в том, что при брожении конечными акцепторами электронов служат органические вещества (пировиноградная кислота или продукты ее превращений), а при дыхании – молекулярный кислород.

Электроны поступают в дыхательную цепь, которая состоит из переносчиков водорода и электронов НАД, ФАД, ФМН, убихиона, цитохромной системы. В цепи выделяют четыре основных структурно обособленных комплекса, которые функционально связаны между собой: НАД и ФМН (НАД· H_2 -дегидрогеназа); сукцинатдегидрогеназа и ФАД; цитохром b и цитохром c; цитохромы a и a₃.

По мере продвижения по цепи электроны теряют свободную энергию, изменения которой достаточно для синтеза трех молекул АТФ из АДФ и неорганического фосфата. На трех участках в дыхательной цепи. Происходит сопряжение окисления и фосфорилирования: от НАД до ФМН; от убихинона до цитохрома c; от цитохрома c до O_2 .

Согласно хемиосмотической гипотезе, перенос электронов сопровождается выкачиванием ионов H^+ через мембрану в наружную водную среду. Вследствие этого между наружной и внутренней сторонами мембраны возникает градиент концентрации ионов H^+ – трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода. Энергия трансмембранного электрохимического градиента используется для синтеза АТФ. Этот синтез катализирует АТФ-синтетазный комплекс, который обеспечивает сопряжение процессов окисления и фосфорилирования.

Укороченные дыхательные цепи очень характерны для бактерий, у которых встречается большое разнообразие систем переноса электронов. Обнаружены переносчики электронов, которые не встречаются у других организмов: менахинон (витамин К), цитохромы d, c₄, c₅ и др. Последовательность расположения переносчиков может изменяться.

Аэробный распад одной молекулы гексозы при функционировании полной дыхательной цепи приводит к образованию 38 молекул АТФ: 2 при гликолизе, 2 в двух циклах Кребса на уровне субстратов и 34 путем окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи. Суммарное уравнение аэробного дыхания следующее:



Анаэробным дыханием называют процесс окисления органических

соединений или молекулярного водорода, при котором конечным акцептором электронов в электронтранспортной цепи являются неорганические или органические соединения, но не молекулярный кислород. Если конечными акцепторами электронов служат NO_3^- или NO_2^- , то процесс называется нитратным дыханием, или денитрификацией; если SO_4^{2-} – сульфатным дыханием или сульфатредукцией; если CO_2 – карбонатным дыханием; если фумаровая кислота – фумаратным дыханием. Все бактерии, способные к анаэробному дыханию, имеют элементы электронтранспортной цепи, причем АТФ образуется в процессе мембранного фосфорилирования.

По отношению к молекулярному кислороду эти бактерии являются факультативными или облигатными анаэробами. В присутствии кислорода в среде у факультативных анаэробов происходит процесс аэробного дыхания, в отсутствие молекулярного кислорода они используют другие конечные акцепторы электронов. Лучше других изучены процессы денитрификации и сульфатредукции.

Нитратное дыхание, или денитрификация, называется микробиологический процесс восстановления нитратов до газообразных продуктов (N_2 , NO или N_2O), при этом конечными акцепторами электронов служат NO_3^- или NO_2^- . Процесс имеет энергетическое значение для осуществляющих его бактерий. К денитрификации способны только прокариоты, представители рода *Pseudomonas* – грамотрицательные подвижные палочки, родов *Neisseria* и *Paracoccus* – грамотрицательные кокки, рода *Bacillus* – грамположительные спорообразующие палочки и др. Эти бактерии являются факультативными анаэробами. В присутствии молекулярного кислорода они осуществляют аэробное дыхание, используют в качестве конечного акцептора электронов кислород воздуха. При хорошем доступе кислорода денитрификации не происходит. В анаэробных условиях большинство денитрифицирующих бактерий, в отличие от других факультативных анаэробов, не переходят к осуществлению брожения, а продолжают процесс дыхания.

Суммарное уравнение реакции нитратного дыхания, где окисляемым субстратом является глюкоза, а конечным акцептором электронов – цитраты, следующее:



подавляющее большинство денитрификаторов – хемоорганогетеротрофы, использующие в качестве окисляемого субстрата углеводы, спирты, органические кислоты и другие органические соединения. Восстановление нитратов протекает в несколько этапов: вначале образуется нитрит, затем окись азота, далее закись азота и, наконец, молекулярный азот:



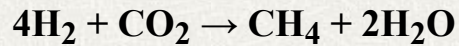
У денитрифицирующих бактерий функционирует электронтранспортная дыхательная цепь (полная – при аэробном дыхании и укороченная – при анаэробном). Нитратредуктаза, получив электрон от цитохрома *b*, восстанавливает NO_3^- до NO_2^- . Нитритредуктаза и редуктазы окиси и закиси азота сопряжены с электронтранспортной цепью на уровне цитохрома *b*.

Энергетически выход процесса денитрификации составляет 70 % по сравнению с аэробным дыханием, т. е. приблизительно 2 молекулы АТФ.

Процесс денитрификации происходит обычно в плотных и заболоченных почвах и может привести к обеднению почвы азотом. При хорошей аэрации денитрификация прекращается, т. к. молекулярный кислород вступает в конкуренцию с нитратами за электроны дыхательной цепи и подавляет деятельность нитратредуцирующей системы ферментов. Денитрифицирующие

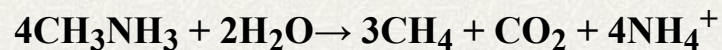
бактерии являются важным звеном в круговороте азота в природе, обогащая атмосферу молекулярным азотом. Кроме того, эти бактерии играют положительную роль в освобождении подземных вод и почв от накопившихся в результате деятельности человека (внесение высоких доз удобрений, промышленные стоки) нитратов и нитритов.

Карбонатное дыхание – процесс окисления молекулярного водорода, при котором конечным акцептором электронов является CO_2 :



Карбонатное дыхание осуществляют метаногенные бактерии из класса археобактерий. Все они строгие анаэробы, способны образовывать метан, не имеют ацетилмуравовой кислоты и D-аминокислот в клеточных стенках, их цитоплазматическая мембрана содержит липиды, представленные простыми эфирами глицерина и терпеноидных спиртов, механизм трансляции у них нечувствителен к антибиотикам. Встречаются мезофильные и термофильные виды. Обитают в иловых отложениях водоемов, в болотах, на заболоченных почвах, в осадочных слоях морей и океанов. Метаногенные бактерии – типичные обитатели пищеварительного тракта животных и человека и важный компонент микрофлоры рубца жвачных животных. Метаногенные бактерии участвуют в разложении органических веществ в отстойниках сточных вод при биологической очистке, в переработке экскрементов животных вместе с отбросами, содержащими целлюлозу, в навозных ямах.

Кроме H_2 и CO_2 , многие метаногенные бактерии могут использовать для получения энергии формиат, метанол, ацетат, а также метилированные амины. Например:

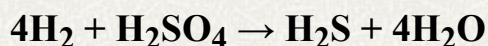


Получение энергии связано с функционированием электронтранспортной цепи, в которой присутствуют дегидрогеназы или гидрогеназы, переносчики электронов и редуктазы. Редуктазы связаны с переносчиками дыхательной цепи. Переносчики электронов метаногенных бактерий содержат в качестве коферментов и простетических групп соединения, найденные только у представителей этой группы: фактор F420, кофермент M (2-меркаптоэтанолсульфат), тетрагидрометанооптерин, метанофуран, фактор F430 и др. При восстановлении CO_2 до метана запасается энергия в форме электрохимического ионного потенциала. Фосфорилирование на субстратном уровне у метаногенных организмов отсутствует. Количество образуемой энергии непосредственно зависит от изменяющихся в природных условиях концентраций молекулярного водорода.

Сульфатное дыхание, или *диссимиляционная сульфатредукция*, характерно для бактерий, способных окислять органические соединения или молекулярный водород в анаэробных условиях, используя в качестве акцепторов электронов в дыхательной цепи сульфаты. Кроме сульфатов конечными акцепторами электронов могут служить и другие соединения серы: тиосульфат и сульфит ионы, молекулярная сера. Сульфатвосстанавливающие бактерии относятся к родам *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema* и т. д.

Все сульфатредуцирующие бактерии – строгие анаэробы. Подавляющее большинство бактерий этой группы хемоорганогетеротрофы. Источником углерода и энергии для них являются простые органические вещества – пируват, лактат, сукцинат, малат, а также некоторые спирты. У бактерий родов *Desulfovibrio* и *Desulfomonas* окисление органических веществ идет обычно не до конца. Так, при окислении молочной, fumarовой и янтарной кислот образуется уксусная кислота, окисляемым субстратом является молекулярный водород.

Бактерии этой группы способны также получать энергию за счет окисления молекулярного водорода, сопряженного с восстановлением сульфатов:



Сульфатвосстанавливающие бактерии распространены в анаэробных зонах соленых озер и морских лиманов, в илах, почве. Являясь основными продуцентами сероводорода, сульфатредуцирующие бактерии могут приносить вред, вызывая коррозию металлических труб и других подводных подземных сооружений, а также замор рыбы в водоемах.

Фумаратное дыхание отличается от всех описанных ранее способов анаэробного дыхания: во-первых, это единственный пример, когда роль конечного акцептора электронов в дыхательной цепи играет органическое вещество (фумаровая кислота); во-вторых, этот способ запасания энергии не является самостоятельным (единственным) для какой-либо таксономической группы бактерий. Во всех известных случаях бактерии, способные осуществлять фумаратное дыхание, являются хемоорганотрофами и обладают способностью к брожению. Таким образом, использование фумарата в качестве акцептора электронов при дыхании является лишь дополнительным механизмом, позволяющим бактериям добывать повышенное количество энергии в анаэробных условиях.

Процесс восстановления фумарата в бактериальных клетках часто сопровождается образованием сукцината, который может выделяться в среду в довольно больших количествах. Поэтому осуществляющие его бактерии называют сукциногенными. К ним относят, в первую очередь, некоторые виды родов *Bacteroides*, *Fibrobacter*, *Wolinella*. Все они являются микроаэрофилами, способными к аэробному дыханию при низких концентрациях кислорода, но в отсутствие O_2 могут использовать альтернативный акцептор электронов – фумарат.

Кроме сукциногенных бактерий к фумаратному дыханию способны многие другие хемоорганотрофы, но их метаболизм не сопровождается выделением заметных количеств янтарной кислоты. К числу таких микроорганизмов можно отнести энтеробактерии (роды *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella* и др.), представителей рода *Propionibacterium*. Все перечисленные виды добывают энергию в анаэробных условиях в процессах брожения. При этом пропионовокислые бактерии в ходе брожения осуществляют этап фумаратного дыхания. Для перечисленных бактерий добавление фумарата к питательной среде значительно улучшает рост, что связано с увеличением эффективности синтеза АТФ за счет окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи при восстановлении фумарата.

Бактериальный фотосинтез

Фотосинтез – процесс преобразования энергии видимого света в энергию химических связей органических веществ при участии **фотосинтетических пигментов**. Различают кислородный и анакислородный фотосинтез.

Основную массу фототрофов составляют водоросли, высшие растения и цианобактерии. Значительно меньшая доля приходится на пурпурные и зеленые бактерии, прохлорофиты и галобактерии. Различают анакислородный и кислородный фотосинтез.

Анакислородный фотосинтез осуществляется пурпурными бактериями, зелеными бактериями. Процесс происходит при участии бактериохлорофиллов и не сопровождается выделением молекулярного кислорода. Источником углерода при анакислородном фотосинтезе может служить двуокись углерода или органические соединения. В качестве доноров электронов используются

минеральные вещества или органические вещества. Процесс ассимиляции углекислоты, осуществляемый разными фотоавтотрофными зубактериями, выражается следующим общим уравнением:



где H_2A – экзогенный донор водорода; (CH_2O) – образующееся органическое вещество. Первичным продуктом преобразования световой энергии в химическую является АТФ.

Пурпурные и зеленые бактерии содержат фотосинтетические пигменты, очень близкие по структуре к хлорофиллу растений; они получили название бактериохлорофиллов а, b, c, d, e. В клетках большинства пурпурных бактерий основным пигментом является бактериохлорофилл а, отличающийся от хлорофилла а тем, что в его первом пиррольном кольце присутствует ацетильная группа $-\text{CO}-\text{CH}_3$ вместо винильной $-\text{CH}=\text{CH}_2$, а второе кольцо восстановлено. В клетках некоторых пурпурных бактерий в качестве основного пигмента обнаружен бактериохлорофилл b. У зеленых бактерий преобладают бактериохлорофиллы c, d или e, которые этерифицированы не фитолом ($\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{OH}$), а фарнезолом ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{OH}$) или другим многоатомным спиртом. Кроме того, в клетках всех зеленых бактерий в небольших количествах содержится бактериохлорофилл а. Набор пигментов является специфичным для каждой группы бактерий.

Пигменты фотосинтезирующих бактерий поглощают свет в широком диапазоне длин волн. Интересной особенностью бактериохлорофиллов является способность поглощать инфракрасные лучи: максимум поглощения в длинноволновой части спектра у бактериохлорофилла а находится при длине волны 850–890 нм, бактериохлорофилла b – 720–740 нм, бактериохлорофилла c – 750–760 нм, бактериохлорофилла d – 720–740 нм, бактериохлорофилла e – 715–725 нм.

В клетках фотосинтезирующих прокариот содержатся также различные каротиноиды, придающие клеткам пурпурную, коричневую, розовую или оранжевую окраску. Пурпурные бактерии содержат большие количества каротиноидов, у зеленых бактерий этих пигментов значительно меньше, однако известны «зеленые» бактерии, принадлежащие к семейству *Chlorobiaceae*, коричневого цвета. У разных видов фототрофных бактерий обнаружено около 20 различных каротиноидов. Каротиноиды поглощают световую энергию в области 400–550 нм, 30–90 % которой передают на бактериохлорофилл, а также защищают клетки от фотоокисления.

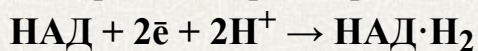
В клетках фототрофных бактерий нет пластид, их функции выполняет цитоплазматическая мембрана. У пурпурных бактерий в участки ЦПМ в виде пузырьков, стопок, ламелл встроены пигменты в комплексе с белками. У зеленых бактерий бактериохлорофилл а, каротиноиды, связанные с белками, локализованы в ЦПМ. К этим участкам мембраны примыкают хлоросомы, в которых содержатся бактериохлорофиллы c, d или e. В ЦПМ встроены электронтранспортные системы, содержащие белки-переносчики.

Аппарат пурпурных и зеленых бактерий, осуществляющий световую фазу фотосинтеза, состоит из пигментов, поглощающих свет; фотохимических реакционных центров, осуществляющих трансформацию световой энергии в химическую; электронтранспортных систем, обеспечивающих перенос электронов, сопряженный с аккумуляцией энергии в виде АТФ. При аноксигенном фотосинтезе фотосинтетический аппарат содержит одну **фотосистему** (ФС-I).

Основная масса молекул пигментов играет роль антенн, поглощающих свет. В фотохимической реакции принимают участие молекулы пигмента (P) бактериохлорофилла а, входящие в состав реакционных центров. Это пигмент P₈₄₀ у зеленых серобактерий и пигменты P₈₇₀ и P₉₆₀ – у пурпурных бактерий.

Поглощенный квант света переводит молекулу пигмента антенны в возбужденное состояние, связанное с переходом электрона на более высокий энергетический уровень. Энергия поглощенного кванта может передаваться другой, рядом расположенной молекуле пигмента резонансным путем, возбуждая последнюю. Миграция энергии происходит от пигментов, поглощающих свет более коротких волн, к пигментам, поглощающим более длинные волны, до молекулы реакционного центра (например, у пурпурных бактерий, содержащих бактериохлорофилл а – P₈₇₀). Далее высокоэнергетический электрон передается от возбужденной молекулы бактериохлорофилла реакционного центра первичному акцептору электронов, функцию которого могут выполнять хинон в комплексе с железом у пурпурных бактерий, и FeS-содержащие белки у зеленых бактерий. Электронтранспортная цепь состоит из хинонов и цитохромов, последним из которых в цепи является цитохром с. Электрон от последнего переносчика возвращается на пигмент. Возникающий при фотосинтетическом электронном транспорте трансмембранный электрохимический градиент протонов используется для синтеза АТФ (процесс фотофосфорилирования). Перенос электронов от молекулы пигмента через электронтранспортную цепь и вновь к пигменту называется циклическим.

У пурпурных бактерий функционирует только процесс циклического транспорта электронов, который не приводит к образованию восстановителя (НАД·Н₂), необходимого для процесса ассимиляции СО₂. У этих бактерий восстановление НАД не связано непосредственно с обратным транспортом электронов от убихинона через флавопротеиды на НАД или ферредоксин. Экзогенным донором электронов служат H₂S или H₂. Процесс обратного переноса электронов идет с затратой энергии трансмембранного потенциала.



«Электронная» дырка, возникшая при фотоокислении бактериохлорофиллов, заполняется электроном от цитохрома, который, в свою очередь, восстанавливается за счет какого-либо экзогенного донора электронов, например сероводород, тиосульфат, водород и т. д. (рисунок 20).

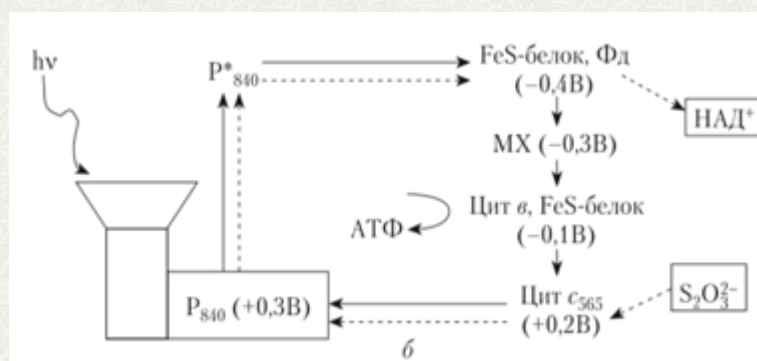


Рисунок 20 – Организация фотосинтетического аппарата зеленых серобактерий:

- – циклический транспорт электронов;
- – нециклический транспорт электронов

Ассимиляция СО₂ происходит в темновой фазе фотототосинтеза – в цикле Кальвина, где используются восстановленный НАД·Н₂ и синтезированные путем фотофосфорилирования молекулы АТФ. У зеленых бактерий (например, у рода *Chlorobium*) вместо цикла Кальвина функционирует восстановительный цикл трикарбоновых кислот.

Оксигенный фотосинтез осуществляют цианобактерии и прохлорофиты. Этот процесс происходит при участии хлорофилла а и сопровождается выделением О₂ в результате фотоокисления воды. Основным источником углерода при оксигенном фотосинтезе является СО₂, донором электронов –

H₂O. Этот тип фотосинтеза характерен для зеленых растений, цианобактерий и прохлорофитов. Цианобактерии в качестве источника углерода могут использовать и органические вещества. Общее уравнение кислородного фотосинтеза следующее:



В пигментной системе цианобактерий присутствуют хлорофилл а, каротиноиды и фикобилипротеиды, хромофорная группа которых состоит из четырех пиррольных колец, соединенных в виде открытой цепи, фикоцианин, аллофикоцианин и фикоэритрин. Фикоцианин и аллофикоцианин имеют голубой цвет, а фикоэритрин – красный. Если в клетках преобладает фикоцианин, то цианобактерии имеют сине-зеленую окраску, особенно яркую у видов, не содержащих фикоэритрина. Клетки, богатые фикоэритрином, бывают окрашены в красный, фиолетовый или коричневый цвет.

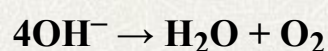
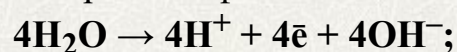
Хлорофилл, каротиноиды, а также реакционные центры и электронтранспортные системы фотосинтеза локализованы в мембранах тилакоидов, фикобилипротеиды сосредоточены в фикобилисомах – небольших тельцах, прикрепленных к внешней поверхности тилакоидов.

Для прохлорофитов характерно наличие хлорофиллов а и b и отсутствие фикобилинов. Представитель этой небольшой группы *Prochloron didemni*, имеющий крупные (диаметром 6–25 мкм) шаровидные клетки, является симбионтом колониальных морских низших хордовых животных асцидий. В настоящее время существует гипотеза, согласно которой прохлорофиты являются предшественниками хлоропластов зеленых растений.

Хлорофиллы клеток цианобактерий и прохлорофитов поглощают свет с длиной волны до 750 нм.

У цианобактерий имеется развитая система внутриклеточных мембран – тилакоидов, к которым примыкают гранулы – фикобилисомы. Форма, размер и число гранул у разных видов цианобактерий различны. Фикобилисомы могут иметь форму полусферы или цилиндра. Фотохимические реакционные центры и электронтранспортные системы сосредоточены в основном в тилакоидах.

При кислородном фотосинтезе фотосинтетический аппарат содержит две фотосистемы (ФС-I и ФС-II). Функционирование их характерно для растений, цианобактерий и прохлорофитов. Возбуждение ФС-I обуславливает циклический поток электронов, сопряженный с синтезом АТФ. Функционирование ФС-II позволяет в качестве донора электронов использовать воду. Вода подвергается фотоокислению по формуле:



Освобождающиеся электроны через переносчика ФС-II передаются на ФС-I, где происходит восстановление НАДФ⁺. Нециклический поток электронов также сопряжен с синтезом АТФ. «Электронная» дырка, возникшая при фотоокислении хлорофиллов, заполняется электроном.

В дальнейшем образующийся НАДФ·H₂ и синтезированные путем фотофосфорилирования молекулы АТФ используются в цикле Кальвина (темновая фаза фотосинтеза), где происходит ассимиляция CO₂.

Своеобразный механизм использования световой энергии обнаружен у экстремальных галофильных архебактерий родов *Halobacterium* и *Halococcus*. Галобактерии обитают в водах соленых озер или местах добывания соли путем выпаривания, в высококонцентрированных или насыщенных растворах солей.

В мембранах этих бактерий присутствует много каротиноидных пигментов (например, бактериоруберин), что придает колониям розовую или красную окраску. При недостатке в среде O₂ в мембранах галобактерий

синтезируется хромопротеид бактериородопсин пурпурного цвета.

Поглощая свет с максимумом длины волны 570 нм, бактериородопсин действует как особая разновидность протонного насоса, создающего градиент концентрации водородных ионов между наружной и внутренней сторонами мембраны, что приводит к синтезу АТФ. Энергия света используется в условиях низкой концентрации O_2 . В темноте при достаточном снабжении кислородом галофильные бактерии получают энергию в процессе дыхания. Источником углерода для галобактерий служат органические вещества, т. е. по типу питания галобактерии относятся к гетеротрофам. На свету они могут осуществлять фотогетеротрофный метаболизм, в темноте – хемогетеротрофный.

Хемосинтез – процесс образование органических соединений из неорганических за счет энергии окислительно-восстановительных реакций соединений азота, железа, серы. Хемосинтез характерен только для небольшой группы архей и бактерий (серобактерии, нитрофицирующие бактерии, железобактерии, водородные бактерии). У хемоавтотрофов отсутствуют фотосинтетические пигменты и они способны усваивать углерод не только из углекислого газа, но из других соединений (уксусной кислоты, карбонатов, метанола, муравьиной кислоты, угарного газа).

Тема 5. Систематика и классификация прокариот

- Принципы классификации прокариот
- Многообразие прокариот

Принципы классификации прокариот

Видом в микробиологии принято называть совокупность близких между собой организмов, имеющих общее происхождение, приспособленных к определенной среде обитания, обладающих сходным обменом веществ и характером межвидовых отношений, близких между собой по генетическому аппарату, морфологическим, физиологическим и биохимическим признакам.

Научные названия для бактерий и архей, а также правила наименования таксонов бактерий в соответствии с их относительным рангом регулирует Международный кодекс номенклатуры прокариот (ICNP). В соответствии с международными правилами номенклатуры микроорганизм получает название, состоящее из двух латинских слов: название рода (с прописной буквы) и признак конкретного вида (со строчной буквы). Например, *Bacillus subtilis* (сенная палочка) и *Bacillus anthracis* (возбудитель сибирской язвы) – два вида одного рода *Bacillus*.

Среди всех таксонов особое положение занимает род: новый вид не может получить названия, пока не будет отнесен к определенному роду. Таксоны более высокой категории (семейства, порядки, классы) имеют менее определенные критерии и используются по-разному в зависимости от принятой тем или иным автором системы классификации.

Для идентификации бактерий и установления степени родства между ними используют многие признаки, которые можно подразделить на пять групп:

1. Морфологические признаки: форма, размер клеток и их сочетания, тип жгутикования, наличие пилей и капсул, способность образовывать споры, особенности внутреннего строения, окраска по Граму.

2. Культуральные признаки, т. е. признаки, которые проявляются при выращивании бактерий на различных питательных средах: особенности роста на плотной питательной среде (окраска, форма, характер колоний) и в жидких питательных средах (осадок, пленка, помутнение и т. д.).

3. Физиологические признаки: возможность использовать те или иные источники углерода и азота, потребность в факторах роста, тип энергетических процессов (аэробное дыхание, брожение, анаэробное дыхание), отношение к температуре, влажности, кислотности среды, засолению почвы и другим факторам.

4. Биохимические признаки: химический состав клеток, тип запасных веществ, наличие тех или иных ферментов, продуктов метаболизма (кислоты, спирты, газы и т. д.), молярная доля суммы гуанина и цитозина (G+C) в процентах от общего количества азотистых оснований в молекуле ДНК, сопоставление последовательности нуклеотидов в 16S рРНК.

5. Серологические признаки – критерии систематики, основанные на специфических реакциях взаимодействия антигенов (компоненты клеточных стенок, жгутиков, капсул, ДНК и токсинов) идентифицируемых микроорганизмов с антителами, содержащимися в сыворотках.

Многообразие прокариот

Практическое применение нашла морфофизиологическая классификация, основы которой заложил доктор бактериологии Д.-Х. Берджи. Эта классификация отражена в «Определителе бактерий Берджи» («*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*»). Первое издание Определителя было издано в 1923 г. обществом американских бактериологов и периодически обновляется и переиздается. Это наиболее полная сводка известных в настоящее время бактерий. Для практической идентификации микроорганизмов-прокариот применяют девятое издание определителя (1997).

Доядерные организмы относятся к трем подцарствам: архебактерии, эубактерии и цианобактерии. В девятом издании Определителя (1984–1989) все прокариоты разделены на 35 групп. Деление *Procaryotae* на высшие таксоны (отделы, классы) проведено по основному признаку – характеру пограничного слоя клеток (таблица 1).



Отдел *Gracilicutes* включает грамотрицательные организмы, имеющие тонкую (10–13 нм) клеточную стенку. Бактерии делятся перетяжкой, некоторые – почкованием. Эндоспор не образуют. Двигаются при помощи жгутиков, изгибанием, скольжением и всплывание с помощью аэросом. У многих имеются ворсинки.

Отдел подразделяется на три класса: *Scotobacteria*, *Anoxyphoto-bacteria*, *Oxuphotobacteria*.

Таблица 1 – Основные группы прокариот в девятом издании «Определителя бактерий Берджи»

Отдел	Группа
Отдел <i>Gracilicutes</i> (бактерии граммотрицательной клеточной стенкой)	1. Спирохеты. 2. Аэробные (или микроаэрофильные), подвижные, спиралевидные (или вибриоидные) грамотрицательные бактерии. 3. Неподвижные или редко подвижные грамотрицательные изогнутые бактерии. 4. Грамотрицательные аэробные (или микроаэрофильные) палочки и кокки. 5. Факультативно аэробные

	<p>грамотрицательные палочки.</p> <p>6. Грамотрицательные анаэробные прямые, изогнутые или спиралевидные палочки.</p> <p>7. Бактерии, осуществляющие диссимиляционное восстановление серы или сульфата.</p> <p>8. Анаэробные грамотрицательные кокки.</p> <p>9. Риккетсии и хламидии.</p> <p>10. Аноксигенные фототрофные бактерии.</p> <p>11. Кислородные фототрофные бактерии.</p> <p>12. Аэробные хемолитотрофные бактерии и близкие организмы.</p> <p>13. Почкующиеся и/или образующие выросты бактерии.</p> <p>14. Бактерии, имеющие чехлы.</p> <p>15. Нефотосинтезирующие скользкие бактерии, не образующие плодовых тел.</p> <p>16. Скользящие бактерии, образующие плодовые тела.</p>
Отдел Firmicutes (бактерии с грамположительной клеточной стенкой)	<p>17. Грамположительные кокки.</p> <p>18. Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры.</p> <p>19. Грамположительные палочки правильной формы, не образующие спор.</p> <p>20. Грамположительные палочки неправильной формы, не образующие спор.</p> <p>21. Микобактерии.</p> <p>22–29. Актиномицеты.</p>
Отдел Tenericutes (бактерии без клеточных стенок)	<p>30. Микоплазмы.</p>
Отдел Mendosicutes (бактерии с ригидной клеточной стенкой, не содержащей пептидогликана)	<p>31. Метаногены.</p> <p>32. Сульфатредуцирующие архебактерии.</p> <p>33. Экстремально галофильные архебактерии (галобактерии).</p> <p>34. Архебактерии, лишенные клеточной стенки.</p> <p>35. Экстремально термофильные и гипертермофильные архебактерии, метаболизирующие серу.</p>

К группе «Спирохеты» относится семейство *Spirochaetaceae*. Представители имеют длинные (5–250 мкм) и тонкие (0,1–0,6 мкм) многократно извитые клетки. Передвижение их в жидкой среде обеспечивает аксиальная нить. Встречаются аэробы, облигатные и факультативные анаэробы, хемоорганотрофы. Виды рода *Spirocheta* (длина клеток до 500 мкм) преимущественно представлены сапрофитными водными формами, виды рода *Treponema* (длина клеток до 16 мкм) – паразиты, вызывающие опасные

заболевания человека (например, *Treponema pallidum* – возбудитель сифилиса).

К группе «Грамотрицательные аэробные (или микроаэрофильные) палочки и кокки» относится ряд семейств, в том числе содержащие азотфиксирующие фрмы. Семейство *Azotobacteriaceae* включает свободноживущие аэробные азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter* – крупные (шириной до 2 мкм) палочки, склонные изменять свою форму в зависимости от возраста культуры, облигатные аэробы, хемоорганотрофы. Представители рода *Azotobacter* выделяют большое количество слизи, формирующей макрокапсулу на поверхности клетки; они способны образовывать цисты. Свободноживущие азотфиксирующие микроорганизмы фиксируют по 15–18 кг азота на 1 га.

Семейство *Rhizobacteriaceae* представлено симбиотическими клубеньковыми азотфиксирующими микроорганизмами рода *Rhizobium*, входящими в симбиоз с бобовыми растениями и вызывающими опухолевидные разрастания клеток паренхимы коры корня. В результате симбиотической азотфиксации за счет посевов бобовых культур в почве накапливается до 70–80 кг азота на га.

Группа «Факультативные анаэробные грамотрицательные палочки» включает семейство *Enterobacteriaceae*. Энтеробактерии – это подвижные или неподвижные бесспорные палочки, хемоорганотрофы, аэробы или факультативные анаэробы. *Escherichia coli* входит в состав микрофлоры кишечника человека и животных, *Shigella* и *Salmonella* являются возбудителями острых кишечных заболеваний (дизентерии и брюшного тифа, салмонеллезов). Бактерии *Escherichia coli* используют как санитарный показатель загрязнения внешней среды (коли-индекс, коли-титр). Наличие бактерий указывает на загрязнение воды фекальными массами и возможную опасность возникновения острых кишечных инфекций – дизентерии, брюшного тифа, холеры и т. п.

Группа «Риккетсии и хламидии» объединяет представителей с плеоморфными, неподвижными, очень мелкими (сравнимы по размерам с крупными вирусами) клетками. Аэробы. Культивируются на специальных средах или в культуре клеток позвоночных, поскольку являются облигатными внутриклеточными паразитами и потребляют макроэргические соединения из клетки-хозяина. *Rickettsia prowazekii* – возбудитель эпидемического сыпного тифа. Виды рода *Chlamydia* – возбудители болезней человека и позвоночных животных (трахома, орнитоза). Большинство из них является непатогенными паразитами.

В группу «Скользящие бактерии, образующие плодовые тела» входят роды *Mucococcus*, *Polyangium*, *Chondromyces* и др. из семейства *Mucobacteriaceae*. Миксобактерии являются аэробами, хемоорганотрофами. В цикле их развития после ряда делений многочисленные палочки объединяются в плодовые тела грибовидной или древовидной формы диаметром до 1 мм, нередко окрашенные в желтый, розовый, красный цвет, затем клетки в плодовых телах укорачиваются, покрываются толстой оболочкой, превращаясь в цисты (миксоспоры), которые после высыхания слизи разносятся ветром. Миксобактерии принимают активное участие в аэробном разложении целлюлозы, белков, хитина, нуклеиновых кислот.

Класс *Anoxyphotobacteria* включает группу «Аноксигенные фототрофные бактерии», объединяющие фототрофные бактерии относятся к трем семействам: *Chlorobiaceae* – зеленые серные бактерии; *Chromatiaceae* – пурпурные бактерии; *Rodospirillaceae* – несерные пурпурные бактерии.

Пурпурные и зеленые бактерии осуществляют аноксигенный фотосинтез (без выделения кислорода), используя в качестве донора электронов не воду, а H_2S , H_2 или другие вещества. Пурпурные и зеленые бактерии содержат в клетках бактериохлорофиллы, способные поглощать инфракрасные лучи и

каротиноиды. Фототрофные бактерии обитают преимущественно в водоемах. На сегодняшний день известно более 50 видов.

Класс *Oxypotobacteria* включает группу «Оксигенные фототрофные бактерии», представленную цианобактериями.

Цианобактерии – морфологически разнообразная группа, включающая одноклеточные, колониальные (*Gloeocapsa*, *Chroococcus*, *Microcystis*) и многоклеточные формы (*Nostoc*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*). Клетки могут быть сферическими, палочковидными или изогнутыми, одиночными или образующими скопления, удерживаемые совместно после ряда делений с помощью окружающего их общего чехла. Многоклеточные формы имеют нитевидное строение. Нити (трихомы или филаменты) бывают простые или ветвящиеся. У ряда многоклеточных имеются особые клетки – гетероцисты, у которых изменяются оболочки и внутреннее строение (нарушается структура ДНК), вследствие чего эти клетки неспособны делиться. Главная особенность гетероцист – наличие ферментной системы фиксации молекулярного азота. Встречаются и одноклеточные азотфиксирующие цианобактерии. Для разных представителей этой группы прокариот характерна способность к скользящему движению, осуществляющемуся по твердому субстрату без помощи жгутиков. Подобно зеленым растениям, цианобактерии осуществляют фотосинтез с выделением молекулярного кислорода (используют в качестве донора электронов воду). В клетках содержат фотосинтетические пигменты – хлорофилл а, каротиноиды и фикобилипротеиды.

Отдел *Firmicutes* объединяет грамположительные бактерии с довольно толстой клеточной стенкой, содержащей до 90 % пептидогликана, соединенного с тейхоевыми кислотами. Бактерии чувствительны к пенициллину. Клетки могут быть разной формы: кокки, палочки, нитевидные, ветвящиеся. Большинство из них неподвижны; подвижные формы имеют перитрихальное жгутикование. Некоторые виды образуют эндоспоры. Отдел состоит из двух классов: *Firmibacteria* и *Thallobacteria*.

Класс *Firmibacteria* включает большое количество неветвящихся грамположительных бактерий. Например, из семейства *Streptococcaceae*, *Bacillaceae*, *Clostridiaceae*, *Lactobacillaceae* и др.

В группу «Грамположительные палочки и кокки, образующие эндоспоры» среди прочих входит род *Clostridium* семейства *Clostridiaceae*, объединяющий подвижные палочки размером в среднем 3–8 мкм. При спорообразовании они нередко приобретают форму веретена (кlostридиальный тип спороношения) или барабанной палочки (плектридиальный тип спороношения). Бактерии облигатные анаэробы, хемоорганотрофы, большинство сапрофиты. Представители рода *Clostridium* обитают в почвах, являются возбудителями маслянокислого брожения и участвуют в процессах трансформации углеродсодержащих соединений (целлюлозы, клетчатки, пектина), а также азотфиксации (например, *Clostridium pasteurianum*).

К группе «Грамположительные палочки правильной формы, не образующие спор» относятся представители семейства *Lactobacillaceae*. Эти бактерии представлены одиночными или объединенными в цепочки палочки, строгие или факультативные аэробы, хемоорганотрофы, растут на сложных средах (нуждаются в углеводах, витаминах, солях, аминокислотах). К этой группе относятся молочнокислые бактерии, широко распространенные в почве, молоке, кишечнике животных. Они используются при изготовлении кисломолочных продуктов, квашении овощей и силосовании кормов.

Класс *Thallobacteria* объединяет бактерии, клетки которых способны ветвиться: коринеформные (коринебактерии), микобактерии и актиномицеты.

Например, группа «Актиномицеты» включает бактерий, клетки которых способны к ветвлению, нередко приводящему к образованию мицелия. Нити, образующие мицелий актиномицетов, имеют ширину 0,3–1 мкм, реже

несколько микрометров (грибов – около 50 мкм). Колонии многих актиномицетов окрашены различными пигментами (красным, фиолетовым, черным). Размножаются делением клеток, почкованием или фрагментацией, заключающейся в том, что после многократной репликации ДНК мицелий распадается на мелкие клетки. Для многих актиномицетов характерно образование экзоспор. Многие актиномицеты образуют плотный субстратный мицелий, растающий в питательную среду. У некоторых из них на поверхности колонии вырастает рыхлый воздушный мицелий. Актиномицеты являются хемоорганотрофами.

Отдел *Tenericutes* состоит из одного класса *Mollicutes* и группы «Микоплазмы». Это мельчайшие из известных прокариотических организмов. Размер некоторых составляет иногда всего лишь 0,12 мкм (так называемые минимальные тельца). Микоплазмы лишены клеточной стенки. В связи с этим форма клеток непостоянна: в чистой культуре одного вида одновременно присутствуют шаровидные, палочковидные, дискообразные, нитевидные клетки, нередко ветвящиеся. Пограничный слой микоплазм представлен эластичной цитоплазматической мембраной. Основным компонентом липидной фракции мембран является холестерин – полициклический спирт (C₂₇H₄₅OH).

Представители семейства *Mycoptasmataceae* нуждаются в холестерине, тогда как для семейства *Acholeplasmataceae* характерна независимость роста от экзогенного холестерина, однако и они включают его в мембраны, если он присутствует в среде.

Большинство видов, относящихся к роду *Mycoplasma*, паразиты или симбионты животных и растений. *Mycoplasma pneumoniae* – возбудитель ОРЗ. Встречаются и сапрофитные формы, обитающие в почве и горячих источниках, при температурном оптимуме около +60 °С.

Отдел *Mendosicutes* состоит из одного класса *Archaeobacteria*, объединяющего около 23 родов и более 50 видов, относящихся к группам 31–35 (таблица 2.1). Среди археобактерий преобладают сферические и цилиндрические клетки, а также необычные плоские клетки, имеющие вид пластинок и коробочек разнообразной геометрической формы, сходные с кусочками битого стекла. По внутренней ультраструктуре археобактерии сходны с грамположительными бактериями.

Впервые археобактерии стали известны в 1977 г. благодаря работам американских ученых К. Вёза и Г. Фокса по изучению молекулярно-биохимических свойств биополимеров клеток разных видов бактерий. Ведущую роль в их открытии сыграл анализ состава и определение последовательности нуклеотидов в 16S рРНК. Установлено, что археобактерии обладают рядом уникальных общих свойств, благодаря которым их выделили в отдельный класс. Этот ряд признаков столь существенен, что некоторые авторы выделяют археобактерии в отдельное царство.

Наиболее существенные особенности археобактерий:

1. Состав и первичная структура 16S рРНК и тРНК. В тРНК археобактерий изменена общая для всех других организмов петля тимин-псевдоуридин-цитидин, в которой вместо тимина присутствуют другие основания.

2. Химический состав клеточной стенки. Клеточная стенка археобактерий ригидная, т. е. не содержит пептидогликана муреина. Вместо муреина в состав клеточной стенки входят кислые полисахариды, белки или псевдомуреин, не содержащий, в отличие от муреина, мурамовой кислоты, а в пептидных мостиках – D-аминокислот. Это определило устойчивость археобактерии к антибиотикам, нарушающим синтез клеточных стенок у эубактерий.

3. Липиды цитоплазматической мембраны не содержат жирных кислот и

представлены простыми эфирами глицерина и остатков С₂₀-спирта дигидрофитола либо тетраэфирами, состоящими из двух остатков глицерина и двух одинаковых цепей С₄₀-спирта бифитанилдиола (в этом случае мембрана содержит как бы один липидный слой).

4. Некоторые коферменты архебактерий уникальные – не встречаются у других организмов. Например, метаногенные бактерии синтезируют не встречающиеся у других организмов коферменты – кофермент М, никельтетрапиррольный фактор F430, фактор F420 (производное 5-деазафлавина), тетрагидрометанооптерин, метанофуран и др.

Архебактерии неспособны использовать сложные высокомолекулярные соединения. Среди них не обнаружено активных продуцентов гидролитических ферментов, что, возможно, является одной из причин отсутствия патогенных и паразитических форм. Архебактерии занимают необычные, часто экстремальные по условиям окружающей среды высокоспециализированные экологические ниши. В настоящее время к архебактериям отнесены несколько физиологических групп микроорганизмов: метаногенные, анаэробные серовосстанавливающие бактерии, экстремальные термофилы, метаболизирующие молекулярную серу, термоацидофильные микоплазмы, экстремально галофильные бактерии.

Тема 6. Экология прокариот

- Влияние физических и химических факторов среды на бактерии
- Взаимоотношения микроорганизмов
- Микроорганизмы и высшие растения
- Взаимоотношения микроорганизмов с животными

Влияние физических и химических факторов среды на бактерии

Отношение к молекулярному кислороду. Большинство прокариотных организмов являются *облигатными (обязательными) аэробами*, т. е. для их роста необходим кислород. Среди облигатных аэробов обнаружены существенные различия в отношении к уровню молекулярного кислорода в среде. 100 % молекулярный кислород подавляет рост всех облигатных аэробов. Многие аэробные бактерии могут формировать колонии на поверхности твердой питательной среды в атмосфере, содержащей до 40 % O₂, но рост их прекращается, когда содержание O₂ в атмосфере доходит до 50 %.

Микроаэрофилы не способны к росту при концентрации кислорода, равной атмосферной (21 %), но могут расти, если содержание кислорода в окружающей среде будет порядка 2 %. Многие аэробные азотфиксирующие бактерии могут расти в среде с молекулярным азотом только при концентрации кислорода ниже 2 %, т. е. как микроаэрофилы, однако в присутствии связанного азота, например, аммонийного, развиваются на воздухе при концентрации кислорода 21 %. Это объясняется ингибирующим действием молекулярного кислорода на активность нитрогеназы – ферментного комплекса, ответственного за фиксацию N₂.

Для *облигатных (строгих) анаэробов* для метаболизма O₂ не нужен. К ним относятся метанобразующие, сульфатвосстанавливающие, маслянокислые и некоторые другие бактерии. Облигатные анаэробы могут получать энергию как в процессах брожения, так и в результате анаэробного дыхания, когда в качестве конечного акцептора электронов в процессе дыхания выступает не кислород, а другие акцепторы (CO₂, SO₄²⁻, фумарат и т. п.). Многие из облигатных анаэробов не выносят присутствия даже незначительных количеств молекулярного кислорода в среде и быстро погибают. Некоторые бактерии, обладающие метаболизмом только анаэробного типа, например молочнокислые, могут расти в присутствии воздуха и являются аэротолерантными анаэробами.

Факультативные анаэробы, или факультативные аэробы, могут расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, приспособившись в зависимости от наличия или отсутствия кислорода в среде переключаться с одного метаболического пути на другой. Представителями этой физиологической группы прокариот являются энтеробактерии, которые в аэробных условиях получают энергию в процессе дыхания, а в анаэробных условиях источником энергии для них служат процессы брожения или анаэробного дыхания.

Влияние температуры. Большинство известных видов прокариот относится к *мезофилам*, у которых оптимальные температуры роста лежат между 30 °C и 40 °C, а температурный диапазон, в котором рост возможен, находится между 10 °C и 45 °C. Типичным мезофилом является *Escherichia coli*: нижняя граница роста 10 °C, верхняя 42 °C, оптимальная температура 37 °C.

Область температур роста психрофилов лежит в пределах от $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выше. В свою очередь, психрофилы делятся на облигатные и факультативные. Облигатные психрофилы не способны к росту при температуре выше $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, а верхняя температурная граница роста факультативных психрофилов намного выше, но представители обеих групп способны к росту при $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и минусовых температурах. Облигатные психрофилы приспособились к устойчивым холодным условиям (глубины морей и океанов, ледяные пещеры). Напротив, психрофилы второго типа приспособились к обитанию в неустойчивых холодных условиях. Способность психрофилов расти в условиях низких температур обусловлена низкой температурной активностью ферментных белков и увеличением в последних содержания ненасыщенных жирных кислот в мембранных липидах, что позволяет мембранам сохранять функционально активное жидкокристаллическое состояние при низких температурах.

Группу *термофилов* делят на четыре подгруппы. Термотолерантные виды растут в пределах от $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $50\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$, оптимальная область лежит в пределах $35\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Факультативные термофилы имеют максимальную температуру роста между $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, но способны также к размножению при комнатной температуре ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$); оптимум приходится на область температур, близких к верхней границе роста. К *облигатным термофилам* относят виды, обнаруживающие способность расти при температуре до $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ и не растущие при температуре ниже $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Представители облигатных термофилов – *Bacillus acidocalaarius*, *Thermoplasma acidophila*, *Synechococcus lividus* и др.

Экстремальные термофилы развиваются при температуре выше $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Для них характерны следующие температурные параметры: оптимум в области $70\text{--}75\text{ }^{\circ}\text{C}$, минимальная граница роста $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выше, максимальная – $80\text{--}90\text{ }^{\circ}\text{C}$. К экстремальным термофилам относятся роды *Thermus*, *Thermomicrobium*, *Thermothrix* и др.

У термофильных прокариот в клетке преобладают термостабильные структурные белки и компоненты, возрастает содержание насыщенных жирных кислот в клеточных мембранах, липиды термофилов имеют более высокие температуры плавления, что способствует термостабильности мембран.

Снижение или повышение температуры за пределы минимума и максимума соответственно отражается на жизнедеятельности микроорганизмов. При снижении температуры прокариоты чаще всего не погибают, а впадают в состояние анабиоза. Критическое повышение температуры вызывает повреждение липидной фракции цитоплазматических мембран, нарушает структуры нуклеиновых кислот, инактивирование ферментов, коагуляцию белков, отмирание клеток. Наиболее устойчивы к действию высоких температур споры бактерий.

На действии высоких температур основано применение метода *стерилизации*– прокаливание, или фламбирование, производится непосредственно перед использованием игл, шпателей, ножниц, пинцетов, покровных стекол, стеклянных палочек и др.; т. е. полное уничтожение микроорганизмов и их спор в питательных средах, посуде и др. Известно несколько способов стерилизации:

– прокаливание, или фламбирование, производится непосредственно перед использованием игл, шпателей, ножниц, пинцетов, покровных стекол, стеклянных палочек и др.;

– стерилизация сухим жаром производится в печи Пастера или электросушильных шкафах при обработке посуды и сухих материалов. При этом колбы, пробирки закрывают ватными тампонами, посуду заворачивают в бумагу или помещают в особые пеналы, где она может храниться после стерилизации;

– стерилизация текучим паром выполняется в аппарате Коха в течение

трех дней по 30 мин. ежедневно при температуре 100 °С;

– стерилизация насыщенным паром под давлением – осуществляют в автоклаве (надежной стерилизации достигают нагреванием при 120 °С и давлении 1 атм в течение 20 мин.);

– пастеризация представляет собой нагревание при 65–80 °С 30 мин. с последующим быстрым охлаждением до 10–11 °С;

– стерилизация фильтрованием через микропористые фильтры (например, фильтры из каолина, свечи Шамберлана) применяется при обработке сред, компоненты которых легко разлагаются при нагревании.

Влияние гидростатического давления. Высокие значения гидростатического давления приводят к разрушению клеточных структур, происходит денатурация белков, прекращается деление, и клетки приобретают нитевидную форму. Однако существуют бактерии, которые живут на глубине 7000 м и более, где давление достигает более 1000 атмосфер. Из осадков на дне океанов выделяют бактерии двух групп: баротолерантные и барофильные. *Баротолерантные* бактерии размножаются как при обычном, так и при давлении в несколько сот атмосфер. *Барофильные* (менее многочисленная группа) при давлении в сотни атмосфер дают больший урожай биомассы, чем при атмосферном давлении. Например, барофильными являются бактерии вида *Vacillus submarinus* – обитатели глубоководных впадин морей и океанов.

Влияние осмотического давления. Концентрация веществ, растворенных в окружающей среде, оказывает большое влияние на жизнеспособность микроорганизмов: чем концентрированнее раствор, тем труднее клетке поглощать из него воду. В гипертонических растворах, в которых осмотическое давление больше, чем в клетке, происходит обезвоживание клеток (плазмолиз) и полное прекращение роста.

Осмофильные микроорганизмы способны нормально развиваться в достаточно концентрированных растворах. Осмофильные микроорганизмы, для которых требуется высокое содержание NaCl, получили название галофильных. К экстремальным галофилам относятся бактерии из родов *Halobacterium* и *Halococcus*, живущие в растворах NaCl при концентрациях, близких к насыщающим. У таких бактерий концентрация солей в цитоплазме равна концентрации внешнего раствора, однако в клетках преобладает не натрий, а калий. В составе белков галофильных бактерий содержание кислотных групп преобладает над основными. Высокие концентрации солей необходимы галофилам для поддержания каталитической активности ферментов, стабилизации мембран и рибосом. Галофильные бактерии обнаружены в соленых озерах, в солончаковых почвах. Они обычно вызывают порчу соленой рыбы и мяса.

Чем выше осмотическое давление раствора, тем меньше активность воды a_w (для дистиллированной воды $a_w=1$). Разные микроорганизмы могут жить при a_w от 0,60 до 0,99. Большинство видов бактерий хорошо растет на средах с высоким значением a_w – от 0,99 до 0,93. Чем выше a_w , тем хуже их рост. Минимальная активность воды, при которой еще возможен рост, для *Escherichia coli*, как и для многих других бактерий, составляет 0,93–0,96, а для грибов и галофильных бактерий минимум a_w лежит в более низкой области (0,62–0,88).

Влияние звука. Ультразвук (высокочастотные, более 16 кГц, механические колебания упругой среды) при воздействии на микроорганизмы создает большую разницу в давлении на отдельные части клеток и повреждает их: разжижается и вспенивается цитоплазма, разрушаются поверхностные структуры, содержимое клетки смешивается с окружающей средой. Чувствительность микроорганизмов к ультразвуку пропорциональна частоте колебаний и длительности воздействия зависит также и от их индивидуальных особенностей и физиологического состояния. Чем крупнее клетки, тем более

чувствительны они к воздействию ультразвука; палочки и извитые формы более чувствительны, чем кокки. При длительном воздействии наблюдается полная гибель микроорганизмов, что используется в целях стерилизации. Ультразвук применяют и для разрушения клеток с целью извлечения из них некоторых биологически активных веществ.

Влияние излучения. Эффекты, вызываемые облучением живых организмов, зависят от длины волны излучения и его дозы. Излучение в области длин волн от 300 до 1100 нм, приходящееся в основном на видимый свет, обеспечивает возможность осуществления упорядоченных реакций при поглощении его подходящими для этого системами. В организмах излучение в этом диапазоне индуцирует процессы фотосинтеза, фототаксиса, фотореактивацию ДНК, синтез некоторых макромолекул. Для излучений с длиной волны больше 1100 нм не зарегистрировано каких-либо биологических эффектов. Основное действие инфракрасного излучения – нагревание. Действие коротковолнового излучения на организмы приводит к возникновению мутаций или вызывает смертельный (летальный) исход из-за необычайно высокой фотохимической активности этого вида излучения, приводящего к модификации или разрушению поглотивших его органических молекул.

Фотосинтез, сопровождающийся выделением O_2 , свойственный всем эукариотным организмам и двум группам прокариот (цианобактерии и прохлорофиты), возможен в диапазоне от 300 до 750 нм. Для прокариот, способных к осуществлению бескислородного фотосинтеза, диапазон излучений, обеспечивающих фотосинтетическую активность, увеличивается в сторону более длинных волн, захватывая ближнюю – инфрокрасную область: для зеленых бактерий вплоть до 840 нм, пурпурных бактерий – до 920 нм, а для некоторых представителей этой группы – до 1100 нм.

Свет в диапазоне от дальнего ультрафиолета до дальней красной области оказывает влияние на разнообразные жизненные функции (подвижность, циклы развития, синтез каротиноидов) не только фототрофных, но и хемотрофных прокариот. Фоторецепторами, запускающими или контролирующими определенные метаболические пути, служат разные типы молекул: флавины, каротиноиды, порфирины. Солнечная радиация в диапазоне 220–300 нм, достигающая Земли, активно поглощается также молекулами белков и нуклеиновых кислот. При облучении более низкими дозами основной причиной инактивации клеток служит повреждение ДНК.

Отношение к кислотности среды. Кислотность среды определяется концентрацией водородных ионов, выражаемой рН, действует на организм прямо (непосредственное воздействие H^+) или косвенно: через влияние на ионное состояние и доступность многих неорганических ионов и метаболитов, стабильность макромолекул, равновесие электрических зарядов на поверхности клетки.

При низких значениях рН растворимость углекислоты, являющейся основным или даже единственным источником углерода для автотрофных прокариот, понижается, а растворимость некоторых ионов, например, Cu^{2+} , Mo^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , возрастает и достигает уровней, токсичных для многих прокариот. Наоборот, при высоких значениях рН растворимость многих катионов (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}), необходимых клетке, резко понижается, они выпадают в осадок и, таким образом, становятся недоступными для организма. Такие прокариоты считаются *кислотоустолерантными* или *щелочетолерантными*. К кислототолерантным относятся многие бактерии, продуцирующие органические кислоты, например, уксуснокислые, молочнокислые и др. Щелочетолерантны многие из энтеробактерий, устойчивые к величинам рН, близким к 9–10, что рН влияет на состояние веществ в окружающей среде. Многие нетоксичные в норме органические

кислоты в кислой среде находятся в недиссоциированной форме, в которой легко проникают в клетку, становясь токсичными для нее. Концентрация H^+ внешней среды влияет и на равновесие электрических зарядов на поверхности клетки: при низких значениях рН увеличивается суммарный положительный заряд, при высоких – суммарный отрицательный заряд.

В мировом океане и на большей части суши концентрация водородных ионов поддерживается в довольно узком диапазоне, оптимальном для роста большинства прокариот, предпочитающих нейтральные или слабощелочные условия. Умеренно кислые природные среды, имеющие рН около 3–4, характерны для озера, кислых болот, некоторых истощенных почв. Природные щелочные условия обычно связаны с почвами, обогащенными щелочными минералами, экскрементами животных, разлагающимися белками. Щелочная реакция почв может быть результатом полного окисления органического вещества в условиях повышенной аэрации и высокой температуры. В таких почвах рН может достигать 10. Обнаружены также щелочные озера и источники, рН которых 8–11. Из таких мест выделены представители в основном рода *Bacillus*, активно разлагающие белки с выделением аммиака, а также бактерии, восстанавливающие нитрат и сульфат. Цианобактерии обильно растут в природных средах с рН 7,5–10. Для некоторых из них оптимум показателя составляет около 10.

Типичными представителями облигатных *ацидофилов* являются бактерии рода *Thiobacillus*. Факультативно автотрофная серуокисляющая бактерия *Sutfolobus acidocaldarius* растет в области рН от 1 до 5,8.

К облигатным *алкалофилам* относят некоторых представителей рода *Bacillus*, возбудителя холеры – *Vibrio cholerae* и др.

Основными барьерами на пути высоких концентраций H^+ и OH^- внешней среды у облигатных ацидо- и алкалофилов служат клеточная стенка и цитоплазматическая мембрана.

Антисептики – химические соединения, оказывающие губительное действие на микроорганизмы. Действие антисептиков на бактерии может быть двояким. Бактериостатическое действие антисептиков прекращает рост и размножение микробных клеток, но не вызывает их гибели. Бактерицидное действие антисептиков вызывает гибель микроорганизмов, что нередко сопровождается лизисом клеток. Эффект действия антисептика зависит от его природы, концентрации, продолжительности действия и сопутствующих факторов среды.

Наиболее сильными антисептиками неорганического происхождения являются соли тяжелых металлов (ртути, свинца, цинка, мышьяка и др.) и окислители (хлор, хлорная известь, хлорамин, спиртовой раствор йода, перманганат калия, пероксид водорода). Соли тяжелых металлов, проникая в клетку, вступают в соединение с белками, образуя нерастворимые в воде альбуминаты, что приводит к коагуляции белков и оказывают сильное ингибирующее действие на ферменты, что ведет в большинстве случаев к гибели микроорганизма.

Антисептиками органического происхождения являются этиловый и изопропиловый спирты, фенол (карболовая кислота), крезол и его производные, формальдегид. Например, фенол растворяет липиды цитоплазматической мембраны клетки, нарушая ее полупроницаемость, а также присоединяется к аминок группам белков, вызывая их денатурацию. Чаще всего подобные изменения ведут к гибели клеток.

Антисептики нашли широкое применение для обеззараживания воды, дезинфекции помещений, инструментов и оборудования, при изготовлении перевязочного материала, фильтров, спецодежды, обработки ран и т. п.

Взаимоотношения микроорганизмов

Типы взаимоотношений между организмами. В процессе эволюции сформировались многообразные взаимоотношения между определенными видами и группами микроорганизмов. Совместное существование различных организмов бывает ассоциативным или конкурентным.

Ассоциативные взаимоотношения – взаимно благоприятные взаимоотношения микроорганизмов, которые в природе встречаются очень часто. Среди них выделяют несколько более узких форм: метабиоз, собственно симбиоз, комменсализм и сателлизм.

Метабиоз – это взаимоотношения, при которых один микроорганизм своей жизнедеятельностью создает условия для развития другого, как правило, продолжающего процесс, начатый первым. Например, клетчаткоразрушающие бактерии, разлагая целлюлозу, накапливают в среде различные сахара и органические кислоты, необходимые в качестве источника углерода для развития азотобактера.

Симбиоз подразумевает тесные ассоциативные взаимоотношения микроорганизмов, стимулирующих и сдерживающих развитие друг друга. Симбионты совместно всегда развиваются лучше, чем каждый из них в отдельности. Иногда симбиоз становится настолько глубоким, что организмы утрачивают способность развиваться самостоятельно. Например, молочнокислые бактерии кефирных зерен, образуя молочную кислоту, подкисляют среду и тем самым стимулируют развитие дрожжей. Последние синтезируют аминокислоты и витамины, необходимые для питания молочнокислых бактерий.

Комменсализм – взаимоотношения, при которых взаимная польза совместно существующих микроорганизмов не выражена отчетливо, но они и не причиняют вреда друг другу. Примером комменсализма может служить нормальная микрофлора кишечника человека и животного.

Сателлизм – разновидность ассоциативных взаимоотношений, предусматривающая стимуляцию одного микроорганизма другим. Например, сарцины, продуцирующие различные аминокислоты и витамины, способствуют размножению более требовательных к питательному субстрату уксуснокислых бактерий.

Конкурентные взаимоотношения микроорганизмов проявляются в разной форме антагонизма, антибиоза и паразитизма.

Антагонизм – это отношения, при которых один микроорганизм своей жизнедеятельностью подавляет развитие другого. Антагонистические отношения между микроорганизмами возникают в борьбе за вещества питательного субстрата, за использование молекулярного кислорода, за экологическую нишу и встречаются в почве, в водоемах, в организмах животных и человека. Например, парное молоко содержит 94–96 % гнилостных бактерий и только 4–6 % молочнокислых. Однако через 24–36 ч молочнокислые бактерии, продуцирующие молочную кислоту, подавляют развитие гнилостной микрофлоры и сводят ее содержание до минимума (около 4 %).

В основе *антибиоза* лежит выделение одним микроорганизмом вещества, токсичного для другого. Именно на этом свойстве микроорганизмов основано применение арсенала современных антибиотических препаратов.

Паразитизм является крайним проявлением конкурентных взаимоотношений микроорганизмов. При паразитизме один микроорганизм использует другой как источник питательного субстрата, что нередко сопровождается гибелью жертвы. Например, бактерия *Bdellovibrio bacteriovorum* паразитирует на многих грамположительных и

граммотрицательных бактериях. Настигнув бактерию-жертву, паразит пробуравливает клеточную стенку, внедряется в клетку и размножается в ней.

При конкурентных взаимоотношениях между микроорганизмами важная роль принадлежит бактериоцинам. Впервые в 1925 г. А. Грация обнаружил бактериоцины у *Escherichia coli*. Бактериоцины – это вещества белковой природы или белок в комплексе с липополисахаридами, обладающие антибактериальной активностью. Большинство бактериоцинов оказывают свое действие, не проникая внутрь клетки. Они передают сигнал на мишень действия посредством цитоплазматической мембраны. Бактериоцины характеризуются узким спектром действия, т. е. действуют только на близкородственные бактерии.

В настоящее время способность к синтезу бактериоцинов обнаружена у различных видов грамотрицательных и грамположительных бактерий. Бактериоцины называют в большинстве случаев в соответствии с видовой принадлежностью бактерий-продуцентов: колицины – *Escherichia coli*, марцесцины – *Serratia marcescens*, флюоцины – *Pseudomonas fluorescens* и т. д.

По механизмам действия на бактериальную клетку бактериоцины подразделяют на бактериоцины, ингибирующие окислительное фосфорилирование в цитоплазматической мембране; бактериоцины, разрушающие ДНК; бактериоцины, блокирующие синтез белков; бактериоцины, нарушающие полупроницаемость цитоплазматической мембраны.

Синтез большинства бактериоцинов детерминируется особыми плазмидами, названными бактериоциногенными факторами (например, плазида Col-фактор).

Антибиотики – высокоактивные метаболиты микроорганизмов, избирательно подавляющие рост многих бактерий, единичных вирусов и некоторых опухолей. Продуцентами антибиотиков являются актиномицеты (стрептомицин, левомицетин, тетрациклины, канамицин, эритромицин), плесневые грибы (пенициллины и цефалоспорины) и бактерии (грамицидин С и полимиксины).

Механизм действия антибиотиков на микроорганизмы различен. Пенициллины и цефалоспорины подавляют синтез пептидогликана клеточной стенки бактерии. Грамицидин, нистатин, денорин, полимиксины нарушают функции цитоплазматической мембраны. Стрептомицин, тетрациклин, канамицин, гентамицин, левомицетин ингибируют синтез белков на рибосомах бактериальной клетки. Антибиотики типа новобиомицина, мигомицина С, порфирамицина способны подавлять репликацию ДНК и синтез РНК бактериальной клетки.

По характеру антимикробного эффекта выделяют антибиотики узкого и широкого спектра действия. Антибиотики с узким спектром действия, например, пенициллины, подавляют рост грамположительных кокков и бактерий, грамотрицательных кокков и спирохет, но не действуют на кислотоустойчивые и грамотрицательные бактерии, микоплазмы, риккетсии и простейших. Антибиотики широкого спектра действия, например, тетрациклины, подавляют рост многих грамположительных, грамотрицательных и кислотоустойчивых бактерий, а также рост риккетсий, хламидий и микоплазм.

За единицу действующего начала антибиотика (1 ЕД) принимают наименьшее количество препарата, подавляющего рост стандартного штамма тест-микроба. Для большинства антибиотиков 1 ЕД обычно соответствует 1 мкг химически чистого препарата. В качестве тест-микроба для пенициллинов служит *Staphylococcus aureus*, для стрептомицина и ряда других антибиотиков – *Escherichia coli*.

Антибиотики можно производить либо биологическим путем

(выращивание активных штаммов продуцентов на питательной среде с дальнейшей очисткой и концентрированием препарата), либо путем химического синтеза. Выделяют также группу полусинтетических антибиотиков, стойких к действию ферментов бактериальной клетки, например, полусинтетические пенициллины – метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин.

Антибиотикорезистентность бактерий обусловлена мутациями в генах, кодирующих синтез белков, веществ клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и других структурных компонентов бактериальной клетки. Появлению антибиотикорезистентности способствует широкое и бесконтрольное применение лекарственных препаратов, а также использование их в качестве стабилизаторов в пищевых продуктах и добавок в корма животных для усиления их роста.

К веществам легкого антибиотического действия относятся фитонциды, выделяемые растениями (луком, чесноком, хреном), а также некоторые препараты животного происхождения (лизоцим, эритроин, экмолин).

Микроорганизмы и высшие растения

Растения выделяют во внешнюю среду различные органические соединения (сахара, органические кислоты, нуклеотиды, аминокислоты, витамины, стимуляторы роста и т. п.), которые могут выступать в качестве субстрата для питания микроорганизмов. Корневая система и наземные органы растений обильно населены микроорганизмами (микрофлора зоны корня и эпифитная микрофлора соответственно).

Микрофлору ризопланы составляют микроорганизмы микрофлоры зоны корня, непосредственно поселяющиеся на поверхности корня. *Микрофлору ризосферы* образуют микроорганизмы микрофлоры зоны корня, населяющие область почвы, прилегающей к корню. Микрофлора ризосферы принимает участие в процессах трансформации органических веществ в почве, обеспечивает растения необходимыми элементами минерального питания и некоторыми биологически активными веществами. Также микроорганизмы ризосферы разлагают многие токсичные для растений соединения, обеззараживая почву.

На численность и групповой состав микрофлоры ризопланы и ризосферы оказывает влияние тип почвы, климатические условия, характер растительного покрова и стадия развития растений. Например, в ризосфере пшеницы ведущая роль принадлежит микобактериям, в то время как в ризосфере клевера преобладают флюоресцирующие бактерии рода *Pseudomonas*.

Эпифитную микрофлору растений составляют микроорганизмы, развивающиеся на поверхности стеблей и листьев растений. Микроорганизмы-эпифиты вынуждены довольствоваться минимальными источниками питательного субстрата, представленного выделениями растительных тканей и веществами-загрязнителями (пылью). Поэтому состав эпифитной микрофлоры весьма специфичен. Эпифитная микрофлора образует определенный биологический барьер, препятствующий заражению растительных тканей фитопатогенными микробами. Нередко 80 % общего количества эпифитов составляют бактерии *Erwinia herbicola*. Второе место по численности занимают различные грибы – *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*. Общая численность эпифитных микроорганизмов резко возрастает при повышении влажности воздуха и усиленном выделении продуктов обмена растительными тканями.

Фитопатогенные микроорганизмы – возбудители болезней растений. Первое место среди фитопатогенных микробов принадлежит грибам, второе место занимают вирусы и бактерии и лишь небольшой процент болезней

растений вызывают актиномицеты. Большинство фитопатогенных микроорганизмов активно синтезируют гидролитические ферменты (пектиназы, целлюлазы, протеазы и др.), вызывающие мацерацию растительных тканей и разрушение клеточных оболочек, что приводит к проникновению возбудителя болезни внутрь клетки. Проникнув в клетку, фитопатогенные микробы нарушают нормальный ход физиологических процессов, прежде всего фотосинтеза и дыхания. Токсины, выделяемые возбудителем болезни, инактивируют ферменты растительной клетки, что приводит ее к гибели.

Взаимоотношения микроорганизмов с животными

Микрофлора человека и животных представлена совокупностью микробоценозов, сформировавшихся в определенных тканях и органах путем отбора микробов, наиболее приспособленных к условиям жизни в организме хозяина. На качественный и количественный состав микрофлоры человека и животных оказывают влияние многие факторы, такие как возраст, пол, особенности питания, климат, условия жизни и др.

Совокупность микроорганизмов, приспособившихся к жизни в организме человека и животных и не вызывающих каких-либо нарушений физиологических функций макроорганизма, носит название нормальной микрофлоры человека и животных, которую подразделяют на облигатную и факультативную.

Облигатная микрофлора включает относительно постоянные сапрофитные и условнопатогенные микроорганизмы, приспособленные к существованию в организме хозяина. Факультативная микрофлора является случайной и временной. Она определяется поступлением микроорганизмов из окружающей среды, а также состоянием иммунной системы макроорганизма.

Нормальная микрофлора в организме человека и животных играет важную роль в формировании естественного иммунитета. Облигатные микроорганизмы, продуцирующие вещества типа антибиотиков, молочную кислоту, спирты, пероксид водорода и другие соединения, обладают ярко выраженными антагонистическими свойствами в отношении многих патогенных бактерий. Например, в толстом кишечнике имеется колоссальное количество микробов, включающих более 260 разных видов факультативных и облигатных анаэробов. За сутки с фекалиями человек выделяет около $17 \cdot 10^{12}$ бактерий, которые составляют треть сухой массы фекалий. Основными обитателями толстого кишечника являются бактероиды, бифидобактерии, фекальный стрептококк, кишечная палочка, а также молочнокислые бактерии, которые выступают в роли антагонистов гнилостной микрофлоры и некоторых патогенных микробов.

Дисбактериоз – качественные и количественные нарушения в составе микробоценозов в организме человека. Дисбактериоз возникает в результате длительного приема антибиотиков, при хронических инфекциях, радиации и неэкстремальных факторов. Развитие дисбактериоза объясняется подавлением облигатной микрофлоры макроорганизма и активным размножением условно-патогенных бактерий (*Proteus*, *Pseudomonas*) и дрожжевых грибов (*Candida*).

Патогенные микроорганизмы способны вызывать заболевания человека, животных или растений. Степень патогенности выражается вирулентностью бактерий, измеряемой условно принятой единицей – минимальная летальная доза, которая равна наименьшему количеству бактерий, способных вызвать в течение определенного времени гибель не менее чем 80–95 % лабораторных животных.

Вирулентность патогенных микроорганизмов теснейшим образом связана

с образованием ими токсинов, способностью к инвазии (проникновению в организм хозяина), формированием капсульной слизи, выделением агрессивных веществ, подавляющих защитные силы организма).

Внедрение патогенных микробов, нарушающих физиологическое равновесие и физиологические функции макроорганизма, приводит к развитию инфекции. Защита организма от инфекционных и других чужеродных агентов (микробов или их токсинов) получила название иммунитета.

Тема 7. Основы вирусологии

- Общая характеристика вирусов. Репродукция вирусов
- Бактериофаги. Прионы
- Тестовые задания по теме «Основы вирусологии»

Общая характеристика вирусов. Репродукция вирусов

Вирусы – это автономные генетические структуры, способные функционировать и репродуцироваться в восприимчивых к ним клетках (бактерий, грибов, растений, животных), используя их генетический и белоксинтезирующий аппарат.

Основные *гипотезы происхождения вирусов*:

1. Вирусы – первичная доклеточная форма жизни, перешедшая к паразитическому образу жизни после появления клеточной формы жизни. Согласно гипотезе, вирусы являются потомками древних, доклеточных форм жизни – *протобионтов*, предшествовавших появлению клеточных форм жизни, с которых и началась биологическая эволюция.

2. Вирусы являются результатом крайнего проявления регрессивной эволюции (деградации) бактерий или других одноклеточных организмов.

3. Вирусы – производные генетических элементов клеток, ставших автономными. Предками, которые дали начало большому разнообразию генетического материала у вирусов, вероятно являются генетические структуры типа плазмид и транспозонов.

Для вирусов характерны две стадии жизненного цикла:

1. *Вирион* – внеклеточная, покоящаяся стадия. Это целая вирусная частица, состоящая в основном из белка и нуклеиновой кислоты, относительно устойчива во внешней среде и приспособлена к переносу генетической информации из клетки в клетку.

2. *Вегетативный вирус* – внутриклеточная, вегетативная, репродуцирующаяся стадия.

Вирусам характерен ряд *уникальных свойств*:

1. *Фильтруемость вирусов*. Это свойство вирусов отражается в таких физических характеристиках, как размеры и молекулярная масса. Размеры вирусов варьируют от 25–35 нм (вирус полиомиелита, вирус энцефалита) до 150–400 нм (вирус натуральной оспы, вирус герпеса, поксвирусы).

2. *Отсутствие клеточного строения*. **Вирионы** не имеют цитоплазмы, клеточных мембран, рибосом и т. д. Основными компонентами любого вириона являются капсид и нуклеиновая кислота.

3. *Наличие одного типа нуклеиновой кислоты в составе вириона*. Вирусы подразделяются на ДНК-геномные и РНК-геномные.

4. *Отсутствие способности к росту и бинарному делению*. Увеличение численности вирионов происходит путем репродукции, которая носит дизъюнктивный (разобщенный) характер.

5. *Вирусы не способны размножаться на искусственных питательных средах*. Вирусы не имеют собственных белоксинтезирующих систем, поэтому их репродукция возможна только в клетке хозяина.

У простых вирусов вирионы представляют собой *нуклеокапсид*, включающий *капсид* и *нуклеиновую кислоту* (рисунок 21 а). У сложных

вирусов вирион имеет нуклеокапсид и дополнительную внешнюю оболочку – *суперкапсид* (пеплос) (рисунок 21 б). Большинство патогенных для человека вирусов сложноустроены.

Капсид вирионов – высокоупорядоченная структура, построенная из белковых субъединиц *капсомеров* по принципам геометрической симметрии. Функция белкового капсида – защита нуклеиновой кислоты вируса от воздействия физических, химических факторов и клеточных нуклеаз.

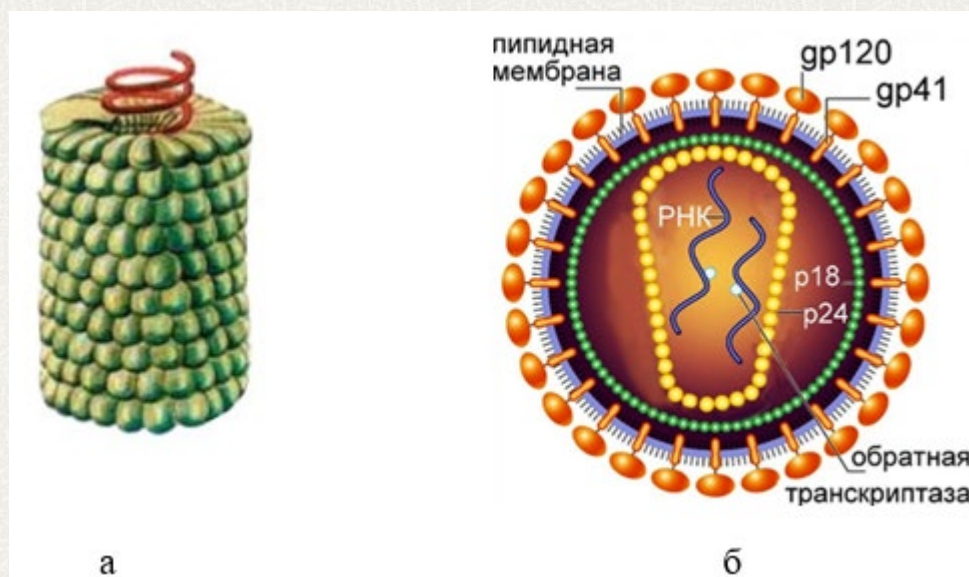


Рисунок 21 – Строение вирионов:
а – вирус табачной мозаики; б – ВИЧ (вирус иммунодефицита человека)

По типу симметрии капсиды делят на три группы: спиральные, икосаэдрические (кубические), капсиды со смешанным типом симметрии.

Суперкапсид, или внешнюю оболочку, имеют многие вирусы животных (вирус гриппа, ВИЧ, рабдовирус) и некоторые вирусы растений. Суперкапсид вирионов, как и клеточная мембрана, состоит из двух липидных слоев, в которые погружены молекулы специфических белков – *шипов* (пепломеров). В большинстве случаев суперкапсид вируса формируется в момент сборки вириона и выхода его из клетки путем отпочковывания от мембраны клетки хозяина.

У большинства вирусов шипики представляют собой гликопротеиды, длина которых достигает 7–10 нм. Например, суперкапсид б ВИЧ несет на себе шипики, представленные двумя гликопротеидами – GP 120 и GP 41; у вируса гриппа два типа шипиков – гемагглютинин (H) и нейраминидаза (N). Шипики выполняют роль прикрепительных белков на поверхности чувствительных клеток, поэтому при их удалении вирус полностью теряет инфекционную активность.

Различают ДНК- и РНК-геномные вирусы. Большинство линейных вирусных ДНК обладает способностью приобрести циркулярную конфигурацию, которая требуется для репликации по вращающемуся кольцевому механизму. У некоторых ДНКвирусов и у РНКретровирусов имеются концевые повторяющиеся последовательности.

Около 80 % вирусов животных и большинство вирусов растений содержат РНК. Способность РНК хранить наследственную информацию является уникальной особенностью вируса. Молекулярная масса РНК варьирует в широких пределах.

Молекулярная масса вирусных ДНК варьирует в широких пределах от $1,10^6$ до $250,10^6$. Самые большие вирусные геномы содержат несколько сотен генов, а самые маленькие – содержат информацию, достаточную для синтеза лишь несколько белков.

Размер геномов одноцепочечных РНКвирусов составляет 1,7–21 т. п. н.,

двухцепочечных – 18–27 т. п. н., что значительно меньше размера генома многих ДНКвирусов. Поэтому РНКвирусы, как правило, кодируют меньше белков, чем ДНКвирусы. Масса генома различных вирусов составляет от 1–32 % от массы вириона.

По структуре различают цельные (рабдо-, пикорнавирусы) и сегментированные (рео-, орто-, тогавирусы) геномы вирусов. У вирусов с сегментированным геномом каждый фрагмент представляет собой один ген, число которых значительно варьирует. Например, полиомавирусы содержат 3–5 генов, пикорнавирусы – 6–8 генов, у Т4-бактериофага – более 30 генов, контролирующих синтез белков оболочки, и не менее 15 генов, контролирующих синтез нуклеотидных предшественников.

Геномы всех вирусов являются гаплоидными, т. е. содержат одну копию каждого гена. Исключение составляют ретровирусы, которые обладают диплоидным геномом.

В отличие от клеток для вирусов характерно многообразие форм вирусных нуклеиновых кислот (таблица 2).

Таблица 2 – Основные типы нуклеиновых кислот вирусов

Типы вирусных ДНК	Типы вирусных РНК
– классическая двунизовая ДНК 	– классическая однонизовая линейная РНК 
– двунизовая линейная ДНК с замкнутыми концами 	– линейная однонизовая фрагментированная РНК 
– двунизовая линейная ДНК с разрывом с несколькими разрывами одной цепи 	– однонизовая сегментированная РНК, но каждый фрагмент замкнут в кольцо 
– двунизовая замкнутая в кольцо ДНК со свехвитками или без них 	– две нити РНК идентичные друг другу 
– двунизовая ДНК, у которой внешняя нить замкнута в кольцо (L-нить), а у внутренней 1/3 отсутствует (S-нить, шорт) 	– двунизовая фрагментированная РНК 
– уникальная, линейная однонизовая ДНК 	
– однонизовая замкнутая в кольцо ДНК 	

РНК-вирусы, содержащие однонитчатые молекулы нуклеиновой кислоты, делятся на две группы:

– «плюс-нитевые» РНК, или РНК с позитивным геномом. Вирионная РНК

одновременно выполняет функцию хранения наследственной информации и является матрицей для синтеза белка. Характерна для пикорнавирусов, тогавирусов, коронавируса, ретровирусов.

– «минус-нитевые» РНК, или РНК с негативным геномом. Вирионная РНК выполняет только функцию хранения наследственной информации и не обладает функцией иРНК. В этом случае функцию иРНК выполняет РНК, комплементарная геному. Синтез этой иРНК (транскрипция) осуществляется в зараженной клетке на матрице геномной РНК с помощью вирусной транскриптазы. «Минус-нитевая» РНК характерна для ортомиксовирусов, парамиксовирусов, рабдовирусов, буньявирусов, ареновирусов. Все они имеют вирионную РНК-зависимую полимеразу (транскриптазу), которая в инфицированной клетке транскрибирует «плюс-нитевую» РНК на матрице геномной вирусной РНК.

Вирусная инфекция представляет собой эволюционно сложившуюся форму взаимоотношений между вирусом и живым организмом, которая проявляется в виде инфекционного процесса (явной или скрытой болезни) или вирусносительства. Способность инфекционных вирусов размножаться и вызывать болезнь зависит от вирулентности (степенью патогенности) вирусов и чувствительности организмов (восприимчивость-резистентность).

Вирусные инфекции отличаются от соматических болезней: контагиозностью (заразностью); эпидемичностью (способностью распространяться); передачей посредством специфического механизма; специфичностью локализации возбудителя в определенных органах и тканях, где возникают характерные для определенной болезни патологические изменения; неповторяемостью в результате возникновения иммунитета.

Взаимодействия вирусов с клеткой хозяина проявляется в следующих формах вирусной инфекции:

– *продуктивная вирусная инфекция* – взаимодействие, в результате которого происходит репродукция вируса, а клетки погибают (цитолитическая форма). Некоторые вирусы выходят из клеток, не разрушая их (нецитолитическая форма);

– *абортивная вирусная инфекция* – взаимодействие, при котором репродукция вируса не происходит, а клетка восстанавливает нарушенную функцию;

– *латентная вирусная инфекция* – взаимодействие, при котором идет репродукция вируса, а клетка сохраняет свою функциональную активность;

– *вирус-индуцированная трансформация* – взаимодействие, при котором клетка, инфицированная вирусом, приобретает новые, ранее не присущие ей; происходит репродукция вирусов.

Процесс размножения вирусных частиц в чувствительных к ним клетках называют *репродукцией* вирусов.

По характеру репродукции вирусной нуклеиновой кислоты в клетке вирусы делят на две группы:

– *вирулентные*, или инфекционные, *вирусы* – геном вирусов после инфицирования остается в цитоплазме или ядре клетки в автономном состоянии (*вирусы с автономной репликацией*). Вирулентные вирусы вызывают продуктивную инфекцию, т. е. угнетают функции клеток, репродуцируются в клетках, деформируют и разрушают их;

– *интеграционные вирусы* – могут встраивать свой геном в геном клетки. Интеграционные вирусы не способны вызывать продуктивную инфекцию, индуцируют злокачественное перерождение клеток (вирусный канцерогенез) или трансформацию их антигенной структуры. При вирусном канцерогенезе после проникновения онкогенного вируса в клетку происходит включение вирусного онкогена в геном клетки и дальнейшая экспрессия онкогена с

превращением клетки в опухолевую. Вирусный канцерогенез характерен для ДНК-вирусов (вирус Эпштейна-Барр, вирусы гепатита В, С, вирус папилломы человека (типы 16, 18, 6, 11, 19, 22) и РНК-вирусы (ретровирусы). У интеграционных вирусов способность к репродукции возникает после исключения (отщепления) их генома от генома клеток.

В цикле репродукции вирулентных вирусов различают четыре стадии:

1. *Стадия адсорбции вируса на клетке.* Взаимодействие вирусов с клетками определяется наличием у них биологического сродства (тропизма) и специфических рецепторов. При помощи *специфических рецепторов* происходит «узнавание» вирусом чувствительных клеток. Рецепторы находятся на поверхности наружной мембраны клеток в большом количестве, не менее 10^4 – 10^5 . По химической структуре рецепторы разнородны – молекулы-белки, углеводные или липидные компоненты протеидов. Адсорбция вирусов на соответствующих рецепторах клетки осуществляется с помощью имеющихся у них *прикрепительных белков* (рисунок 22). У простых вирусов прикрепительные белки содержатся в капсидах, у сложных – в суперкапсидах.

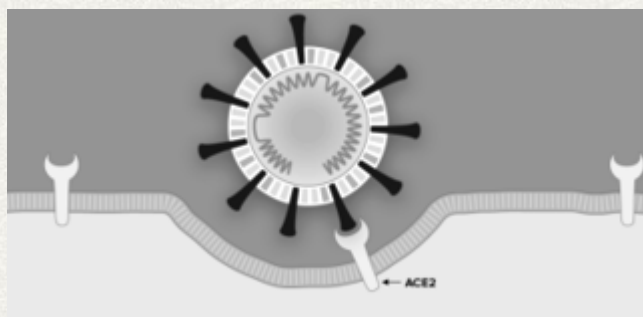


Рисунок 22 – Адсорбция вируса SARS-CoV-2 на рецепторах клеток эпителия

2. *Стадия проникновения вируса в клетку (пенетрация).* Проникновение вируса в цитоплазму клетки реализуется за счет двух механизмов (рисунок 23, 24):

– *виropексис* – это пассивный путь, который представляет собой своеобразную форму **эндоцитоза**. Вирус проникает в клетку путем инвагинации участка цитоплазматической мембраны с образованием вокруг нее вакуоли – эндосомы. Эндосома с вирионом, оказавшись в цитоплазме, поэтапно сливается с более крупной цитоплазматической вакуолью, с лизосомой или же с внутриклеточными мембранами, включая ядерную, высвобождая вирион;

– интеграционный путь за счет *слияния вирусной оболочки с клеточной мембраной* носит активный характер и встречается лишь у тех видов вирусов, которые наделены белками слияния. Белки слияния содержатся в капсидах простых и суперкапсидах сложных вирусов. Наиболее подробно изучен F-белок слияния у парамиксовирусов, который вызывает образование многоядерных **симпластов** и **синцитиев** в однослойных культурах клеток.

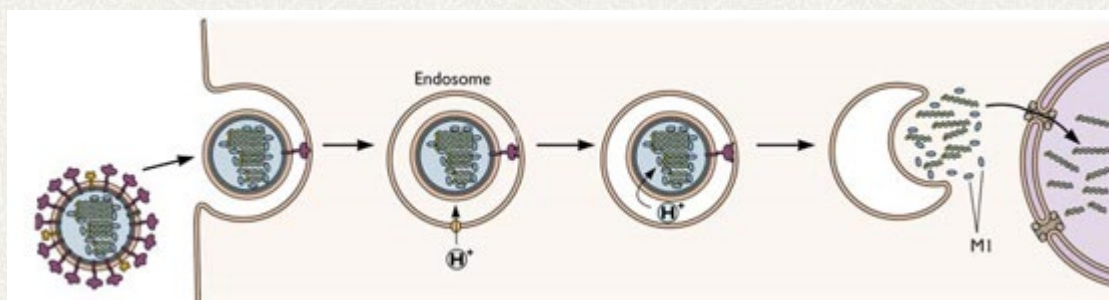


Рисунок 23 – Проникновение вируса в клетку путем виropексиса

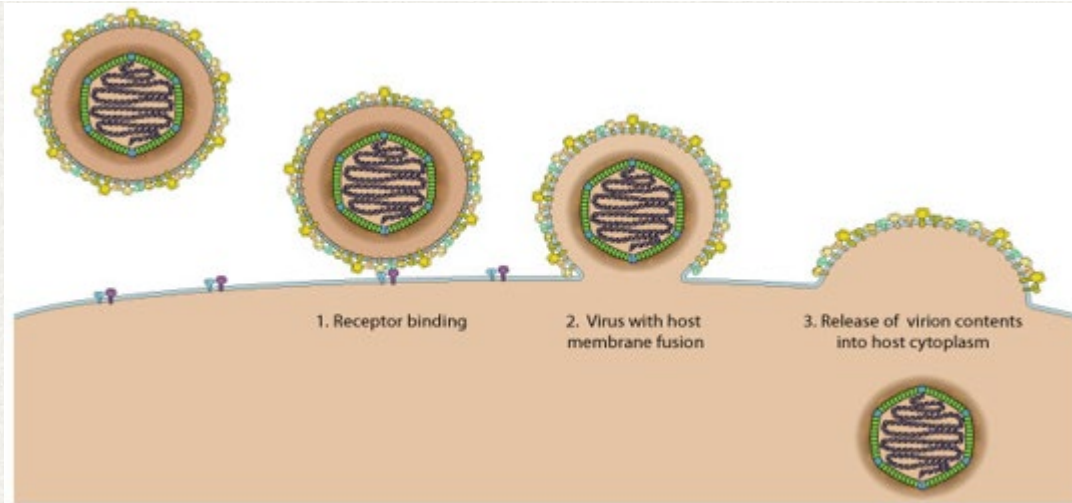


Рисунок 24 – Проникновение вируса в клетку путем интеграции

3. *Стадия раздевания вируса в клетке (депротеинизация).* Предусматривает освобождение вирусных нуклеиновых кислот от оболочек. Осуществляется раздевание вирусов ферментами поверхностных мембран клеток (при слиянии вирусных оболочек и клеточной мембраны) или ферментами лизосом, внутриклеточных цитоплазматических и ядерных мембран (при виropексисе). Конечными продуктами раздевания у вирусов являются нуклеиновые кислоты с внутренним вирусным белком (пикорнавирусы, аденовирусы), нуклеокапсидом (ортомиксовирусы) или сердцевинной (аденовирусы).

4. *Стадия биосинтеза компонентов вируса* – образования вирусных белков и нуклеиновых кислот в клетке за счет синтетического аппарата клетки. Стадия включает *фазы транскрипции, трансляции и репликации*, протекающие у разных групп вирусов и семейств неодинаково.

У аденовирусов, герпесвирусов, паповавирусов, репродукция которых происходит в ядре, транскрипция ДНК осуществляется клеточной РНК-полимеразой. У репродуцирующихся в цитоплазме иридовирусов и поксвирусов транскрипция ДНК осуществляется вирионным вирусоспецифическим ферментом. Также вирионной РНК-полимеразой осуществляется транскрипция геномной минус-РНК вирусов.

Транскрипция для синтеза белка у РНК вирусов с позитивным геномом не осуществляется. Исключение составляют ретровирусы, у которых транскрипция происходит на интегрированных с клеточным геномом вирионных ДНК-транскриптах с помощью клеточных РНК-полимераз.

ДНК-вирусы
ДНК – транскрипция – и-РНК – трансляция – белок
РНК-вирусы
+РНК – трансляция – белок
–РНК – транскрипция – и-РНК – трансляция – белок

Характерной особенностью транскрипции у плюс-нитевых РНК-вирусов является кодирование синтеза одной длинной иРНК, а у ДНК-вирусов – многих коротких молекул.

В дальнейшем вирус подавляет трансляцию иРНК клеток-хозяев, и клетка

переключается на избирательную трансляцию вирусных иРНК.

В процессе трансляции у вирусов, кодирующих синтез одной длинной иРНК, синтезируется гигантский полипептид-предшественник, нарезающийся в последствии на несколько различных белков. У вирусов, кодирующих короткие иРНК, синтезируется соответствующее им число полностью созревших белков.

Образующиеся вирусные белки часто подвергаются *посттрансляционным модификациям*: гликолизированию, ацетилированию, метилированию, фосфорилированию.

Способ репродукции вирусов называют *дизъюнктивным (разобщенным)*, поскольку вирусные компоненты синтезируются неодновременно и в разных местах клеток.

5. *Стадия формирования, или самосборка, вирионов.* В основе лежит самопроизвольный механизм белокнуклеинового узнавания. Сборка вирусных компонентов начинается всегда с формирования нуклеокапсидов (сердцевина) и синтеза суперкапсидных белков. У сложных вирионов сборка происходит поэтапно и зависит от места репликации (в цитоплазме или ядре).

6. *Выход зрелых вирусных частиц из клетки* может осуществляться двумя путями:

– *взрывной путь* характерен для простых вирусов (аденовирусы, паповавирусы, парвовирусы, пикорнавирусы, реовирусы, большинство бактериофагов) и осуществляется за счет лизиса клеток;

– *выход путем отпочковывания от клеточных мембран* присущ сложным вирусам животных, имеющим суперкапсидную оболочку (ортомиксовирусы, парамиксовирусы, ретровирусы и т. д.). Вирионы покидают клетку постепенно, при этом жизнеспособность клетки сохраняется. Нуклеокапсиды покрываются липидной клеточной мембраной, модифицированной за счет встраивания независимо синтезированными в клетке вирусными белками.

Для изучения биологии вирусов, получения вирусосодержащего материала применяют различные методы культивирования вирусов.

Метод культивирования вирусов в организме восприимчивых лабораторных животных (биологический метод, *in vivo*) впервые был применен Л. Пастером. В качестве лабораторных животных чаще всего применяют белых мышей, хомяков, морских свинок, кроликов, реже – хорьков, кошек, собак. Из более крупных животных используют обезьян различных видов и некоторых других животных, из птиц – кур, гусей, уток. Перед заражением всех животных выдерживают на карантине в течение 2–3 недель. Метод заражения подопытных животных подбирают с учетом тропизма культивируемого вируса (нейротропные, пневмотропные, пантропные, дерматропные вирусы и т. д.). При заражении вирусом животное заболевает. Если болезнь не развивается, тогда патологические изменения можно обнаружить при вскрытии. Также у животных наблюдаются иммунологические сдвиги.



**Американский врач и
патофизиолог**

**Эрнест Уильям Гудпасчер
(1886–1960)**



**Американский
бактериолог**

**Джон Фрэнклин Эндерс
(1897–1985)**

Метод культивирования вирусов на куриных эмбрионах был предложен в 1931 г. Э. Гудпасчером. В эксперимент отбирают крупные, чистые, но немывые, оплодотворенные яйца белых кур, содержащие жизнеспособные эмбрионы 7–12-дневного возраста. Метод заражения зависит от биологических свойств изучаемого вируса. Различные виды вирусов удается репродуцировать в строго определенных отделах куриного эмбриона: вирус гриппа – в амнионе и аллантоисе, вирусы герпеса и бешенства – в желточном мешке, вирус натуральной оспы – в хорионаллантоисной оболочке (рисунок 25).

Заражают куриные эмбрионы в асептических условиях, используя стерильные инструменты. Эмбрионы содержат в термостате при температуре 37 °С и 60 %-ной влажности. Ежедневно просматривают развитие эмбрионов под овоскопом. Результаты заражения проявляются в виде: гибели эмбриона; дефектов развития: на поверхности оболочек появляются скопления погибших клеток (бляшки), содержащие вирионы; накопления вирусов в аллантоисной жидкости (обнаруживают путем титрования).



Рисунок 25 – Способы заражения куриных эмбрионов

Метод размножения вирусов в культуре клеток был разработан П. Эндерсом в 1949 г. на примере вируса полиомиелита (в 1954 г. Эндерсу, Уэллеру и Роббинсу была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине).

Культура клеток – это выращенные вне организма (*in vitro*) на питательных средах клетки различных тканей животных и человека, сохраняющие присущие им обмен и восприимчивость к определенным вирусам.

Для поддержания культуры клеток используют специальные синтетические и полусинтетические питательные среды сложного состава. Все типы клеток выращивают при температуре 36–37 °С в ультратермостатах в условиях строгой асептики. Интенсивное деление клеток, адсорбирующихся на поверхности стекла, приводит к образованию в течение 5–7 суток клеточного монослоя. Материал, в котором подозревают наличие вируса (лизат бактерий, кусочки ткани, биологическая жидкость), при необходимости измельчают, гомогенизируют, приводят в состояние суспензии. При этом большие фрагменты клеток, загрязняющие материал, микроорганизмы удаляют центрифугированием или фильтрацией. Такую суспензию наносят на монослой клеток. Зараженный монослой покрывают агаровым покрытием. Контролируют рост клеток под малым увеличением микроскопа начиная с 3–4-го дня.

О репродукции вирусов в культуре ткани судят по их *цитопатическому действию*: гибель клеток и образование бляшек (стерильные пятна); округление и сморщивание клеток; слияние клеток и образование многоядерных гигантских клеток и симпластов; появление в клетках включений (ядерные, цитоплазматические, смешанные) и др. Если в культуре ткани размножаются вирусы, имеющие гамагглютины, то в процессе размножения клетка приобретает способность адсорбировать эритроциты (гамадсорбция).

Для обнаружения вирусов в инфицированном материале используют вирусоскопические (световая, люминисцентная, электронная вирусоскопия) и **иммунологические методы**.

Бактериофаги. Прионы

Бактериофаги – это вирусы, поражающие бактерии. Термин «бактериофаг» (т.е. «пожиратель бактерий») предложил Д'Эррель в 1917 г. Фаги широко распространены в природе. Их выделяют из молока, почвы, воды, содержащих большое количество микробов, испражнений организмов и т.п. В номенклатуре бактериофагов используют буквы латинского или греческого алфавитов и цифры (λ , ϕ X174, fd, f2, R17, T2), что пришло из лабораторной практики.

Вирион фага является нуклеопротеидом и состоит из белка (50–60 %) и нуклеиновой кислоты (45–50 %). Кроме структурных белков, у некоторых фагов обнаружены внутренние (геномные) белки, связанные с нуклеиновой кислотой, и белки-ферменты (лизоцим, АТФ-аза), участвующие во взаимодействии фага с клеткой.

Геном большинства фагов образует спирально упакованная двойная нить ДНК. Простые по строению фаги содержат одноцепочечную кольцевую ДНК, в которой находится по одному остатку метилцитозина (ϕ X174, fd), или одноцепочечную линейную РНК (MS-2 и f2).

Довольно своеобразна морфология фагов. Различают простые и сложные фаги при этом простые имеют форму шестигранников (головчатые фаги MS-2, f2, ϕ X174) или нитей (фаги f1, fd), а сложные (фаги группы T1–T7) – сперматозоидную (состоит из многогранной головки, и более или менее длинного полого отростка). Различают 5 основных *морфотипов фагов* (рисунок 26).

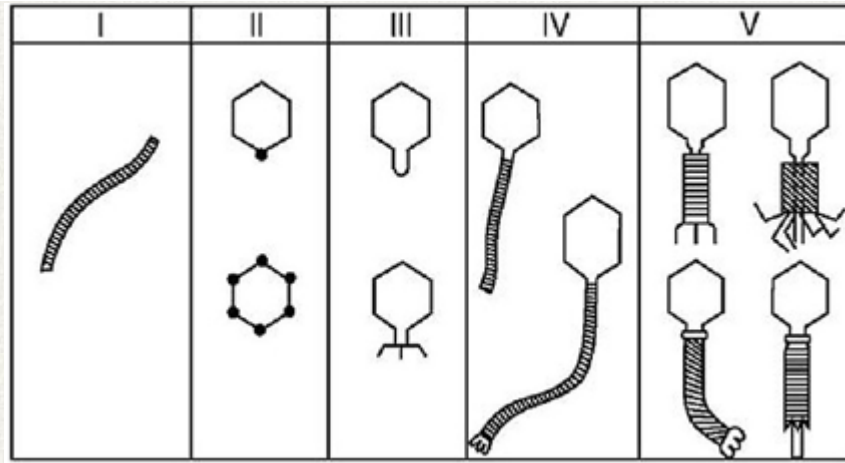


Рисунок 26 – Морфотипы бактериофагов:

- 1 – нитевидные ДНК фаги; 2 – головчатые РНК фаги и ДНК фаги с аналогом отростка;
 3 – головчатые ДНК фаги с коротким отростком;
 4 – головчатые ДНК фаги с длинным отростком, чехол которого не сокращается;
 5 – головчатые фаги ДНК с длинным отростком, чехол которого может сокращаться, и базальной пластинкой

По размерам фаги относятся к средним по величине вирусам. Диаметр головки их составляет 50–90 нм, длина отростка – 100–250 нм, диаметр – 10–25 нм. Величина фагов довольно изменчива. Разные варианты (типы) одного и того же вида фага могут сильно различаться по своим размерам.

Наиболее изученные сложные Т-фаги состоят из шестигранной головки; воротничка и отростка (рисунок 27). Отросток снаружи покрыт сократительным чехлом, под которым располагается полый стержень. К дистальному концу отростка прикрепляется шестиугольная базальная пластинка с отходящими от каждого угла шестью шипами и шестью нитями (фибриллами). У чётных фагов (*T2-фаг*, *T4-фаг*) окончания фибрилл опущены вниз, а у нечётных (*T1-фаг*, *T7-фаг*) – загнуты вверх. У некоторых Т-фагов в дистальной части хвоста находится лизоцим.

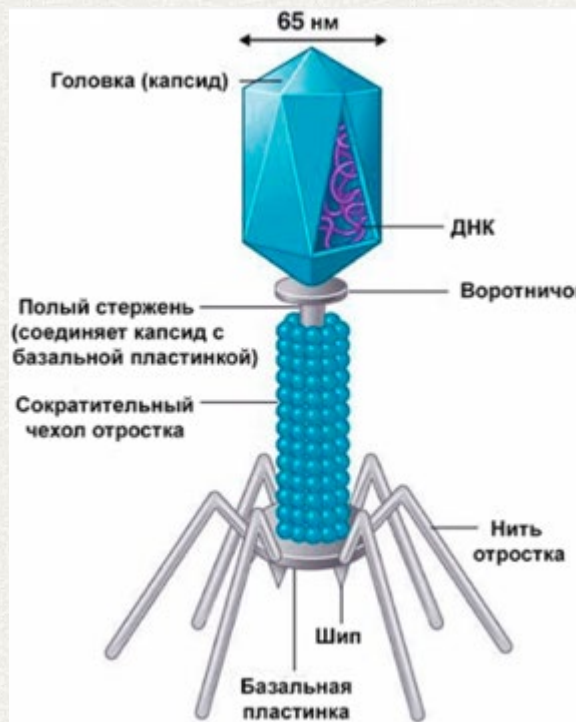


Рисунок 27 – Строение T4-фага

По механизму взаимодействия фагов и бактерий различают две группы фагов:

1. *Вирулентные фаги*, проникнув в бактериальную клетку, автономно репродуцируются в ней и вызывают лизис бактерий. Такой способ взаимодействия является *продуктивным взаимодействием*.

2. Умеренные фаги могут контактировать с бактерией как продуктивно, так и интегративно. При *интегративном взаимодействии* бактериофаг встраивает свою ДНК в хромосому бактерии и не может размножаться, однако клетка при этом не погибает.

Взаимодействие вирулентного фага с бактерией осуществляется по *литическому пути* – фаговый геном в клетке остается в автономном состоянии и осуществляется продуктивная инфекция, фаг репродуцируется, клетка лизируется.

Взаимодействие вирулентного фага с бактерией включает несколько фаз (рисунок 28):

1. *Фаза прикрепления и проникновения*. Отростчатые фаги адсорбируются на поверхности бактериальной клетки с помощью фибрилл хвостового отростка. В результате активации фагового фермента АТФ-азы происходит сокращение чехла хвостового отростка и внедрение стержня в клетку. Фермент лизоцим, находящийся на конце хвостового отростка, растворяет отверстие в клеточной оболочке. Вслед за этим ДНК фага, содержащаяся в головке, проходит через полость хвостового стержня и активно впрыскивается в цитоплазму клетки. Фаги, прикрепляющиеся к пилсам бактерий, вводят свою нуклеиновую кислоту через их канал. Остальные структурные элементы фага (капсид и отросток) остаются вне клетки.

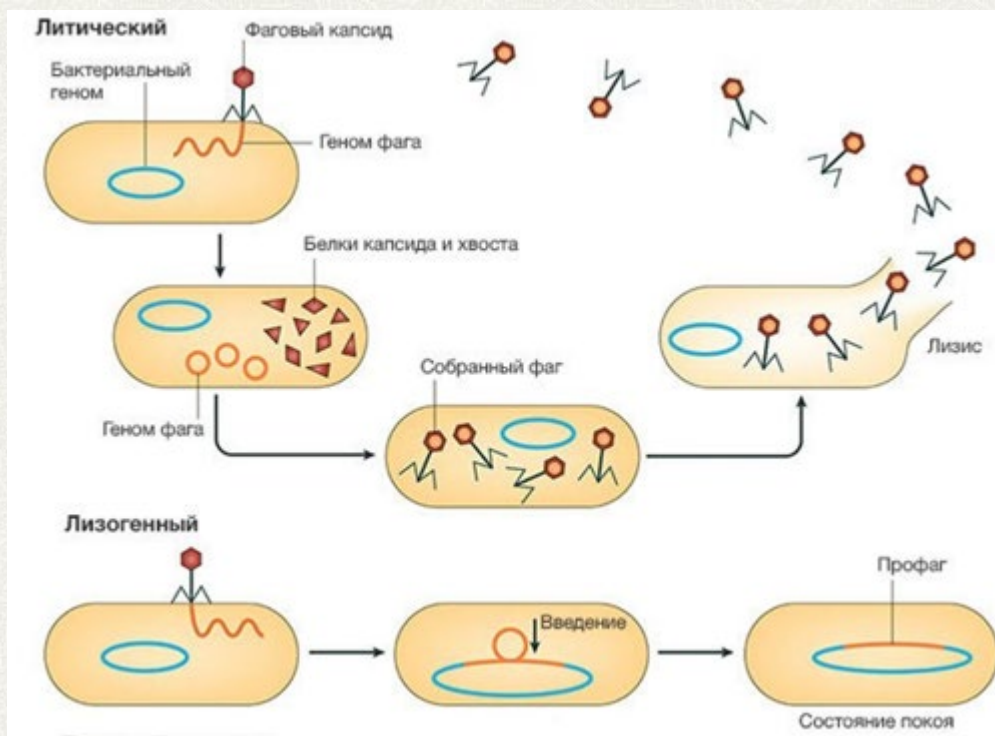


Рисунок 28 – Литический и лизогенный пути развития фагов

2. *Эклипс-фаза (фаза затмения)*. Скрытый период, в течение которого не удается обнаружить в клетке зрелый инфекционный вирус. В период эклипса вирусная нуклеиновая кислота проходит по цитоплазме клетки в нуклеоида, при этом по какой-то причине клеточные нуклеазы не разрушают фаговую нуклеиновую кислоту. В этой фазе происходят синтез эндонуклеаз, разрушающих ДНК клетки-хозяина.

3. *Фазы синтеза ферментов и компонентов фага*. Процессы синтеза ДНК и белка фага идут параллельно и независимо друг от друга. Бактериальный белок для синтеза капсида фага почти не используется и аминокислоты для него извлекаются только из среды.

4. *Фаза сборки и выхода фагов из клетки*. При сборке фаговых вирионов действуют принципы белокнуклеинового узнавания. Сборка Т-фагов осуществляются в следующем порядке: вначале собирается базальная пластинка; на ней происходит сборка стержня; а вокруг него чехла; далее

формируется головка; на последнем этапе сборки фага к его базальной пластинке присоединяются независимо синтезированные нити.

Выход фагов в окружающую среду в большинстве случаев сопровождается лизисом бактерий под влиянием фагового лизоцима. Исключение составляют нитевидные фаги, не вызывающие лизиса клеток, размножающиеся в них в течение длительного времени и выходящие через клеточную оболочку.

Взаимодействие умеренного фага с бактерией может осуществляться как по литическому, так и по лизогенному пути развития (рисунок). *Лизогенный путь* взаимодействия умеренного фага с клеткой бактерии включает: адсорбцию фага на поверхности клетки; проникновение фаговой ДНК в бактериальную клетку; интеграцию фаговой ДНК в хромосому клетки-хозяина и переход фага в *профаг*.

Описанное явление – *лизогения* – представляет собой образование симбиоза микробной клетки с умеренным фагом (профагом). Культуру бактерий, содержащую профаг, принято называть *лизогенной*.

В состоянии лизогенности у бактерий появляются новые признаки и свойства, кодируемые геном фага (изменяются форма колоний, цвет колоний, токсигенность штаммов, появляются новые антигенные детерминанты и т.д.). Изменение свойств бактерий под влиянием профага называют *фаговой конверсией*. Лизогенные культуры невосприимчивы к повторному заражению гомологичным или близкородственным фагом.

Поскольку лизогенные клетки продолжают размножаться, то профаг при размножении клетки реплицируется синхронно с геном бактерии, не вызывая ее лизиса, поэтому наследуется всеми дочерним клеткам. Связь профага с геномом бактерии достаточно прочная и в естественных условиях нарушается с частотой 10^{-2} – 10^{-5} (*спонтанная продукция фага*). Частоту отщепления профага от бактериальной хромосомы может увеличить воздействие на лизогенные бактерии ультрафиолетовыми лучами, ионизирующей радиацией и химическими мутагенами (*индукция лизогенных бактерий*). При отщеплении профаг переходит в *вегетативную форму*, после чего осуществляется литический цикл развития: фаг репродуцируется и клетка лизируется.

Резистентность бактериофагов к факторам окружающей среды выше, чем резистентность бактерий, которых они поражают. Фаги устойчивы к антибиотикам, ферментным ядам, хлороформу, фенолу, глицерину, этиловому спирту, рН 5,0 – 8,0. В организме человека фаги сохраняются в течение 7–13 дней. Длительное время они сохраняются при высушивании в запаянных ампулах, замораживании при температуре -185 °С в глицерине.

Бактериофаги нашли применение в *фаготерапии*, *фагопрофилактике*, *фагопрофилактике*, в *генной инженерии*.

Помимо вирусов к инфекционным агентам относятся вириды и прионы.

Вириды – инфекционные частицы, представленные низкомолекулярными одонитевыми молекулами РНК, лишенными белковой оболочки. Открыты вириды в 1971 г. Т. Диннером при изучении инфекционного заболевания картофеля «веретеновидность клубней» (рисунок 29).



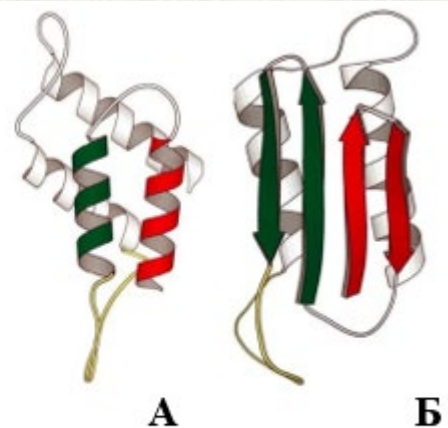
Рисунок 29 – Проявление виroidной инфекции

Вироиды представляют собой ковалентно замкнутые кольцевые одноцепочечные молекулы длиной от 246 до 467 нуклеотидов. Размеры виroidов находятся в пределах 15 нм. РНК виroidов автономно реплицируются в клетках. Вироиды обнаруживаются в ядрышке, хлоропластах инфицированной клетки. Одновременно может присутствовать от 200 до 100 тысяч копий генома виroidа. Пути передачи, характер поражения и меры борьбы при вирусных и виroidных инфекциях у растений сходны.

Прионы – белковые инфекционные агенты, не содержащие нуклеиновую кислоту. Прионы как новая форма биологического инфекционного агента была открыта в 1982 г. С. Прузинером.



Стэнли Бенджамин
Прузинер
1942 г. р.



Прионы представлены низкомолекулярными белковыми частицами из класса сиалогликопротеидов. Полипептидные цепи прионов состоят из 253–254 аминокислот, к боковым цепям которых прикрепляются остатки сахаров. Прионные белки имеют аномальную третичную структуру.

Прионный белок существует в *двух формах* (рисунок 30):

– PrP^C – *неинфекционная клеточная форма* прионного белка. Кодирована клеточным геномом и обнаруживается в организмах всех млекопитающих. В нейронах PrP^C участвует в передаче нервных импульсов, регулирует суточные ритмы.

– PrP^{Sc} – *инфекционный прионный белок* вызывает тяжёлые заболевания центральной нервной системы и медленные инфекции.

Инфекционный прионный белок в организме может возникнуть спонтанно, вследствие мутации или попадает извне (с пищей, при медицинских манипуляциях, пересадке тканевых материалов и т.д.).

Процесс накопления инфекционного прионного белка обусловлен

контактом исходного белка PrP и инфекционного прионного белка PrP^{Sc}. В процессе взаимодействия инфекционный белок индуцирует в нормальном клеточном белке структурные (конформационные) изменения (α -спирали переходят в β -слои) и превращает его в инфекционную форму. Содержание инфекционного белка увеличивается в геометрической прогрессии.

Прионы, как и вирусы, имеют ультрамикроскопические размеры и не культивируются на искусственных питательных средах. Прионы крайне устойчивы – инактивируются прионы только при автоклавировании в течение 30 мин при температуре +135 °С.

При прионных инфекциях происходит вакуолизация и гибель нейронов, в результате чего мозг приобретает характерную губчатую структуру (губкообразная энцефалопатия). Обширное поражение нейронов приводит к выраженным неврологическим симптомам (снижение тонуса мышц, параличи, слабоумие, потеря памяти, бессонница и др.). У человека основные формы *губкообразных энцефалопатий* – болезнь Крейтцфельдта-Якоба, синдром Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, фатальная семейная бессонница, болезнь Куру, у сельскохозяйственных животных – коровье бешенство, скрейпи у овец и коз.

Прионные болезни относятся к *медленным вирусным инфекциям* (характеризуются длительным инкубационным периодом – месяцы, годы), по признакам сходны с геронтологическими (возрастными) изменениями в организме и заканчиваются летальным исходом.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

МОРФОЛОГИЯ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОКАРИОТ

1. В каких единицах измеряются размеры бактерий:

нанометры
седиментации

микрометры

миллиметры

единицы



ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

ОСНОВЫ ВИРУСОЛОГИИ

1. Д.И. Ивановский сформулировал следующее уникальное свойство вирусов:

отсутствие клеточного строения
нуклеиновой кислоты в составе вириона
на искусственных питательных средах
бинарному делению

наличие только одного типа
вирусы неспособны размножаться
отсутствие способности к росту и

