

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное агентство по образованию
Ярославский государственный университет имени П.Г. Демидова

Н.Ю. Пухова

**Экологическая
физиология
микроорганизмов**

**Часть 2
Аутэкология микроорганизмов**

Учебное пособие

*Рекомендовано
Научно-методическим советом университета
для студентов специальностей Экология, Биология*

Ярославль 2006

УДК 612.014.49
ББК Е 48я73
П 90

*Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве учебного издания. План 2006 года*

Рецензенты:

Н.В. Верховцева, д-р биол. наук, проф. МГУ;
кафедра микробиологии с иммунологией и вирусологией ЯГМА

П 90 **Пухова, Н.Ю. Экологическая физиология микроорганизмов. Ч. 2. Аутэкология микроорганизмов** : учебное пособие / Н.Ю. Пухова ; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль : ЯрГУ, 2006. – 128 с.
ISBN 5-8397-0469-5

Данное учебное пособие является логическим продолжением предыдущего издания: Филина Н.Ю., Верховцева Н.В. Экологическая физиология микроорганизмов. Часть 1. Экологическая физиология микроорганизмов. Ярославль, 2001.

Изложены на современном научном уровне основные вопросы аутэкологии прокариот, даны некоторые понятия аутэкологии микроорганизмов, обсуждается проблема рассмотрения действия экологических факторов на микроорганизмы. Подробно изложен материал по влиянию отдельных абиотических факторов на прокариотическую клетку и адаптационные особенности микроорганизмов, рассматриваются типы питания прокариот и особенности питания микроорганизмов в природе. Рассмотрены эволюционно сложившиеся механизмы приспособления микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды: репарация повреждений ДНК и бактериальные регуляторные системы на стресс, таксисы бактерий и покоящиеся формы микроорганизмов.

Приводятся тесты для проверки усвоенных знаний с правильными ответами, имеется подробный словарь терминов и понятий, встречающихся в тексте, дан список литературы.

Предназначено студентам, обучающимся по специальностям 013100 Экология и 011600 Биология (дисциплина "Экология организмов", блок ОПД), очной и заочной форм обучения.

Рис. 9. Табл. 3. Библиогр.: 46 назв.

УДК 612.014.49
ББК Е 48я73

© Ярославский
государственный
университет, 2006
© Н.Ю. Пухова, 2006

ISBN 5-8397-0469-5

Оглавление

1. Некоторые понятия аутоэкологии микроорганизмов.....	5
2. Проблема рассмотрения действия экологических факторов на микроорганизмы.....	9
3. Влияние абиотических факторов среды на микроорганизмы.....	11
3.1. <i>Пищевые потребности прокариот.....</i>	<i>11</i>
3.1.1. Поступление питательных веществ в клетки прокариот.....	15
3.1.2. Типы питания.....	22
3.1.3. Особенности питания микроорганизмов в природе.....	26
3.2. <i>Действие антисептиков на микроорганизмы.....</i>	<i>33</i>
3.3. <i>Действие антибиотиков на микроорганизмы.....</i>	<i>41</i>
3.4. <i>Температура и микроорганизмы.....</i>	<i>44</i>
3.5. <i>Активность воды и микроорганизмы.....</i>	<i>52</i>
3.6. <i>Влияние рН на микроорганизмы.....</i>	<i>56</i>
3.7. <i>Окислительно-восстановительные условия и отношение микроорганизмов к кислороду.....</i>	<i>61</i>
3.8. <i>Осмотическое давление и микроорганизмы.....</i>	<i>69</i>
3.9. <i>Гидростатическое давление.....</i>	<i>72</i>
3.10. <i>Электромагнитное излучение и микроорганизмы.....</i>	<i>75</i>
3.11. <i>Влияние ультразвука на микроорганизмы.....</i>	<i>80</i>
4. Приспособление микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды.....	83
4.1. <i>Репарация повреждений ДНК.....</i>	<i>84</i>

4.2. Бактериальные регуляторные системы	
<i>ответа на стресс</i>	85
4.2.1. Система строгого контроля	85
4.2.2. Система SOS-ответа	86
4.2.3. Система адаптивного ответа клетки	88
4.2.4. Синтез белков теплового шока	89
4.2.5. Синтез белков холодового шока	90
4.2.6. Ответ на окислительный стресс	92
4.3. Таксисы бактерий	93
4.4. Покоящиеся формы бактерий	98
Контрольный тест	103
<i>Задание № 1. Выберите все правильные ответы</i>	103
<i>Задание № 2. Установите соответствие</i>	105
<i>Задание № 3. Дополните</i>	106
<i>Ответы на вопросы теста</i>	108
<i>Шкала оценок теста</i>	109
<i>Список сокращений</i>	110
Словарь терминов	111
Список использованной литературы	124

Жизнедеятельность прокариот зависит от многочисленных факторов окружающей среды. При положительном их воздействии бактерии проявляют высокие скорости роста, размножения и биосинтеза. Отрицательное влияние одного или нескольких факторов в совокупности может привести не только к снижению темпа жизнедеятельности и нарушению обмена веществ, но и к гибели. Факторы внешней среды условно можно разделить на две группы: абиотические (химические, физические и физико-химические) и биотические (различные формы взаимоотношений между живыми организмами). В рамках данного пособия мы остановимся на влиянии ряда абиотических факторов окружающей среды на микроорганизмы и рассмотрим различные приспособительные механизмы, выработанные прокариотами в процессе эволюции для выживания.

1. Некоторые понятия аутэкологии микроорганизмов

Аутэкология (греч. *autos* – сам) – раздел экологии, изучающий действие различных абиотических факторов среды на отдельные популяции и виды живых организмов.

В большинстве случаев отношение микроорганизмов к тому или иному фактору характеризуют графиком зависимости роста (например числа клеток или скорости размножения) от интенсивности действия фактора (рис. 1). При этом определяют кардинальные точки: оптимальное значение (или область значений), обеспечивающее наилучший рост, а также минимальное и максимальное значения, при которых рост прекращается. Диапазон между минимальным и максимальным значениями составляет область толерантности. В этой области (вне оптимума) организм активен, но имеет более низкую конкурентоспособность и может быть вытеснен другими видами. Внутри области толерантности, существуют пределы действия фактора, в которых организм мо-

жет длительное время сохранять жизнеспособность, но активно не развивается – зона пессимума.

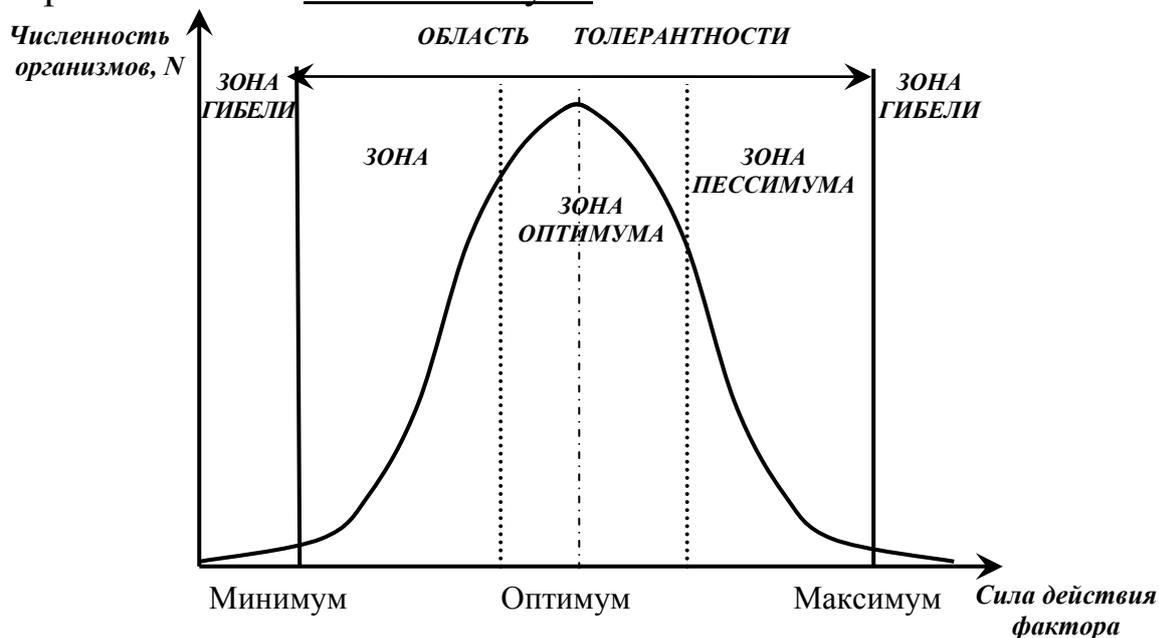


Рис. 1. Зависимость численности организмов от силы действия фактора

Область толерантности организма к тому или иному фактору может быть узкой или широкой, и соответственно говорят о *стено-* и *эврибионтных организмах* (например стено- и эвритермные по отношению к температуре, стено- и эвригалинные по отношению к солености среды и т.п.). Чаще микробиологи употребляют другую пару эпитетов: «-фильные» и «-толерантные» (например термофильные и термотолерантные, галофильные и галотолерантные). Так, термотолерантные бактерии, как и термофилы, имеют высокую максимальную температуру роста, однако их температурный оптимум существенно ниже.

Резистентность (англ. *resistance* – сопротивление, противодействие) – состояние устойчивости организма к повреждающим факторам внешней среды различной природы: механическим, физическим, химическим. Для обозначения резистентности к биологическим факторам введен специальный термин – невосприимчивость.

Адаптация (лат. *adaptation* – приспособление, прилаживание) – совокупность морфофизиологических, поведенческих, по-

пуляционных и др. особенностей данного вида, обеспечивающая возможность специфического образа жизни в определенных условиях внешней среды. В жизнедеятельности микроорганизмов большую роль может играть явление преадаптации.

Преадаптация (лат. *prae* – впереди, вперед; *adaptation* – приспособление, прилаживание) – свойство организма, имеющее приспособительную ценность для еще не осуществленных форм взаимодействия со средой. Примером преадаптации может служить способность бактерий вызывать деградацию различных ксенобиотиков.

Специализация (лат. *specialis* – особый) – развитие особых черт, обеспечивающих приспособление организма к данным конкретным условиям существования. Это может быть, например, способность к осуществлению определенных процессов или способность к развитию в определенных физико-химических условиях среды и т.п. Так, бактерии рода *Pseudomonas* мало специализированы в отношении пищевого субстрата и используют различные органические соединения в качестве источника углерода и энергии; а метилотрофы растут только на CH_4 (метан) и на немногих других C_1 - соединениях.

Гомеостаз (греч. *homoiios* – подобный, одинаковый; *stasis* – неподвижность, состояние) – относительное постоянство состава и свойств внутренней среды организма. Поддержание гомеостаза зависит от способности биологических систем противостоять изменениям внутренней среды и сохранять относительное постоянство ее состава и свойств. Для прокариот жизненно важное значение имеет гомеостаз величины внутриклеточного рН, а также концентрация различных ионов и молекул в клетке.

Остановимся еще на одном понятии – экстремофил. Сразу отметим, что термин носит известный отпечаток антропоцентризма. Такие организмы живут в экстремальных условиях среды обитания, т.е. при крайних значениях диапазона действия фактора. Чаще всего к подлинным экстремофилам относятся археобактерии, обитающие при высоких значениях температуры, солености, давления, рН и пр. Следует отличать организмы, выдерживающие крайние значения действующего фактора (т.е. толерантные организмы), от организмов, – подлинных экстремофилов, –

для которых эти значения фактора если не оптимальны, то близки к оптимальным, например термотолерантные и термофильные бактерии, факультативные анаэробы и строгие анаэробы и т.п.

Прокариоты, относящиеся к полиэкстремофилам (чаще всего – архебактерии), устойчивы к действию более чем одного экстремального фактора окружающей среды. Например,

Ferroplasma acidarmanus - крайний ацидофил (способен расти при pH 0); при этом выдерживает высокие концентрации тяжелых металлов – меди, мышьяка, кадмия и цинка.

Sulfolobus acidocaldarius - крайний ацидофил (растет в диапазоне pH от 1,0 до 5,8 с оптимумом pH 2,0-3,0) и облигатный термофил (растет при + 70⁰C); обитает в горячих кислых источниках.

Pyrococcus abussi - облигатный барофил (выдерживает гидростатическое давление около 200 атм) и гипертермофил (верхняя температурная граница 102⁰C); обитатель глубоководных гидротерм (2000 м).

2. Проблема рассмотрения действия экологических факторов на микроорганизмы

В природе сложность изучения действия экологических факторов на микроорганизмы связана с их малыми размерами. В среднем линейные размеры бактерий составляют $0,5-1,0 \times 1,0-10,0$ мкм ($1 \text{ мкм} = 10^{-6} \text{ м}$).

В лабораторных условиях специфичность состоит в следующем.

1. Практически невозможно учесть все действующие на микроорганизмы факторы. Некоторые вообще не известны. Поэтому изучают действие одного или нескольких факторов, многие из факторов при этом не контролируются. Перенос данных, полученных таким путем, на природные условия нужно проводить осторожно.

2. Большинство исследований по действию экологических факторов проведено и сейчас проводится на чистых культурах бактерий. В природных условиях «работает» микробценоз, состоящий из популяций многих видов бактерий, между которыми всегда существует внутри- и межвидовая конкуренция. Данные, полученные на чистой культуре, могут не соответствовать реальным событиям, которые имеют место в природных условиях.

3. Специфическая сложность оценки влияния факторов на микроорганизмы. Когда исследуется действие фактора, всегда производится усреднение этого фактора на объем среды, который в значительной степени превышает объем микробной клетки. Локальное действие этого фактора может дать другой результат.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>аутэкология</i>		
<i>область толерантности</i>		
<i>резистентность</i>		
<i>адаптация</i>		
<i>преадаптация</i>		
<i>специализация</i>		
<i>гомеостаз</i>		
<i>экстремофил</i>		
<i>полиэкстремофил</i>		

3. Влияние абиотических факторов среды на микроорганизмы

3.1. Пищевые потребности прокариот

В состав питательных веществ должны входить все те химические элементы – *макро-* и *микроэлементы*, – которые необходимы для построения клеточного материала, активности ферментов и работы транспортных систем. Кроме того, питательные вещества должны поставлять организму материал, используемый для генерирования биологически доступной энергии.

К макроэлементам относятся 12 химических элементов, содержащихся в организме в концентрации выше 0,001% (О, Н, С, N, P, К, Са, S, Mg, Na, Cl, Fe), преимущественно из них построены органические вещества клеток – нуклеиновые кислоты, белки, жиры, углеводы, витамины, ферменты и пр. (табл. 1). Макроэлементы составляют основную массу живого вещества клетки (около 99%), особенно высока концентрация О, Н, С, N (98% всех макроэлементов).

Микроэлементы требуются живым организмам в концентрациях от 0,001 до 0,000001% (1,9% массы клетки). К биогенным микроэлементам чаще всего относят Cu, Zn, I, Mn, Co, Mo, Se, Cr, Ni, Si, F, V, W и др. Большинство биологически значимых микроэлементов входят в состав биологически активных веществ (БАВ) – ферментов, витаминов, пигментов и пр.

Ультрамикроэлементы (Au, U, Ra и др.) входят в состав клеток живых организмов в концентрации, которая не превышает 0,000001%. Роль большинства элементов этой группы до сих пор не выяснена.

Таблица 1

*Функции макроэлементов и основных микроэлементов
в метаболизме прокариот*

МАКРОЭЛЕМЕНТЫ			
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>№</i>	<i>Элемент</i>	<i>Источник</i>	<i>Функция в метаболизме</i>
1.	Углерод (С)	Органические соединения, CO ₂	Основные компоненты клетки
2.	Кислород (О)	O ₂ , H ₂ O, органические соединения, CO ₂	
3.	Водород (Н)	H ₂ , H ₂ O, органические соединения	
4.	Азот (N)	NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , N ₂ , органические соединения	
5.	Сера (S)	SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ⁰ , HS ⁻ , S ²⁻ , органические соединения	Компонент аминокислот ЦИС, МЕТ, тиаминпирофосфата, коэнзима А (КоА), биотина и α-липоевой кислоты
6.	Фосфор (Р)	HPO ₄ ²⁻	Компонент нуклеиновых кислот, фосфолипидов и нуклеотидов (АТФ, ГТФ, ТТФ, ЦТФ, НАД ⁺ , ФАД ⁺ , НАДФ ⁺), тейхоевых кислот
7.	Калий (К)	K ⁺	Основной неорганический катион в клетке, кофермент некоторых ферментов
8.	Магний (Mg)	Mg ²⁺	Кофермент многих ферментов (например киназ), присутствует в КС, мембранах и эфирах фосфорной кислоты, определяет агрегацию мономеров рибосомы
9.	Кальций (Ca)	Ca ²⁺	Кофермент ферментов, присутствует в экзоферментах (амилаза, протеаза); дипиколинат кальция является важным компонентом эндоспор

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
10.	Железо (Fe)	Fe^{2+}, Fe^{3+}	Содержится в цитохромах, ферредоксинах и других железосеропротеидах, кофермент ферментов (например дегидрогеназ)
11.	Натрий (Na)	Na^{+}	Необходимы галофильным бактериям для осуществления механизмов осморегуляции
12.	Хлор (Cl)	Cl^{-}	
МИКРОЭЛЕМЕНТЫ			
13.	Цинк (Zn)	Zn^{+}	Содержится в следующих ферментах: алкогольдегидрогеназе, щелочной фосфатазе, альдолазе, РНК- и ДНК-полимеразе, в некоторых протеазах
14.	Марганец (Mn)	Mn^{2+}	Содержится в бактериальной супероксиддисмутазе (СОД); кофермент некоторых ферментов (например, фосфоенолпируваткарбоксикиназы, цитратсинтазы)
15.	Молибден (Mo)	MoO_4^{2-}	Содержится в следующих ферментах: нитратредуктазе, нитрогеназе, формиатдегидрогеназе, ксантиндегидрогеназе
16.	Селен (Se)	SeO_3^{2-}	Содержится в ферментах глицинредуктазе и формиатдегидрогеназе, встречается в тРНК
17.	Медь (Cu)	Cu^{2+}	Содержится в ферментах, взаимодействующих с O_2 : цитохром с-оксидазе, некоторых СОД, пластоцианине, оксигеназах
18.	Кобальт (Co)	Co^{2+}	Содержится в коферменте витамин- B_{12} -ферментов (глутаматмутаза, метилмалонил-КоА-мутаза)
19.	Вольфрам (W)	WO_4^{2-}	Содержится в некоторых формиатдегидрогеназах
20.	Никель (Ni)	Ni^{2+}	Содержится в ферментах: уреазе, гидрогеназе, СО-дегидрогеназе

Факторы роста – органические соединения, которые не синтезируются бактериями, но без которых жизнь клетки невозмож-

на (аминокислоты, пурины, пиримидины, витамины и др.). Эти соединения прокариоты должны получать из окружающей среды. Бактерии, нуждающиеся в каком-либо факторе роста, называются *ауксотрофными* по отношению к этому соединению, в отличие от *прототрофных*, способных синтезировать данное вещество в клетке. Особенно часто микроорганизмы ауксотрофны к аминокислотам. Так, для роста бактериям *Leuconostoc mesenteroides* необходимо не менее 17 аминокислот. Фактором роста для гемолитических стрептококков, гонококков и возбудителя сибирской язвы является глутаминовая кислота. Многие микроорганизмы проявляют ауксотрофность к витаминам, в частности к витаминам группы В. Например, ауксотрофность к витамину В₅ (никотинамид) наблюдается у *Staphylococcus aureus* и *Vibrio cholerae*. Ростовым фактором для многих патогенных бактерий: пневмококков, гонококков, возбудителей дизентерии – является парааминобензойная кислота, необходимая для синтеза пуриновых оснований и ряда аминокислот (серин, гистидин, тирозин, метионин). Среди прокариот известны микроорганизмы, проявляющие ауксотрофность к соединениям, необходимым для синтеза компонентов мембран. Так, многие микоплазмы нуждаются в стеринах, жирных кислотах с длинной углеродной цепью, а некоторые, например, *Mycoplasma mycoides*, – даже в глицерине.

Потребность в факторах роста может быть различной не только у различных видов микроорганизмов, но и у разных штаммов одного вида. Многие мутанты разных микроорганизмов, в отличие от родительских штаммов, являются ауксотрофами по отношению к тем или иным факторам роста.

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

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
---------	-------------	----------------

<i>макроэлементы</i>		
<i>микроэлементы</i>		
<i>ультрамикроэлементы</i>		
<i>факторы роста</i>		
<i>ауксотрофные бактерии</i>		
<i>прототрофные бактерии</i>		

3.1.1. Поступление питательных веществ в клетки прокариот

Все прокариоты способны использовать только растворенные вещества, проходящие через их клеточную мембрану, и поэтому относятся к *осмотрофам*. При осмотрофном типе питания поступление растворенных веществ в клетку и выделение продуктов обмена из клетки обеспечивает транспорт через ЦПМ. Чтобы обеспечить нормальную жизнедеятельность микроорганизма, цитоплазматическая мембрана должна быть проницаемой для питательных веществ и кислорода, поступающих в клетку, а также для продуктов обмена, выходящих наружу. Клеточная мембрана бактерий обладает избирательной проницаемостью и может пропускать лишь некоторые вещества, не допуская в то же время выноса веществ из клетки. Поступление воды и растворенных в ней веществ через ЦПМ – активный процесс: живая микробная клетка никогда не находится в равновесии с веществами окружающей среды, проходящими через ее мембрану.

В настоящее время выделяют несколько типов транспортных систем, при помощи которых вещества из окружающей среды проходят через ЦПМ прокариот: пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт и перенос групп (радикалов). Причем два из них (пассивная и облегченная диффузии) обеспечивают только транспорт, но не накопление веществ в микробной клетке, в то время как активный транспорт способствует аккумуляции веществ внутри клетки.

1. При пассивной диффузии транспорт веществ через ЦПМ происходит под действием разности концентраций (по градиенту

концентрации, из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией) для неэлектролитов или разности электрических потенциалов по обе стороны мембраны для ионов. Для диффузии существенны величина молекул и степень их липофильности. Скорость пассивной диффузии невелика, и проходит она без затраты энергии. При помощи пассивной диффузии в клетку проникают вода, кислород, некоторые ионы, а также липофильные соединения (то есть растворимые в липидах), включая спирты и жирные кислоты. По-видимому, путем пассивной диффузии в клетку могут проникать яды, ингибиторы и другие чуждые клетке вещества.

2. Облегченная диффузия отличается от пассивной диффузии тем, что перенос веществ через ЦПМ осуществляется специфичными белками-переносчиками (рис. 2), получившими название *пермеаз* (транслоказ).

Пермеаза связывается с транспортируемым веществом (субстратом) на внешней стороне мембраны бактериальной клетки, затем претерпевает конформационные изменения, в результате которых вещество без каких-либо изменений переносится через цитоплазматическую мембрану в цитоплазму клетки, т.е. в область с его более низкой концентрацией. После высвобождения транспортируемого вещества пермеаза снова диффундирует к наружной поверхности ЦПМ и может присоединить новую молекулу субстрата. Подробно этот механизм представлен на рис. 2. Облегченная диффузия ускоряет процесс выравнивания концентраций, но не может привести к концентрированию вещества внутри клетки по сравнению с внешней средой.

Облегченная диффузия не требует расхода энергии, если наружная концентрация транспортируемого вещества выше внутренней, так как оно перемещается «вниз» по химическому градиенту. Скорость процесса зависит от концентрации субстрата в окружающей среде. Предполагают, что выход продуктов обмена веществ из микробной клетки также происходит по типу облегченной диффузии при участии переносчиков.



Рис. 2. Предполагаемые конформационные изменения молекулы переносчика при транспорте вещества (субстрата).

Основные этапы переноса:

- 1) связывание субстрата (S) с переносчиком, находящимся в конформации «н» (наружная) на одной стороне мембраны;
- 2) перенос субстрата, связанный с основным конформационным изменением молекул переносчика – переходом в конформацию «в» (внутренняя);
- 3) высвобождение субстрата на противоположной стороне мембраны;
- 4) возвращение переносчика в конформацию «н»

3. Активный транспорт связан с работой специфических транспортных белков (пермеаз, транслоказ и др.), которые находятся в цитоплазматической мембране. В этом случае растворенные вещества переносятся в клетки микроорганизмов «вверх» по химическому градиенту (или против градиента концентрации веществ). Активный транспорт позволяет избирательно концентрировать внутри клетки необходимые ей вещества.

Считают, что большинство веществ проникает в клетки микроорганизмов в результате активного транспорта. Источниками энергии для транспортных процессов служат АТФ, протонный потенциал и фосфоенолпируват. Существуют системы первичного и вторичного активного транспорта.

В системах *первичного активного транспорта* используется химическая энергия. Необходимость использования энергии для поддержания активного транспорта объясняется теми изменениями, которые претерпевает молекула переносчика: когда переносчик обращен к внешней поверхности мембраны, то он обладает высоким сродством к субстрату, а когда к внутренней стороне – низким сродством к субстрату. Возможность транспортировать вещества против градиентов концентраций часто используется клетками бактерий для получения этих веществ из окружающей среды, где их концентрация мала, что обычно для природных условий. При отсутствии источников энергии накопления веществ внутри не происходит.

Подсчитано, что перенос молекулы тиогалактозида через ЦПМ *E. coli* требует затраты одной молекулы АТФ. Предполагая, что активный перенос других соединений связан с подобным же расходом АТФ, можно представить, какое значительное количество энергии на транспорт веществ в клетку расходует растущий и размножающийся микроорганизм. В отдельных случаях на активный транспорт может затрачиваться почти вся энергия, вырабатываемая в микробной клетке.

В системах *вторичного активного транспорта* для переноса против градиента концентрации через ЦПМ многих неорганических и органических веществ, в том числе сахаров, используется энергия *протонного потенциала* (Δp). В процессе дыхания в локализованной мембране дыхательной цепи осуществляется выход протонов. В результате перемещения протонов через мембрану за счет энергии дыхания создается градиент протонного потенциала (называемый также *электрохимическим потенциалом* или *протондвижущей силой*) между наружной и внутренней сторонами мембраны. Протонный потенциал обуславливает фосфорилирование, т.е. синтез АТФ, или используется непосредственно транспортными системами. Протонный потенциал (Δp) определя-

ется мембранным потенциалом ($\Delta\Psi$), имеющим отрицательное значение внутри клетки, и градиентом протонов (ΔpH), имеющим внутри клетки щелочной показатель в соответствии с уравнением:

$$\Delta p = \Delta\Psi - z \cdot \Delta pH \quad (3.1)$$

где $z = 59$ мВ при температуре 25°C .

Для поддержания протонного потенциала микроорганизм непрерывно выкачивает за пределы своей клетки протоны и другие ионы (например Na^+). В этих целях используются специфические транспортные белки, имеющиеся в мембране. Каждому транспортному белку присуща своя функция.

Перенос веществ через мембрану без их химической модификации, осуществляемый с использованием энергии протонного потенциала (рис. 3), включает три основных механизма:

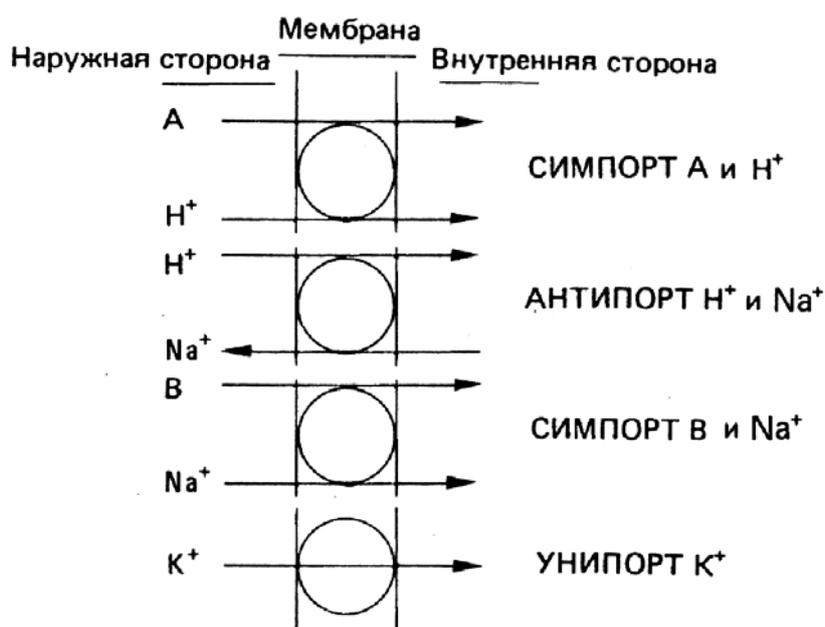


Рис. 3. Различные виды активного транспорта, для которых источником энергии служит протонный потенциал (Δp)

1) *унипорт*, когда субстрат транспортируется белком-переносчиком через мембрану, причем другие ионы при этом не переносятся;

2) *симпорт*, когда транспортный белок обеспечивает перенос через мембрану молекулы субстрата (например лактозы, глюкозы и пр.) одновременно с переносом в том же направлении H^+ или иного иона;

3) *антипорт*, когда осуществляется перенос субстрата одновременно с противоположно направленным переносом H^+ или другого иона. При симпорте и антипорте молекула транспортируемого субстрата может быть как заряженной, так и незаряженной.

У многих микроорганизмов вещества транспортируются в клетку при помощи другого механизма – *транслокации групп*, который сопровождается химической модификацией переносимого вещества. Например, фосфотрансферазная система используется при переносе сахаров (фруктоза, глюкоза и т.п.), пуринов, некоторых жирных кислот. Механизм ее действия заключается в фосфорилировании и переносе внутрь клетки фосфорилированного (то есть активированного) соединения.

Другой пример системы транспорта представляет перенос Fe^{3+} внутрь бактериальной клетки. Железо относится к макроэлементам и требуется микроорганизмам в относительно больших количествах. Однако в аэробных условиях этот элемент присутствует в среде в окисленной форме – Fe^{3+} , образуя практически нерастворимые соединения, например гидраты оксида железа $FeO(OH)$, карбонат железа $Fe_2(CO_3)_3$, магнитный минерал магнетит Fe_3O_4 и др. В присутствии кислорода соединения трехвалентного железа растворимы только при крайне низких значениях pH, в связи с этим большинство аэробных микроорганизмов для поглощения железа синтезируют и секретируют в среду *сидерофоры* – низкомолекулярные водорастворимые органические соединения, связывающие Fe^{3+} координационными связями с высокой специфичностью и высоким сродством (константа устойчивости порядка 10^{30}). В качестве сидерофоров могут использоваться, например: производные катехола (например энтеробактин); производные гидроксаматов (например ферриоксамин, аэробактин); дикарбоновые и трикарбоновые кислоты; пигменты (у бактерий рода *Pseudomonas* сидерофорами служат пигменты, обуславливающие зеленоватую флуоресценцию их клеток) и др.

Перенос Fe^{3+} внутрь бактериальной клетки при помощи сидерофоров – сложный, строго регулируемый процесс, включающий несколько стадий:

- 1) синтез сидерофоров бактериями;
- 2) выделение сидерофоров в окружающую среду;
- 3) связывание сидерофора с Fe^{3+} с образованием комплекса;
- 4) транспорт комплексов Fe^{3+} с сидерофорами в клетку;
- 5) высвобождение Fe^{3+} из комплекса и восстановление до Fe^{2+} ;
- 6) включение Fe^{2+} в состав компонентов бактериальной клетки.

К настоящему времени описано более 100 бактериальных сидерофоров. Их образуют, например, все исследуемые штаммы *Micromonospora*, *Nocardia* и *Streptomyces* многие представители рода *Pseudomonas* и т.п.

Сходные механизмы комплексообразования действуют и для других поливалентных металлов, известны также соединения микробного происхождения, специфически связывающие цинк и медь.

Перечисленные примеры не исчерпывают все разнообразие механизмов транспорта веществ. Клетки обладают разными системами переноса веществ через ЦПМ, которые включаются при высокой или низкой концентрации субстрата.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>осмотрофный тип питания</i>		
<i>пассивная диффузия</i>		
<i>облегченная диффузия</i>		
<i>активный транспорт</i>		
<i>протонный потенциал</i>		
<i>транслокация групп</i>		
<i>унипорт</i>		
<i>симпорт</i>		
<i>антипорт</i>		
<i>сидерофор</i>		

3.1.2. Типы питания

У микроорганизмов прослеживается много специфического в процессах метаболизма, что выражается различиями источников углерода и энергии, доноров и акцепторов электронов (табл. 2 и табл. 3). По виду энергии, используемой микроорганизмами, их делят на *фото-* (световая энергия) и *хемотрофов* (энергия окислительно-восстановительных реакций). По источникам углерода (или по углеродным субстратам) они дифференцируются на две главные группы – *автотрофы*, фиксирующие CO₂ для конструктивного метаболизма, и *гетеротрофы*, нуждающиеся в готовых органических веществах различной степени сложности.

Многие гетеротрофы могут использовать и CO₂, однако лишь в качестве дополнительного по отношению к органическим соединениям источника углерода. Количество углерода в клетках гетеротрофных микроорганизмов, происходящее из CO₂, обычно не превышает 6% (в ряде случаев – до 30% и выше). В зависимости от природы окисляемого субстрата, называемого донором электронов, различают *литотрофов* (греч. *lithos* – камень), окисляющих неорганические вещества, и *органотрофов*, окисляющих органические вещества. Акцептор электронов – молекулярный кислород (O₂) для *аэробов* или иной для *анаэробов*.

С учетом вышеизложенного в настоящее время известны 16 различных типов питания у прокариот (табл. 2).

Только среди прокариот есть организмы, способные к хемолитоавтотрофии или к хемолитогетеротрофии, то есть получающие энергию при окислении неорганических соединений и ассимилирующие в результате этого процесса CO₂ и органические вещества соответственно. Известны также только бактерии, относящиеся к категориям фотоорганогетеротрофов и фотоорганоавтотрофов (табл. 3).

Таблица 2

Возможные типы питания прокариот

Источник энергии	Доноры электронов	Источник углерода		Акцептор электронов	
		Органические соединения	CO ₂	O ₂	Др. соединения, кроме O ₂
Свет (<i>фото-</i>)	органические соединения (<i>фото-органо-</i>)	<i>фото-органогетеро-</i>	<i>фото-органоавто-</i>	<i>фото-органогетероаэро-</i> трофия (1) фотолитогетеро- <i>аэро-</i> трофия (2)	<i>фото-органогетероанаэро-</i> трофия (5) фотолитогетеро- <i>анаэро-</i> трофия (6)
	неорганические соединения (<i>фото-лито-</i>)	<i>фотолитогетеро-</i>	<i>фотолитоавто-</i>	<i>фото-органоавтоаэро-</i> трофия (3) фотолитоавто- <i>аэро-</i> трофия (4)	<i>фото-органоавтоанаэро-</i> трофия (7) фотолитоавто- <i>анаэро-</i> трофия (8)
Окислительно-восстановительные реакции (<i>хемо-</i>)	органические соединения (<i>хемо-органо-</i>)	<i>хемо-органогетеро-</i>	<i>хемо-органоавто-</i>	<i>хемоорганогетероаэро-</i> трофия (9) хемолитогетеро- <i>аэро-</i> трофия (10)	<i>хемоорганогетероанаэро-</i> трофия (13) хемолитогетеро- <i>анаэро-</i> трофия (14)
	неорганические соединения (<i>хемо-лито-</i>)	<i>хемолитогетеро-</i>	<i>хемолитоавто-</i>	<i>хемо-органоавтоаэро-</i> трофия (11) хемолитоавто- <i>аэро-</i> трофия (12)	<i>хемо-органоавтоанаэро-</i> трофия (15) хемолитоавто- <i>анаэро-</i> трофия (16)

Таблица 3

Примеры прокариот с различными типами питания

<i>№</i>	<i>Способ существования</i>	<i>Представители прокариот</i>
1.	хемолитоавтотрофия	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии
2.	хемолитогетеротрофия	метанобразующие архебактерии, водородные бактерии
3.	хемоорганавтотрофия	факультативные метилотрофы, окисляющие муравьиную кислоту
4.	хемоорганогетеротрофия	большинство прокариот (например, аэробные и анаэробные целлюлозоразрушающие, углеводородокисляющие, аэробные и анаэробные азотфиксирующие, аммонифицирующие бактерии; микроорганизмы, осуществляющие различные типы брожения)
5.	фотолитоавтотрофия	цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии, прохлорофиты
6.	фотолитогетеротрофия	некоторые цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии
7.	фотоорганавтотрофия	некоторые пурпурные бактерии
8.	фотоорганогетеротрофия	пурпурные и некоторые зеленые бактерии, галобактерии, некоторые цианобактерии

Из всех типов питания среди живых организмов наиболее распространены два: фотолитоавтотрофия и хемоорганогетеротрофия. Очевидно, что эти типы питания оказались наиболее выгодными и явились основой для двух главных направлений эволюции, которые привели к возникновению, с одной стороны, растений, а с другой – животных. Остальные типы питания представляют собой как бы «пробы» эволюции. Они сохранились у сравнительно небольшого числа прокариотических организмов, часто обитающих в весьма специфических условиях окружающей среды.

Есть микроорганизмы – *миксотрофы*, способные переходить от одного типа питания к другому. В микробиологии под миксо-

трофией понимается способность организмов использовать одновременно разные источники энергии или синтезировать один и тот же компонент клеток из разных соединений углерода, например, фиксировать по автотрофному пути CO_2 и утилизировать одновременно в биосинтетических процессах органические вещества. Так, некоторые фототрофные бактерии могут расти и при наличии света, и в темноте, поскольку они способны не только использовать энергию света, но и осуществлять аэробное дыхание, а иногда и другие энергетические процессы. Известны также бактерии, одновременно способные и к хемолитоавтотрофии, и к хемолитогетеротрофии. Такие микроорганизмы называют *факультативными* хемолитоавтотрофами или *факультативными* автотрофами. Но правильнее говорить о типах питания, к которым способен тот или иной организм, поскольку их может быть несколько. Ряд микроорганизмов отличается постоянством своих потребностей в питании и соответственно постоянством процессов метаболизма. В их числе есть *облигатные* фототрофы, использующие в качестве источника энергии только свет, и виды, которые облигатно зависят в своем росте от окисления неорганических веществ, т.е. относящиеся к *облигатным* хемолитотрофам.

Различия организмов по типам питания связаны, главным образом, с начальными стадиями их метаболизма. Например, микроорганизмы, использующие для роста целлюлозу или крахмал, обладают ферментами, которые катализируют их превращение в низкомолекулярные соединения так называемого промежуточного метаболизма. Эти же соединения (именуемые иногда *центроболитами*) другие организмы образуют из углеводов, белков и других субстратов. Многие хемоорганогетеротрофы способны использовать в качестве источника энергии и для синтеза разных веществ клеток один и тот же исходный субстрат через образование общих метаболитов, называемых *амфиболитами*.

Наличие сравнительно небольшого числа специфических ферментов, а в отдельных случаях всего одного или двух ферментов, определяет способность некоторых прокариот к хемолитотрофии. Например, использование в качестве источника энергии молекулярного водорода может зависеть от присутствия у

микроорганизмов только фермента гидрогеназы, который катализирует его окисление. Способность к автотрофии также связана с образованием прокариотами небольшого числа особых ферментов, в результате у них реализуется возможность ассимилировать CO_2 с образованием из него всех или большинства органических соединений клеток, к чему гетеротрофы не способны.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>источник энергии</i>		
<i>фототрофы</i>		
<i>хемотрофы</i>		
<i>донор электронов</i>		
<i>литотрофы</i>		
<i>органотрофы</i>		
<i>источник углерода</i>		
<i>акцептор электронов</i>		
<i>миксотрофы</i>		
<i>центраболит</i>		
<i>амфиболит</i>		

3.1.3. Особенности питания микроорганизмов в природе

В природе микроорганизмы обычно находятся в условиях недостатка питательных веществ. Поступление пищевых субстратов происходит неравномерно во времени и в пространстве, поэтому принято характеризовать места обитания микроорганизмов по показателям усредненного потока пищевых веществ за сутки. Например, поток органического углерода в эвтрофных пресных озерах составляет приблизительно 5,0 мг/л в сутки, а в олиготрофных – не превышает 0,1 мг/л. Сходным образом определяются олиготрофные районы морей и океанов. В воде морей, океанов и внутриконтинентальных водоемов содержание органического вещества (в мг/л) в сотни и тысячи раз меньше, чем во

многих традиционных бактериальных питательных средах, например:

Водоемы:

оз. Байкал	1,0 – 2,0
Тихий океан	1,5 – 2,0
Каспийское море	3,0 – 5,0
Рыбинское водохранилище	7,0 – 15,0

Питательные среды:

Мясо-пептонный бульон (МПБ)	400
Мясо-пептонная желатина	54000

Естественные среды обитания микроорганизмов гетерогенны, и даже в условиях весьма низкого потока органического вещества в отдельных местах может создаваться их высокая концентрация в результате скоплений различных экскретов, отмерших организмов и т.п.

По отношению к концентрации питательных веществ в среде различают 2 основные группы прокариот:

1) *олиготрофы* (греч. *oligos* – малый, *trophe* – пища) – бактерии, существование которых в природе зависит от их способности размножаться в местах с низким пищевым потоком (менее 1 мг $C_{\text{орг}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$); к олиготрофам можно отнести представителей родов *Caulobacter*, *Hyphomicrobium* и др.; термин «олиготрофы» был предложен в 1903 г. М. Бейеринком;

2) *копиотрофы* (греч. *copiosus* – изобилие, *trophe* – пища) – бактерии, не только способные расти на богатых питательных средах, но и предпочитающие изобилие пищевых веществ. К копиотрофам относятся бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus* и т.д. Наличие пищевых субстратов в высоких концентрациях – необходимый фактор конкурентоспособности копиотрофов в природе. Копиотрофы развиваются в условиях пищевого потока более 50 мг $C_{\text{орг}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$.

Олиго- и копиотрофы отличаются по ряду ростовых показателей (рис. 4). Между скоростью роста (μ) и концентрацией суб-

страта существует зависимость, установленная Ж. Моно и описываемая уравнением:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \times S}{(K_S + S)}, \quad (3.2)$$

где μ – удельная скорость роста; μ_{\max} – максимальная скорость роста, не ограниченная концентрацией субстрата; K_S – константа Михаэлиса-Ментен, соответствующая концентрации субстрата, при которой достигается $\frac{1}{2} \mu_{\max}$; S – концентрация субстрата в среде.

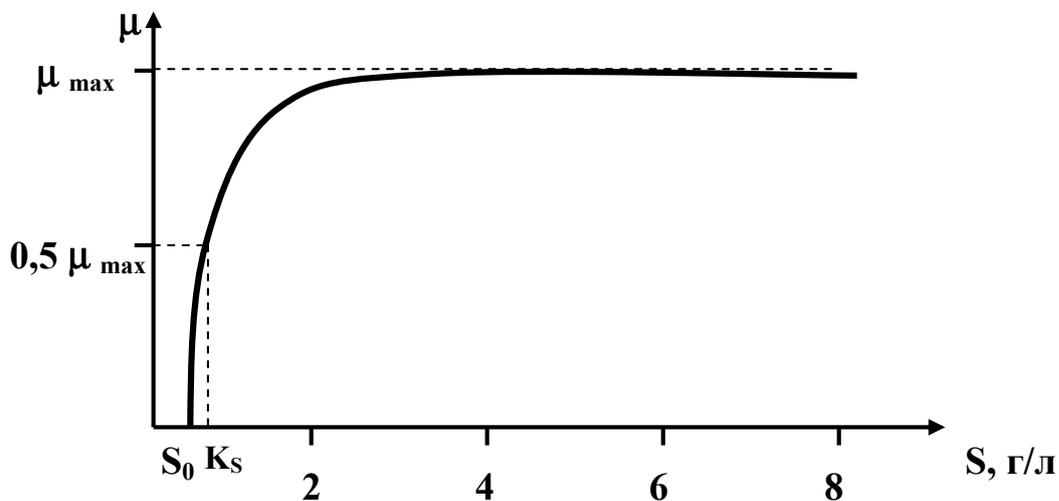


Рис. 4. Зависимость скорости роста μ от начальной концентрации субстрата S :

S_0 – минимальный порог концентрации субстрата,

μ_{\max} – максимальная скорость роста,

K_S – константа Михаэлиса-Ментен

От μ_{\max} и K_S зависит конкурентоспособность организмов. μ_{\max} зависит от природы организма, и соответственно по этому показателю организмы разделяются на быстро и медленно растущих. K_S характеризует сродство организма к субстрату и определяет его способность расти при низких концентрациях субстрата, разделяя виды организмов по эффективности их транспортных систем.

<i>Копиотрофы:</i>	<i>Олиготрофы:</i>
<ul style="list-style-type: none"> - имеют преимущество при обилии субстрата; характерны высокие значения μ_{\max} и K_S; - время удвоения короткое (мин); - имеют системы активного транспорта питательных веществ с высоким аффинитетом к субстрату ($K_S = 10^{-9}$ М); - в условиях голодания или при отсутствии достаточного количества пищи могут в отсутствии роста продолжать делиться, что приводит к появлению ультрамикробактерий (отмечено у родов <i>Arthrobacter</i>, <i>Alcaligenes</i>, <i>Flavobacterium</i>, <i>Pseudomonas</i>, <i>Vibrio</i> и др.); 	<ul style="list-style-type: none"> - приспособлены к малой концентрации субстрата и обладают высоким сродством к субстрату; малая K_S; способны осваивать экологические ниши с нано-(10^{-9}) и пико-(10^{-12}) концентрациями питательных веществ; - время удвоения в диапазоне от 20 до 200 час; - имеют транспортные системы с высоким аффинитетом ($K_S = 10^{-9}$ М) и индуцибельные транспортные системы с низким аффинитетом к субстрату ($K_S = 10^{-6}$ М); функционируют при ничтожно низких концентрациях питательных веществ в среде; - в отличие от копиотрофов обычно не синтезируют изоферменты; - выражена способность к накоплению резервных веществ даже при росте на бедных средах (поли-β-гидроксимасляная кислота, полиглюкоза, полифосфаты); - высокое отношение поверхности к объему клеток; многие обладают необычной морфологией (рис. 5), сложным циклом развития и дифференцировкой клеток (почкующиеся бактерии – представители родов <i>Blas-tobacter</i>, <i>Hyphomicrobium</i>, <i>Hyphomonas</i>, <i>Pedomicrobium</i>; простекобактерии – виды родов <i>Ancalomicrobium</i>, <i>Labrys</i>, <i>Prosthecomicrobium</i>, <i>Stella</i>;

- к копитрофам относится подавляющее число бактерий, исследуемых в лаборатории, поскольку их культивируют на средах, богатых питательными веществами (МПА, РПА, МПБ, глюкозо-пептонно-дрожжевая среда и пр.).

стебельковые бактерии родов *Asticcacaulis*, *Caulobacter*; тороидальные или кольчатые бактерии – представители родов *Microcycclus*, *Renobacter*, *Spirosoma*);

- в лаборатории культивируют на специальных «голодных» средах (агаризованная природная вода и пр.); некоторые не культивируются в лабораторных условиях, обнаружены в природных водоемах при изучении проб в электронном микроскопе.

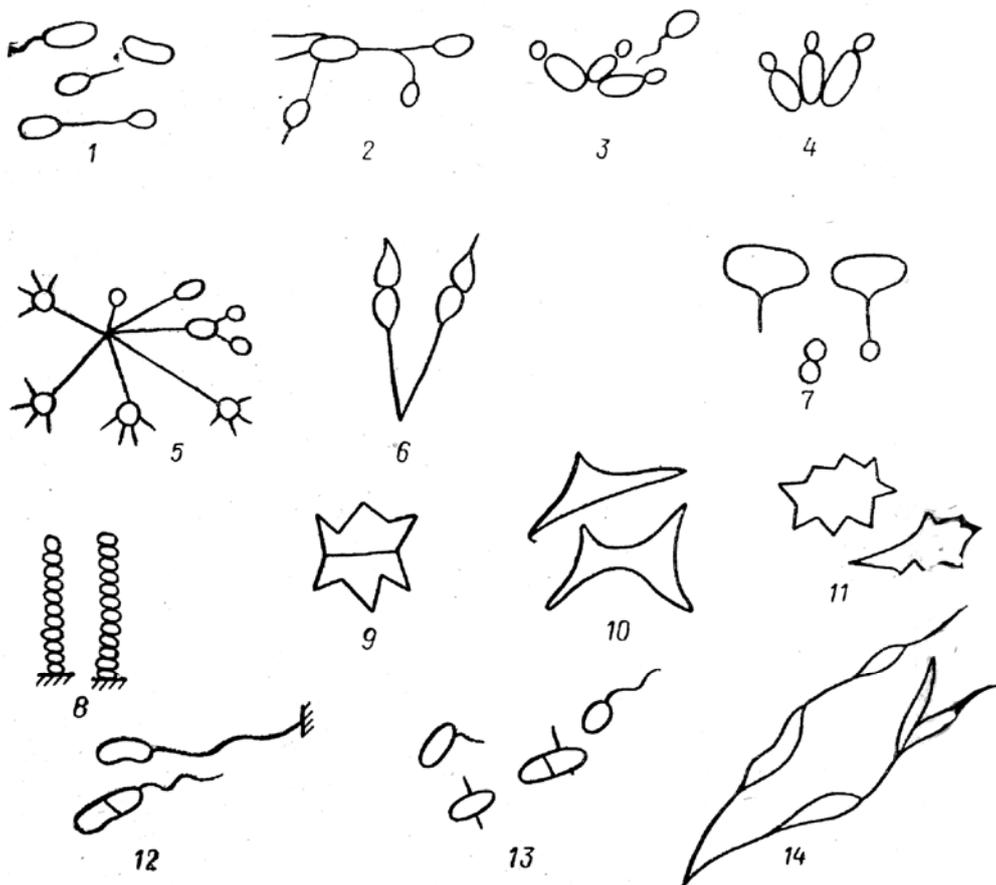


Рис. 5. Простековые и почкующиеся бактерии:

1 – *Hyphomicrobium*; 2 – *Pedomicrobium*; 3 – *Pasteuria*;
 4 – *Blastobacter*; 5, 6 – *Planctomyces*; 7 – Грибовидные бактерии;
 8 – *Seliberia*, 9 – *Ancalomicrobium*; 10 – *Prosthecomicrobium*;
 11 – *Caulobacter*; 12 – *Asticcacaulis*; 13 – *Stella*; 14 – *Thiodendron*

Среди олиготрофов различают 2 группы.

1) *Политрофы*. Обитают при низкой концентрации смеси разных веществ, образуемых при разложении труднодоступных соединений (например гумусовых кислот); обладают способностью использовать широкий спектр органических соединений, образующихся при таком разложении; типичные представители – род *Nocardia* и некоторые коринеформные бактерии.

2) *Диссипотрофы*. Используют рассеянные в среде низкомолекулярные продукты гидролиза полимеров (например целлюлозы); примером аэробных диссипотрофов могут служить простекобактерии, а анаэробных – спирохеты. Еще одну группу диссипотрофов составляют организмы, потребляющие вещества, рассеиваемые из анаэробной зоны как продукты обмена анаэробов. Например, бактерии рода *Acidovorax*, использующие органические кислоты, которые образуют анаэробы при сбраживании углеводов.

Несмотря на достаточную изученность, существует некоторая неоднозначность трактовки термина «олиготрофия» среди отечественных и зарубежных микробиологов, что привело к необходимости формулирования «Концепции реальной олиготрофии», в основу которой заложена уникальность олиготрофов по ряду признаков. К ним относятся:

1) способность развиваться в «голодных» условиях, когда практически отсутствует нижний предел концентрации источников питания;

2) развитие при низкой температуре, в том числе ниже 0°C ;

3) верхний предел по концентрации источников питания – 1 г С/л, при температуре около 30°C ;

4) форма и размеры клеток не являются строгими признаками, но мелкие тонкие клетки, и особенно бактерии со сложным жизненным циклом, клеточными придатками (гифами, стебельками, простеками) и подвижными стадиями в цикле, способны аккумулировать через огромный пространственный градиент источники питания и энергии;

5) лабильность морфологии и жизненных циклов как путь защиты популяций от вредных воздействий;

б) особый химический состав липидов клеточных мембран, который является уникальным и не встречается у других прокариот.

Итак, в природе микроорганизмы обычно находятся в условиях недостатка питательных веществ, при этом важна их способность к выживанию в таких условиях без существенного снижения плотности популяции.

Механизмы устойчивости к голоданию у прокариот:

1) Увеличение поглощения субстрата, даже при его низкой концентрации, например за счет повышения числа систем транспорта или индукции новых транспортных систем, с более высоким аффинитетом к субстрату (у многих бактерий известны специфические высокоаффинные системы транспорта таких субстратов, как глицерол, фосфат, сахара и аминокислоты).

2) Снижение потребностей клеток в энергии, например при образовании покоящихся форм (споры, цисты, микроспоры и др.) или при уменьшении размеров клеток (ультрамикробактерии или карликовые клетки), при этом средние размеры бактериальных клеток в бедных питательными веществами местообитаниях во много (до 30) раз меньше, чем размеры не голодающих клеток.

3) Адаптация клеточного метаболизма путем синтеза индуцируемых голоданием белков (*Sti* – белки, от *Starvation-induced*); данный механизм описан для бактерий, способных образовывать карликовые формы.

4) Увеличение поверхности клетки, например путем образования простек (у олиготрофных бактерий);

5) Образование слизи. Внеклеточная слизь помогает сохранению протонного градиента, а также играет важную роль в сохранении воды при высыхании и в прикреплении клеток к поверхностям.

6) Прикрепление бактериальных клеток к поверхностям. Данный механизм имеет большое значение для обеспечения бактериальных клеток субстратом при его низкой концентрации. Поскольку все молекулы, и полярные, и неполярные, в результате физико-химических взаимодействий накапливаются у границы с поверхностью, прикрепленные бактерии лучше снабжаются субстратами, чем свободные клетки в жидкой среде. При дефиците

субстратов свободноплавающие бактерии обнаруживают тенденцию к смене жизни на прикрепленный. У многих адаптированных к голоданию, олиготрофных бактерий прикрепленная стадия является основной в жизненном цикле.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>олиготрофы</i>		
<i>копиотрофы</i>		
<i>константа Михаэлиса-Ментен</i>		
<i>ультрамикробактерии</i>		
<i>простеки</i>		
<i>политрофы</i>		
<i>диссипотрофы</i>		

3.2. Действие антисептиков на микроорганизмы

Антисептик (греч. *anti* – против, *septicos* – гнилостный) – соединение, обладающее противомикробными свойствами. Антисептики применяют: в медицине (для лечения ран и дезинфекции инструментов, одежды, помещений), в пищевой промышленности (для защиты продуктов от порчи), для предотвращения от порчи деревянных сооружений, для дезинфекции питьевой воды и пр. Очевидно, что для бактерий антисептики являются важными экологическими факторами.

Антисептики обладают:

1) *бактериостатическим* (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; *stasis* – стояние на месте) действием, т.е. останавливают рост бактерий;

2) *бактерицидным* (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; лат. *caedere* – убивать) действием, т.е. вызывают гибель бактерий;

3) *бактериолитическим* (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; *lysis* – лизис, разрушение) действием, т.е. лизируют бактерии.

Антисептики бывают органической и неорганической природы. В зависимости от химической структуры антисептики разделяют на несколько групп.

1) Галогены, их органические и неорганические производные. Наиболее известны хлорсодержащие соединения: хлорная вода, хлорамины, гипохлориты, хлорная известь. При растворении этих веществ в воде образуется хлорноватистая кислота (HClO), обладающая сильным антимикробным действием. Как сильный окислитель и как хлорирующее вещество, HClO вызывает и спонтанные окислительные процессы, и хлорирование аминогрупп различных соединений, находящихся в бактериальной клетке. Хлорсодержащие вещества используют для обеззараживания питьевой и сточной воды, дезинфекции предметов и помещений. Йод является не менее сильным окислителем, чем хлор. Применяется йод в виде 5,0 – 10,0%-ного спиртового раствора; 2,5%-ного раствора йодистого калия в 90,0%-ном спирте. Спиртовые растворы йода широко применяются в медицине и ветеринарии как антимикробные агенты. Бром обладает сильным бактерицидным действием. Метилбромид (CH_3Br) применяется для дезинфекции зерна и зернохранилищ.

2) Неорганические и органические кислоты. Механизм действия кислот связан со смещением оптимального для роста бактерий диапазона рН в кислую сторону, что приводит, например, к нарушению транспорта веществ в бактериальную клетку и др. Кроме того, некоторые неорганические кислоты обладают мутагенным действием. Например, азотистая кислота дезаминирует пуриновые и пиримидиновые основания. Из органических кислот наиболее известны молочная, муравьиная, уксусная, бензойная, борная, салициловая, пропионовая кислоты. Обладают хорошо выраженным бактериостатическим действием, что позволяет использовать некоторые из них для консервирования продуктов (соление и квашение). Например, много бензойной кислоты в клюкве и бруснике (~ 180 мг на 100 г ягод), поэтому эти ягоды долго не портятся; 0,03 – 0,10% пропионовой кислоты добавляют в хлебобулочные изделия для повышения сроков годности продуктов.

3) Окислители. Наиболее известны O_3 (озон), H_2O_2 (пероксид водорода) и $KMnO_4$ (перманганат калия). O_3 используется для обеззараживания воды, для дезинфекции в овощехранилищах; H_2O_2 и $KMnO_4$ – в быту для обеззараживания ран. Перманганат калия является сильным окислителем, при взаимодействии с органическими веществами бактериальной клетки вызывает их окисление, при этом восстанавливается до MnO_2 . Водные растворы $KMnO_4$ (0,01 – 0,05 %-ные) используются в хирургии как бактерицидное средство. Механизмы действия озона и пероксида водорода на прокариоты подробно рассмотрены ниже.

4) Щелочи (NH_4OH , сода и др.). Механизм действия щелочей связан со смещением оптимального для роста бактерий диапазона рН в щелочную сторону, что приводит, например, к нарушению транспорта веществ в бактериальную клетку и др.

5) Соли тяжелых металлов (свинец, кобальт, медь, цинк, золото, серебро, висмут и пр.) в виде органических и неорганических соединений. Механизмы действия тяжелых металлов подробно рассмотрены ниже.

6) Спирты (этиловый, изопропиловый). Растворяют липиды клеточных мембран, а в концентрации 70% вызывают коагуляцию белков.

7) Альдегиды (формальдегид, уротропин). 2-3%-ный раствор формальдегида используется для дезинфекции предметов, загрязненных патогенными микроорганизмами. 40%-ный раствор формальдегида – формалин, используют для сохранения биологических препаратов: тканей, органов, организмов, а также для дезинфекции.

8) Фенолы также обладают сильным бактерицидным действием. Как правило, эти соединения хорошо растворяются в липидах и способны аккумулироваться в клетках прокариот, вызывая их гибель. Гидроксильная группа фенолов может реагировать с аминогруппами аминокислот и белков, при этом образуются нерастворимые соединения, что в свою очередь приводит к необратимому нарушению коллоидного состояния клеток. Фенол (C_6H_5OH) является стандартом, с которым сравнивают силу действия других бактерицидных соединений. Результаты сравнения называют *фенольным коэффициентом*. Например, если испытуе-

мый препарат при одинаковых условиях опыта эффективнее фенола в 2 раза, то фенольный коэффициент испытанного препарата равен 2.

9) Продукты сухой перегонки органических материалов – различные смолы, дегти, ихтиол. Обладают бактериостатическим и бактерицидным действием.

10) Красители, например, бриллиантовый зеленый (спиртовой раствор в быту – «зеленка» для обеззараживания ран), генцианвиолет, метиленовый синий, производные акридина и др. Механизм бактерицидного действия красителей основан на том, что основные красители реагируют с карбоксильными группами белков клетки, а кислые красители – с аминогруппами, связывая и нарушая их функцию. Многие красители, используемые в цитологической практике, обладают мутагенным действием (например, акрифлавин, нейтральный красный, метиленовый синий, болуидиновый синий и профлавин).

11) Антисептики растительного и животного происхождения. Например, фитонциды растений и выделения сальных желез у животных.

12) Сульфаниламиды (лекарственные препараты) обладают сильным бактерицидным действием. Эти вещества оказывают отрицательное влияние на бактериальный синтез фолиевой кислоты, которая является чрезвычайно важной для жизнедеятельности прокариот.

13) Поверхностно-активные вещества (ПАВ), или детергенты, они понижают поверхностное натяжение благодаря тому, что не образуют с водой гомогенных растворов, а находятся на ее поверхности в значительно более высокой концентрации, чем в толще воды. К ПАВ, например, относятся додецилсульфат Na, сульфанол, моноэтаноламид, алифатические спирты с длинной цепью, желчные кислоты и др. ПАВ широко применяются для производства синтетических моющих средств (СМС), которые также обладают антибактериальным действием. Основными механизмами действия ПАВ является коагуляция белков, нарушение полупроницаемости ЦПМ и осмотического равновесия, приводящее к удалению из клеток аминокислот и других необходимых веществ. В конечном итоге, снижение поверхностного натя-

жения питательной среды в результате внесения ПАВ приводит к остановке размножения и роста микроорганизмов, при этом могут образовываться очень крупные деформированные клетки, задерживается или даже полностью прекращается спорообразование. Ряд бактерий вообще не растет на средах с низким поверхностным натяжением.

14) Некоторые антибиотики антисептического назначения. Например, грамицидин, колимицин, стрептоцид и др.

Многие антисептики относятся к так называемым *олигодинамическим веществам* (греч. *oligos* – малый, *dinamys* – сила), т.е. к таким соединениям, которые оказывают губительное действие в небольших концентрациях. Антисептики действуют в разбавлении 1 : 10 000 на вегетативные клетки и 1 : 500 на споры. К олигодинамическим веществам относятся, например, соли тяжелых металлов. В небольших количествах тяжелые металлы даже стимулируют метаболизм микроорганизмов, т.к. являются для них необходимыми микроэлементами, входящими в состав тех или иных ферментов. Стимуляция метаболизма микроорганизмов невысокими концентрациями токсических соединений может также объясняться *эффектом Арндт-Шульца*: аккумуляция яда в не летальных концентрациях на поверхности клетки изменяет проницаемость мембраны, нарушает ее барьерные функции, что определяет свободное поступление пищи в клетку и возрастание скорости метаболических реакций. При повышении концентрации солей тяжелых металлов наблюдается их бактерицидный эффект. Токсичное действие тяжелых металлов могут оказывать в концентрациях: Hg^{2+} , Ag^{2+} – 10^{-8} – 10^{-6} М; Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} – 10^{-6} – 10^{-4} М.

Механизмы токсичного действия тяжелых металлов:

1) взаимодействуют практически со всеми классами веществ, участвующих в метаболизме клетки, что приводит к нарушению обмена веществ;

2) вызывают нарушение функций ЦПМ (особенно это характерно для ртути, серебра, меди, кадмия, кобальта и никеля); сопровождается утечкой внутриклеточного калия и уменьшением электропроводности цитоплазмы;

3) ингибируют процессы дыхания, фотосинтеза, синтеза белка и РНК за счет блокировки ферментов, поэтому тяжелые металлы являются «ферментными ядами» (особенно это характерно для меди, серебра, ртути и мышьяка);

4) обладают мутагенным действием.

Интересно, что бактерии способны концентрировать тяжелые металлы внутри клеток и/или в поверхностных структурах. В некоторых случаях накопление металлов летально, в других нет. Например:

БГКП	– в клетках накапливают до 90 мг кадмия на 1 г сухой биомассы;
<i>Azotobacter sp.</i>	– накапливает до 300 мг свинца на 1 г сухой биомассы;
<i>Micrococcus luteus</i>	– накапливает до 490 мг свинца на 1 г сухой биомассы;
<i>Nostoc spp.</i>	– цианобактерии, способны накапливать кадмий, титан, алюминий.

Известны микроорганизмы, устойчивые к действию тяжелых металлов (например эубактерии рода *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio* и др.). Устойчивость закреплена генетически в хромосоме или в плазмидах. Гены устойчивости к тяжелым металлам иногда соединены с генами устойчивости к антибиотикам.

Установлено, что рост микроорганизмов в присутствии тяжелых металлов может обеспечиваться:

1) выведением тяжелых металлов из клеток (снижение аккумуляции тяжелых металлов клетками);

2) путем внутриклеточного обезвреживания;

3) образованием капсул;

4) выделением в среду различных органических соединений, образующих комплексы с тяжелыми металлами;

5) образованием сероводорода (H_2S), который при взаимодействии с тяжелыми металлами приводит к образованию нерастворимых сульфидов;

6) синтезом детоксицирующих ферментов;

7) восстановлением или метилированием тяжелых металлов с образованием летучих соединений.

Рассмотрим подробнее вышеуказанные механизмы. Меньшая величина накопления тяжелых металлов у устойчивых штаммов по сравнению с чувствительными в одних случаях определяется генами плазмид, в других – является результатом хромосомных мутаций. В качестве возможного механизма снижения аккумуляции тяжелых металлов, в частности, Zn^{2+} и Cu^{2+} , рассматривают конкуренцию и обмен их с H^+ на поверхности клеток. Подтверждением этому служит тот факт, что наиболее устойчивыми к тяжелым металлам являются ацидофильные бактерии (например тионовые бактерии), которые могут расти при концентрациях тяжелых металлов до $10^3 - 10^5$ мг/л.

Обезвреживание тяжелых металлов происходит в результате их связывания, хелатирования, осаждения и трансформации с образованием малотоксичных инертных форм и в некоторых случаях приводит к выходу тяжелых металлов из клеток. Например, у грамотрицательных бактерий происходит связывание катионов тяжелых металлов с белками, богатыми цистеином, которые локализованы в клеточной мембране.

Кроме того, защитным механизмом у некоторых бактерий является образование слизистых капсул, а также способность к конститутивному или индуцированному присутствием тяжелых металлов выделению в среду различных органических соединений, образующих комплексы с тяжелыми металлами.

Еще одним механизмом обезвреживания может служить образование нерастворимых сульфидов тяжелых металлов в результате взаимодействия их с сероводородом, образующимся в клетках. Сульфиды тяжелых металлов аккумулируются на поверхности клетки, не проникая в цитоплазму. Этот механизм описан, например, для бактерий *Desulfovibrio desulfuricans*, *Klebsiella aerogenes*, *Clostridium cochlearium* и некоторых других. *Desulfovibrio desulfuricans* является сульфатредуктором, у которого H_2S образуется в процессе диссимиляционного восстановления сульфатов; у бактерий двух других видов – *Klebsiella aerogenes* и *Clostridium cochlearium* сероводород образуется в результате анаэробного разложения серосодержащих органических веществ.

В некоторых случаях устойчивость к тяжелым металлам у микроорганизмов может быть связана с синтезом детоксицирующих ферментов. Например, адаптация бактерий *Bacillus megaterium* к высокому содержанию в среде селена связана с образованием фермента селенредуктазы, с помощью которого растворимые соединения селена переводятся в нерастворимые и таким образом обезвреживаются.

Известным механизмом устойчивости к ртути у прокариот является также восстановление Hg^{2+} до Hg^0 , приводящее к ее летучиванию. Для нескольких штаммов бактерий рода *Pseudomonas* и для *E. coli* установлено, что этот процесс происходит с участием особой ферментативной системы, которая является индуцибельной и закодирована в плазидах.

Микроорганизмы способны метилировать тяжелые металлы с образованием металлоорганических соединений. Однако эти соединения могут быть более ядовиты, чем свободные металлы (например метилртуть или диметилртуть), они часто летучи и поэтому выделяются из клеток микроорганизмов в атмосферу. В свою очередь, металлоорганические соединения снова подвергаются микробной деградации, при которой свободные металлы выделяются в среду. Оба этих процесса играют важную роль в круговороте металлов в природе.

У некоторых видов прокариот устойчивость к определенным тяжелым металлам обеспечивается более чем одним механизмом.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>антисептик</i>		
<i>бактериостатическое действие</i>		
<i>бактерицидное действие</i>		
<i>бактериолитическое действие</i>		
<i>фенольный коэффициент</i>		
<i>олигодинамическое вещество</i>		
<i>эффект Арндт-Шульца</i>		
<i>ферментные яды</i>		
<i>метилирование металлов</i>		

3.3. Действие антибиотиков на микроорганизмы

Антибиотики (греч. *anti* – против, *bios* – жизнь) – специфические продукты жизнедеятельности организмов (бактерий, грибов, растений и животных) или их химические модификации, обладающие высокой физиологической активностью к определенным группам микроорганизмов, избирательно задерживая их рост или полностью подавляя развитие.

Антибиотики обладают бактериостатическим и бактерицидным действием. В настоящее время известно свыше 8500 видов антибиотиков. Образование антибиотиков микроорганизмами рассматривается как форма антагонизма между различными видами.

Специфичность действия антибиотиков заключается в:

1) олигодинамичности, в низких концентрациях антибиотики проявляют высокий физиологический эффект; например, пенициллин в концентрации 1 мкг/мл (10^{-6} г/мл) оказывает бактерицидное действие.

2) избирательности действия, т.е. антибиотик проявляет свое биологическое действие лишь по отношению к определенным организмам или к группе организмов; например, бензилпенициллин задерживает рост грамположительных бактерий, не оказывая влияние на грамотрицательных. Однако известны антибиотики широкого спектра действия, оказывающие бактерицидное или бактериостатическое действие в отношении разных групп патогенных прокариот.

Механизмы действия антибиотиков:

1) нарушают синтез пептидогликана КС бактерий (например *пенициллин*, *цефалоспорин*, *новобиоцин* и др.);

2) повышают проницаемость ЦПМ бактерий, а также внешней мембраны грамотрицательных бактерий (например *полимиксин*, *бацитрацин*, *субтилин* и др.);

3) нарушают процесс синтеза белка, например: *стрептомицин* и *неомицин* тормозят процесс связывания аминокислот между собой; *эритромицин* нарушает функции субъединиц рибосом;

тетрациклин препятствует присоединению аминоацил-тРНК к рибосомам;

4) подавляют синтез нуклеиновых кислот; например: *митомицин С* образует поперечные сшивки в двойной спирали ДНК; *актиномицин Д* образует с ДНК комплекс, присоединяясь к остаткам гуанина, нарушает синтез РНК всех трех типов; *рифампицин* воздействует на ДНК-зависимую РНК-полимеразу и подавляет тем самым синтез иРНК.

Антибиотики широко используются человеком как лекарственные препараты для лечения инфекций и в качестве консервантов скоропортящихся продуктов (мясо, рыба, сыр, овощи и др.). Широкое применение антибиотиков и образование их самими микроорганизмами означает, что для бактерий антибиотики являются важными экологическими факторами, что в свою очередь привело к возникновению устойчивых к антибиотикам микроорганизмов. Если речь идет о патогенных бактериях, то приобретение ими резистентности к лекарственным препаратам – антибиотикам выливается в большую медицинскую и экономическую проблему.

Механизмы резистентности бактерий к антибиотикам:

1. Снижение проницаемости КС для антибиотиков и подавление его транспорта к внутриклеточным мишеням (мишень – структура бактериальной клетки, которая «страдает» от антибиотика).

2. Ускоренное выделение антибиотика из клетки.

3. Модификация мишеней.

4. Снижение физиологической значимости мишени за счет дублирования способов образования жизненно важных метаболитов.

5. Конкурентное связывание (перехват) антибиотика.

6. Инактивация антибиотика. Например, β -лактамазы инактивируют пенициллины и цефалоспорины.

Резистентность к антибиотикам у микроорганизмов бывает двух видов:

1) *первичная резистентность*, закодирована в хромосомных генах, это видовой признак; например, грамотрицательные бактерии (за исключением бактерий рода *Neisseria*) не чувствительны

к природным пенициллинам, т.к. они плохо проникают через их наружную мембрану;

2) *вторичная (приобретенная) резистентность* возникает за счет переноса генов резистентности (r-генов) от одной клетки к другой. Такая резистентность обычно закодирована в R-плазмидах. Считается, что за широкое распространение устойчивости к антибиотикам отвечает горизонтальный перенос генов у бактерий. Именно вторичная резистентность причиняет много хлопот человеку, т.к. возникают устойчивые формы бактерий, вызывающих инфекции и нужно постоянно вести поиск новых антибиотиков. Например:

Staphylococcus aureus - возбудитель стафилококковой инфекции, 90 – 98% бактерий этого вида в настоящее время устойчивы к пенициллину;

Shigella spp. - возбудители дизентерии, бактерии приобрели устойчивость к тетрациклину и хлорамфениколу;

Haemophilus influenzae - возбудитель менингита, устойчив к тетрациклину и ампициллину;

Neisseria gonorrhoeae - возбудитель гонореи, приобрел устойчивость к ампициллину.

В научной литературе всегда можно найти сведения о выделении из микроорганизмов или о химическом синтезе новых антибиотиков, а также об установлении факта резистентности бактерий к тем или иным антибиотикам. Считается, что использование какого-либо нового антибиотика ведет к возникновению устойчивых к нему форм бактерий. Может иметь место *полirezистентность* – устойчивость сразу к нескольким антибиотикам (несколько R-плазмид в клетке).

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>антибиотики</i>		
<i>избирательность действия антибиотиков</i>		
<i>первичная антибиотикорезистентность</i>		
<i>вторичная антибиотикорезистентность</i>		
<i>R-плазмиды</i>		
<i>полирезистентность</i>		

3.4. Температура и микроорганизмы

Жизнь организмов определяется температурой больше, чем каким-либо фактором внешней среды, в связи с тем, что все организмы построены из химических компонентов и все процессы жизнедеятельности протекают на основе химических реакций, подчиненных законам термодинамики. Температура действует не только на скорость химических реакций, но также является причиной структурной перестройки белков, фазовых переходов липидов, изменения структуры воды и т.п. Температурная амплитуда биохимической активности относительно мала в связи со специфическими свойствами биомолекул.

В настоящее время общий температурный диапазон активного развития прокариот (деления клеток, сопровождаемого репликацией ДНК) определяется как $-5...+113^{\circ}\text{C}$, т.е. составляет почти 120°C . Однако температурный диапазон развития одного определенного вида значительно уже, обычно порядка $30 - 40^{\circ}\text{C}$. Нижняя граница активной жизнедеятельности микроорганизмов лимитируется, прежде всего, наличием капельно-жидкой воды, постоянный приток которой в клетке поддерживает пространственную структуру белков и других биомолекул, протекание процессов ассимиляции и диссимиляции. Поэтому кристаллизация воды в окружающей среде и в клетках, имеющая место при минусовых температурах, является критическим «событием» в их жизни. Су-

дя по многочисленным фактам выживания микроорганизмов после глубокого охлаждения, холод не нарушает органических соединений вследствие ряда адаптаций к сохранению части воды в жидком состоянии, выработавшихся у прокариот в процессе эволюции. Поэтому нижняя температурная граница жизнедеятельности прокариот более широка и «размыта», в то время как верхний температурный порог жизнедеятельности довольно узок и определяется, главным образом, необратимой денатурацией белков и инактивацией нуклеиновых кислот.

В зависимости от оптимальной температуры развития выделяют три основные группы микроорганизмов: 1) *психрофилы* (оптимум $< +20^{\circ}\text{C}$), 2) *мезофилы* (оптимум в области $+20 \dots +30^{\circ}\text{C}$), 3) *термофилы* (оптимум $> +50^{\circ}\text{C}$). Термофилы, в свою очередь, подразделяются на отдельные подгруппы (рис. 6).

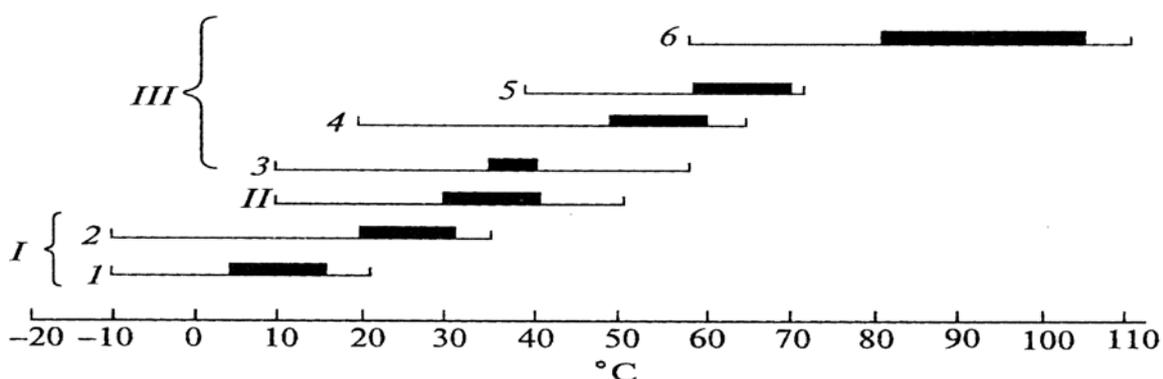


Рис. 6. Отношение к температуре разных групп микроорганизмов

I – психрофильные: 1 – психрофилы, 2 – психроактивные; II – мезофилы, III – термофилы: 3 – термотолерантные, 4 – факультативные, 5 – облигатные, 6 – экстремальные. Жирной линией выделены оптимальные температуры роста.

Психрофилы (греч. *psychria* – холод, *phileo* – люблю) растут в диапазоне от -10 до $+20^{\circ}\text{C}$ и выше с оптимумом $+15^{\circ}\text{C}$, могут существовать только в местах с постоянно низкой температурой (подземные и обледенелые пещеры, глубинные слои морей и

океанов). У некоторых психрофилов при повышении температуры нарушается процесс деления, образуются нитчатые клетки, изменяется структура КС и ЦПМ, происходит утечка в среду клеточных метаболитов и начинается лизис клеток.

Расти при низкой температуре могут также организмы, получившие название *психроактивных* (ранее их называли *психротрофными*). По сути, такие бактерии являются эвритермными, обладающими достаточной активностью при низких температурах (от 0 до +10°C). Растут при 0°C, оптимум при этом около +25 ... +30°C, максимальная температура – (+30°C). Психроактивные бактерии – обитатели почв, болот и т.п. умеренной зоны и обладают адаптацией к жизни в широком диапазоне температур. Например, психроактивный вид *Ruminococcus palustris*, выделенный из низового болота умеренной зоны, способен расти в температурном интервале от 0°C до +33°C с оптимумом +30°C. Известны психроактивные виды родов *Acetobacterium*, *Alcaligenes*, *Chromatobacterium*, *Flavobacterium*, *Methanosarcina*, *Pseudomonas* и др. Психроактивные микроорганизмы могут развиваться в пищевых продуктах, которые хранятся при низких температурах. Так, в мясе при температуре хранения ниже 0°C размножаются психроактивные псевдомонады, грамположительные бактерии и даже патогенные и токсигенные виды, в том числе *Clostridium botulinum*.

Экофизиологическое различие между психрофилами и психроактивными микроорганизмами достаточно велико. Если психрофилы существуют в постоянно холодных условиях при незначительном колебании температур; то психроактивные микроорганизмы приспособлены к сезонным изменениям климата. Психрофилы не способны расти при температуре выше +20°C, а верхняя температурная граница психроактивных форм намного выше – до +30°C.

Психрофилы широко распространены в природе, поскольку полярные регионы и океаны составляют 14% и 71% поверхности земного шара соответственно. Температура в Антарктиде даже летом не превышает 0°C, при этом в 1 г почвы содержится 10^2 – 10^3 клеток бактерий. Психрофилы обнаружены в условиях Арктики, в рассолах криопэгов, являются обитателями океанов

(средняя температура воды у поверхности океанов составляет $+5^{\circ}\text{C}$, около дна – $+1 - 2^{\circ}\text{C}$), встречаются в свободном состоянии в воде и входят в состав нормальной микробиоты живых организмов.

Особенности психрофилов:

1. Модификация клеточных структур, которая заключается в:
- повышении относительного содержания ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран, что позволяет мембранам находиться в функционально активном жидкостно-кристаллическом состоянии при низких температурах;

- небольшой длине углеродных цепей жирных кислот в липидах мембран;

- наличии необычных полиненасыщенных жирных кислот в мембранах.

2. Накопление в клетках больших количеств наиболее важных ферментов, так что даже при неоптимальной температуре их функционирование позволяет клетке поддерживать достаточную активность.

3. Ферменты психрофилов имеют низкие температурные оптимумы активности и обладают термолабильностью.

4. Снижена температура синтеза белков.

5. Белки психрофилов по сравнению с мезофильными содержат больше полярных групп.

6. Транспортные системы лучше работают при низких температурах.

7. Синтез криопротекторов (например глицерола).

Психрофилия объясняется исключительно физиолого-биохимическими свойствами бактерий, цитоморфологических особенностей у психрофильных бактерий не обнаружено. Обязательное условие возможности роста психрофилов при минусовых температурах – нахождение воды в жидком состоянии. Большинство известных психрофилов относятся к родам *Vibrio* и *Pseudomonas*. Встречаются психрофильные виды в родах *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Nitrobacter*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Streptococcus* и др.

К мезофилам (греч. *mesos* – средний, промежуточный, *phileo* – люблю) относится большинство известных видов микро-

организмов, у которых оптимальные температуры роста лежат между $+30$ и $+40^{\circ}\text{C}$, а температурный диапазон, в котором возможен рост, находится между $+10$ и $+45 \dots +50^{\circ}\text{C}$. Верхняя температурная граница близка к температуре при максимальном нагреве почвы солнцем. Типичным мезофилом является *Escherichia coli*: нижняя граница роста – $(+10^{\circ}\text{C})$, верхняя – $(+49^{\circ}\text{C})$, оптимум – $(+37^{\circ}\text{C})$ при росте на богатой среде. Эта группа наиболее хорошо изучена. Большинство видов микроорганизмов, используемых в микробиологической промышленности, относится к мезофилам. К ним, помимо большого количества свободноживущих видов, относятся патогенные виды бактерий.

В связи с этим возникает как с практической, так и с теоретической точки зрения важный вопрос: возможен ли рост патогенных бактерий при низких температурах? При попадании в окружающую среду, где температура значительно ниже, бактерии-паразиты гомойотермных организмов могут испытывать перепад температур до $30 - 40^{\circ}\text{C}$. Оказалось, что большое количество видов патогенных бактерий имеют широкий температурный диапазон роста (от 0 до $43 - 45^{\circ}\text{C}$). Например, возбудитель чумы *Yersinia pestis* может расти от -2°C до $+40^{\circ}\text{C}$; возбудитель лимфаденита *Y. pseudotuberculosis* – от 0°C до $+40^{\circ}\text{C}$; возбудитель кишечных расстройств *Y. enterocolitica* – от $+0,5^{\circ}\text{C}$ до $+42^{\circ}\text{C}$; возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* – от $+4^{\circ}\text{C}$ до $+37^{\circ}\text{C}$.

Обнаружение жизнеспособных патогенных бактерий (сальмонелл, шигелл, йерсиний, стафилококков, псевдомонад, клостридий, бацилл, листерий, клебсиелл, микобактерий и др.) в почве, воде, или водоемов, животных и растительных остатках свидетельствует о том, что значительное количество видов бактерий-паразитов могут размножаться при температуре гораздо ниже температурного оптимума. Так, было доказано, что возбудитель холеры *Vibrio cholerae* может размножаться при $+5^{\circ}\text{C}$, а возбудитель туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* – при $+20^{\circ}\text{C}$. Несомненным является факт, что некоторые патогенные бактерии (например бациллы и микобактерии) способны выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды благодаря способности образовывать покоящиеся формы.

Термофилы (греч. *therme* – тепло, *phileo* – люблю) растут при температурах выше $+50^{\circ}\text{C}$. Выделяют 4 подгруппы термофилов.

1) *Термотолерантные* живут в диапазоне температур от $+10^{\circ}\text{C}$ до $+55 \dots +60^{\circ}\text{C}$; оптимум при $+35 \dots +40^{\circ}\text{C}$. Основное отличие от мезофилов – способность расти при повышенных температурах, хотя оптимальные температуры роста для обеих групп находятся на одном уровне. Обитатели термальных источников, разогревающихся куч компоста и угля.

2) *Факультативные термофилы* имеют максимальную температуру роста между $+50$ и $+60^{\circ}\text{C}$, но способны также к размножению при комнатной температуре ($+20^{\circ}\text{C}$); оптимум приходится на область температур, близких к верхней границе роста. Особенность этой группы прокариот – способность к росту в области от $+20$ до $+40^{\circ}\text{C}$.

3) *Облигатные термофилы* растут при температурах около $+70^{\circ}\text{C}$, нижняя граница роста – ($+40^{\circ}\text{C}$). Оптимальная температурная область примыкает к верхней температурной границе роста. Представители этой подгруппы: эубактерии *Bacillus acidocaldarius*, *Synechococcus lividis*, архебактерии *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Thermoplasma acidophilum* и др.

4) *Экстремальные термофилы*: оптимум в области $+80 \dots +105^{\circ}\text{C}$, минимальная граница роста $+60^{\circ}\text{C}$ и выше, максимальная – до $+110^{\circ}\text{C}$. К экстремальным термофилам относятся исключительно архебактерии. Например, представители родов *Methanopyrus*, *Methanococcus*, *Methanocaldococcus*, *Pyrococcus*, *Pyrodictium*, *Pyrolobus*, *Sulfolobus*, *Thermoproteus*, *Thermococcus*, *Thermofilum* и др.

Облигатные и экстремальные термофилы – обитатели наземных и глубоководных гидротерм, высокотемпературных нефтяных месторождений и нагретой подземной гидросферы.

Рекордсменом среди экстремальных термофилов считается хемолитоавтотрофная архебактерия *Pyrolobus fumarii*, способная расти при температуре от $+90$ до $+113^{\circ}\text{C}$ (оптимум около $+106^{\circ}\text{C}$) и, следовательно, представляет верхнюю температурную границу живого. Ферменты этого вида могут иметь даже более высокий температурный оптимум активности ($+142^{\circ}\text{C}$ для амилопуллулазы). Бактерии родов *Pyrolobus* и *Pyrodictium* способны пережи-

вать автоклавирование – стерилизацию при избыточном давлении (1 атм) паром при температуре 121⁰С в течение 20 мин.

Появились публикации об обнаружении бактерий, способных расти при температуре воды +250 ... +300⁰С и давлении 265 атм (при этом давлении вода в жидком состоянии может находиться до +460⁰С). Эти бактерии выделены из проб воды Тихого океана, поднятых с глубины 2560 м. Они существуют в горячих струях, выбрасываемых на дне океана так называемыми «черными гейзерами» (или еще их называют «черными курильщиками»).

Особенности термофилов:

1. Модификация клеточных структур:

- повышение относительного содержания насыщенных жирных кислот в липидах мембран, что привело к увеличению температуры плавления липидов и термостабильности мембран;

- жирные кислоты липидов имеют большую длину углеродных цепей по сравнению с таковыми у мезофилов (у мезофилов в среднем С₁₅-кислоты, у термофилов – С₁₅ – С₁₉);

- преобладание жирных кислот с разветвленными цепями, что способствует увеличению механической прочности мембран;

- наличие в мембранах у гипертермофильных архебактерий специфических липидов – углеводородсодержащих бифитаниловых эфиров вместо жирных кислот.

2. Многочисленные аминокислотные замены, стабилизирующие белки термофилов в условиях термической денатурации.

3. В клетках экстремальных термофилов присутствуют особые белки – шапероны, которые организованы в так называемые термосомы, способствующие формированию специфически термостабильной третичной структуры белков.

4. Наличие в клетках специфических полиаминов (спермин, спермидин, путресцин, термин и др.), которые стабилизируют ДНК и аппарат синтеза белка.

5. тРНК и рРНК обладают исключительно высокой термостабильностью за счет повышенного содержания Г-Ц пар и наличия модифицированных оснований.

6. Некоторые термофилы способны образовывать по крайней мере две формы одного и того же фермента, различающиеся термоустойчивостью. Например, у бактерии *Bacillus stearothermophi-*

lus, выращенной при +55⁰С, α-амилаза более термостабильна, чем у той же бактерии, выращенной при +37⁰С.

7. ДНК термофилов содержит больше Г-Ц пар, чем ДНК мезофилов. Увеличение количества Г-Ц пар повышает температуру, при которой происходит денатурация ДНК.

8. Термостабильность ДНК обеспечивается суперспирализацией, которая достигается действием специфического фермента – обратной гиразы.

9. Высокая внутриклеточная концентрация солей, полиаминов, низкомолекулярных ДНК – связывающих белков.

Предполагается, что термофильные и гипертермофильные организмы имеют высокоэффективные механизмы репарации ДНК, суть которых пока не изучена.

В нашей стране за последнее время выделено и охарактеризовано значительное количество новых таксонов термофильных прокариот: новый порядок *Nautiliales*, семейство *Nautiliaceae*, роды *Desulfurella*, *Hippea*, *Nautilia*, *Oceanithermus*, *Vulcanithermus*, *Caldithrix*, *Thermovenabulum*, *Tepidibacter*, *Carboxydocella*, *Thermoincola*, а также большое количество новых видов.

Считается, что термофилы являются предками психрофилов, адаптация последних к низкой температуре произошла около 1 млн. лет назад.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>психрофилы</i>		
<i>психроактивные бактерии</i>		
<i>мезофилы</i>		
<i>термотолерантные бактерии</i>		
<i>факультативные термофилы</i>		
<i>облигатные термофилы</i>		
<i>экстремальные термофилы</i>		

3.5. Активность воды и микроорганизмы

Вода – один из самых важных компонентов микробной клетки (75-85% от химического состава клетки приходится на воду). Физиологическая роль воды для прокариот значительна: вода является хорошим растворителем для большинства клеточных компонентов и необходима для осуществления реакций, протекающих в клетках. Обмен веществами между бактериальной клеткой и окружающей средой также идет через водные растворы. Клетки метаболически активных бактерий должны быть, по крайней мере, окружены водными пленками. Биологическая активность воды ограничена температурными границами, в пределах которых вода остается в жидком агрегатном состоянии. Это область от -2° до $+100^{\circ}\text{C}$, которую называют *биокинетической зоной*.

В почвенной микробиологии состояние оводненности среды чаще всего выражают *водным потенциалом* (Ψ):

$$\Psi = \frac{1000RT}{W_a} \ln a_w, \quad (3.3)$$

где R – универсальная газовая постоянная, T – температура (К), W_a – молекулярный вес воды, a_w – активность воды.

Водный потенциал (Ψ) – это количество термодинамической работы, которое должно быть затрачено организмом для извлечения воды; Ψ измеряется в барах: $1 \text{ бар} = 10^6 \text{ дин}\cdot\text{см}^2 = 0,987 \text{ атм} = 750 \text{ мм рт. ст.}$ Водный потенциал чистой воды равен нулю, по отношению к чистой воде все растворы имеют отрицательные потенциалы, выражаемые в отрицательных барах.

Активность воды (a_w) – это мера свободной воды в многокомпонентной системе для протекания химических реакций и осуществления процессов жизнедеятельности микроорганизмов. У чистой воды $a_w = 1$. При взаимодействии воды с поверхностями, анионами и катионами, любыми гидрофильными группами активность воды становится меньше 1, т.е. a_w падает при увеличении концентрации веществ в водном растворе.

Активность воды определяют по формуле:

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{OB}{100} = \frac{\Pi_2}{\Pi_1 - \Pi_2}, \quad (3.4)$$

где P – давление водяного пара в исследуемой системе, P_0 – давление водяного пара над чистой водой, OB – относительная влажность, Π_1 – число молей растворителя, Π_2 – число молей растворенного вещества.

Для каждого микроорганизма имеется свое оптимальное значение a_w . Большинство известных бактерий нуждается для своего развития в условиях с высокими значениями активности воды – a_w от 0,99 до 0,95 и не растут при a_w ниже 0,95, т.е. являются *гигрофилами*. На самом деле диапазон значений a_w , в котором живут микроорганизмы, гораздо шире – от 0,99 до 0,50. Так, обитатели ультрапресных вод развиваются при $a_w \approx 1,00 - 0,99$; морские виды при $a_w \sim 0,98$; для обитателей соленых и гиперсоленых озер $a_w \sim 0,70 - 0,75$, пустынь – $a_w \sim 0,60$. Микроорганизмы, растущие при a_w ниже 0,60, до недавнего времени не были известны. Е.А. Дорошенко и др. (2005) показали, что споры *Streptomyces odorifer* способны прорасти при $a_w 0,50$.

Для почвенных микроорганизмов (например представители родов *Agrobacterium*, *Bacillus* и *Rhizobium*), живущих в условиях постоянно варьирующей влажности, характерна *ксерофилия*, т.е. приспособление к сухости. Наиболее ксерофильными считаются грамположительные бактерии, в том числе актиномицеты.

Водная активность раствора меняется двумя путями – матричным и осмотическим. Осмотическое изменение водной активности происходит в результате взаимодействия молекул воды с растворенными веществами. В этом случае микроорганизм вынужден будет тратить часть доступной энергии на осморегуляцию, обеспечение энергией транспортных систем и синтез осмопротекторов. Матричное изменение a_w определяется адсорбцией молекул воды на поверхностях твердых субстратов.

Установлено, что микроорганизмы проявляют более высокую чувствительность к матричному водному стрессу по сравнению с осмотическим. В том случае, если бактериальная клетка подвергается осмотическому стрессу, она может использовать какое-то количество растворенных веществ из окружающей среды и тем

самым повысить концентрацию веществ внутри клетки. При матричном водном стрессе, который наблюдается в среде с низкой концентрацией растворенных веществ, микроорганизмы не способны поглощать осмотически активные вещества. Такие организмы вынуждены либо сами вновь синтезировать растворимые вещества, либо осуществлять деградацию внутриклеточных макромолекул.

Устойчивость к обезвоживанию у разных видов бактерий неодинакова. Например, численность жизнеспособных клеток рода *Pseudomonas*, внесенных в воздушно-сухую почву после выдерживания в течение месяца, снижается в 100 раз. В то же время бактерии рода *Azotobacter* остаются жизнеспособными в почве даже через десятки лет ее хранения в воздушно-сухом состоянии.

Считается, что большинство микроорганизмов переносят высушивание хорошо. Прокариоты переносят недостаток воды за счет:

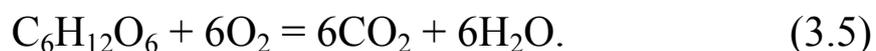
1) образования гидрофильных слизистых капсул (например цианобактерии рода *Nostoc*), которые активно поглощают влагу из окружающей среды; капсулы могут содержать до 98% воды;

2) формирования спор (например эубактерии рода *Bacillus*, в сердцевине споры $a_w = 0,83$), споры обладают также термостабильностью;

3) образования цист (например азотфиксаторы рода *Azotobacter*, у них цисты в высушенном состоянии остаются жизнеспособными в течение 13 лет).

Споры и цисты – покоящиеся формы (ПФ) бактерий. В таком виде микроорганизмы не только переживают неблагоприятные условия, но и расселяются повсеместно. Исключение представляют эубактерии семейства *Micrococcaceae*, не образующие ни цист, ни спор, но при этом способные постоянно обитать при $a_w \geq 0,86$.

Существует предположение о том, что при недостатке воды бактерии используют метаболическую воду, образующуюся в клетке в результате окисления органического вещества кислородом воздуха. Так, из 1 г глюкозы организм может получить 0,6 г воды согласно уравнению:



Уникальный адаптационный механизм к условиям дефицита воды имеется у цианобактерий. Благодаря отсутствию вакуолей при высыхании содержимое клеток быстро сжимается без необратимых изменений ультраструктуры. Белковые глобулы, входящие в состав мембран, вдавливаются внутрь липидного слоя и протопласт «запирается» в липидном мешке. В воздушно-сухом состоянии пленки почвенных цианобактерий могут сохраняться в течение нескольких лет. Имеются данные, что физиологические процессы у цианобактерий протекают наилучшим образом при некотором недостатке воды в клетках. Нитрогеназный комплекс (участвует в процессе азотфиксации) адаптирован к состоянию водного дефицита. Нижняя граница влажности среды для протекания процесса фотосинтеза лежит у наземных цианобактерий в пределах $a_w = 0,7 - 0,9$, для азотфиксации – a_w около 0,76. Известно, что при высокой относительной влажности цианобактерии частично адсорбируют влагу из воздуха, временно удовлетворяя свою потребность к воде.

В музейной практике используют *лиофилизацию*, которая заключается в удалении воды из замороженных клеток путем сублимации при низком давлении (в вакууме); при этом вода испаряется без перехода в жидкую фазу. В таком лиофилизированном состоянии чистые культуры бактерий хранятся десятилетиями, если защищены от действия кислорода, влаги, высокой температуры и света. Например, представители рода *Rhodococcus* сохраняют жизнеспособность в течение 40 лет.

Высушивание (дегидратация) микроорганизмов с целью их консервирования широко используется в микробиологической промышленности при получении сухих бактериальных препаратов: средств защиты растений, удобрений, силосной закваски, вакцин, сывороток и т.п.

Было показано, что высоко резистентные к γ -облучению бактерии *Deinococcus radiodurans* устойчивы и к обезвоживанию. Оказывается, дегидратация вызывает повреждения ДНК, аналогичные тем, которые индуцируются ионизирующим излучением: одно- и двуцепочечные разрывы.

Следует отметить, что потребность микроорганизмов в воде и толерантность к ее дефициту зависит от сопутствующих эколо-

гических факторов, и в частности от температуры. Наибольшая устойчивость микроорганизмов к низким значениям a_w наблюдается в условиях температурного оптимума. При отклонениях от него нижний уровень a_w обычно повышается.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>биокинетическая зона</i>		
<i>водный потенциал</i>		
<i>активность воды</i>		
<i>ксерофилия</i>		
<i>лиофилизация</i>		

3.6. Влияние pH на микроорганизмы

Значение pH определяет концентрацию H^+ и OH^- и выражается формулой:

$$pH = -\lg [H^+] \quad (3.6)$$

Концентрация ионов H^+ может оказывать на прокариоты как прямое, так и косвенное влияние.

1. Прямое влияние. Например, изменение pH среды приводит к

- изменению активности ферментов, что в свою очередь приводит к изменению биохимических процессов метаболизма;

- изменению электрического заряда поверхности клетки, что ведет к изменению проницаемости КС бактерий для отдельных ионов и изменению адсорбционных свойств клеток и т.п.

2. Косвенное влияние выражается в изменении степени диссоциации веществ и других физико-химических параметров среды, что приводит к нарушению процесса питания и жизнедеятельности в целом. Например,

- при понижении pH среды уменьшается растворимость углекислого газа (CO_2) – источника углерода для автотрофов, а рас-

творимость таких катионов, как Cu^{2+} , Mo^{2+} , Al^{3+} возрастает и достигает токсичных уровней;

- при повышении pH растворимость многих катионов, необходимых клетке (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+}), резко понижается, и они становятся недоступными и т.п.

Границы значений pH, оптимальных для роста различных представителей прокариот, находятся в пределах от 1 до 12. По отношению к pH среды прокариоты делятся на 3 группы:

1. *Ацидофилы* обитают при значениях pH среды от 1 до 4 (горячие вулканические источники, вулканические почвы, терриконы угольных шахт, дренажные воды, рудничные стоки, кислые озера, кислые сфагновые болота, истощенные почвы и т.п.).

2. *Нейтрофилы* предпочитают условия среды с pH от 4 до 9 (сфагновые болота, почвы разных типов, пресные водоемы, моря и океаны).

3. *Алкалофилы* требуют pH среды в пределах от 9 до 12 (почвы, обогащенные минералами, экскрементами животных, разлагающимися белками; содовые озера и источники и т.п.).

Многие нейтрофилы способны расти или выживать при значениях pH, лежащих за пределами обозначенного диапазона, а оптимум их роста обычно находится внутри этого диапазона. Такие прокариоты считаются кислото- или щелочеустойчивыми (толерантными). К кислотоустойчивым относятся многие бактерии, продуцирующие органические кислоты (например, уксуснокислые, молочнокислые, пропионовые бактерии). Щелочетолерантны многие из энтеробактерий, устойчивые к величинам pH, близким к 9-10.

Среди ацидофилов и алкалофилов выделяют облигатные формы, потерявшие способность расти при нейтральных значениях pH, и факультативные, сохранившие эту способность.

Типичными представителями облигатных ацидофилов являются зубактерии рода *Thiobacillus*, которые получают энергию при окислении одного или нескольких восстановленных соединений серы, конечный продукт окисления – сульфат:



Тиобациллы распространены повсеместно: в морях, пресной воде и почве, особенно при обильном присутствии окисляемых соединений серы (в серных источниках, сульфидных и серных месторождениях, местах очистки сточных вод и местах образования газообразных соединений серы, таких как H_2S , из донных осадков или анаэробных почв). Примеры ацидофилов:

<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	- оптимальные значения рН лежат в диапазоне 2,0 – 4,0; верхний предел – рН 6,0; нижний – 0,5.
<i>T. ferrooxidans</i>	- окисляет Fe^{2+} до Fe^{3+} для получения энергии; оптимальные значения рН в области 2,0 – 3,0; нижний предел – рН 1,4.
<i>Acidiphilium spp.</i>	- растут в диапазоне рН 2,5 – 5,9; встречаются в пиритных шахтных водах, отвалах пиритизированного угля, отходах медных и урановых рудников.
<i>Ferroplasma acidarmanus</i>	- выделен из сточных вод рудника в Калифорнии; способен расти при рН 0; при этом выдерживает высокие концентрации тяжелых металлов – меди, мышьяка, кадмия и цинка.
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	- растет в области рН от 1,0 до 5,8 с оптимумом рН 2-3; обитает в горячих (~ 70 ⁰ С) источниках с низкими значениями рН.

К известным обитателям горячих кислых источников еще относятся, например, *Bacillus acidocaldarius*, *Bacillus coagulans*, *Thermoplasma acidophilum* и др.

К нейтрофилам относится подавляющее большинство прокариот. Развиваются в среде с рН 6-8. К ним относится большинство микроорганизмов, например, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus faecalis* и пр.

Типичным примером алкалофилов являются уробактерии, развивающиеся на субстратах, богатых мочевиной. Образуют фермент *уреазу*, катализирующую реакцию разложения мочевины:



далее аммиак связывается с водой:



В результате описанных реакций происходит защелачивание среды, что приводит к подавлению конкурентов уробактерий и доминированию последних в природном микробоценозе.

Примеры алкалофильных бактерий:

- Sporosarcina urea* - представитель уробактерий, растет при рН не ниже 8,5. Эту бактерию всегда можно выделить из скоплений разлагающейся мочи.
- Exiguobacterium aurantiacum* - выделена из щелочных картофельных отходов, растет в диапазоне рН 7,5-11,0.
- Bacillus alcalophilus* - выделена из фекалий и высохшей сточной грязи, широко распространена в почве; растет в диапазоне рН 8,0-11,5.
- Цианобактерии - хорошо растут в природных средах с рН 7,5-10,0. Для некоторых из них оптимальные значения лежат при рН около 10.

Из щелочных озер и источников, рН которых 8-11, выделены алкалофильные представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptococcus* и др. Некоторые нитрат- и сульфатвосстанавливающие бактерии могут существовать при рН выше 11. Группа алкалофилов в настоящее время интенсивно изучается. Из мест с высокими значениями рН (щелочные озера) выделены алкалофильные бактерии, отнесенные к новым родам, не описанным ранее (например, роды *Natronobacterium*, *Desulfonatronovibrio*, *Desulfonatronum*, *Natroniella*).

Способность к росту при низких или высоких значениях рН обеспечивает организму определенные преимущества, т.к. в этих условиях мала конкуренция со стороны большинства других организмов. Однако для прокариот существует проблема, которая заключается в том, что большинство белков и других макромолекул бактериальной клетки стабильны и активны в ограниченном диапазоне значений рН, близком к 7,0. Это справедливо для

всех – ацидофилов, нейтрофилов и алкалофилов. Возникает необходимость поддержания внутриклеточного значения рН (pH_i) на стабильном уровне несмотря на изменения рН окружающей среды – *pH-гомеостаз*. Например, у *E. coli* pH_i изменяется менее чем на 0,1 единицы при изменении рН среды на одну единицу в диапазоне 4,5 – 7,9.

Благодаря низкой проницаемости плазматической мембраны для протонов и других катионов, pH_i у ацидофилов несмотря на экстремальную кислотность среды, поддерживается на уровне 6,5–7,0. Белки поверхностных слоев клеток ацидофилов высокоустойчивы к низким значениям рН и у многих ацидофилов, напротив, нестабильны при нейтральном рН. Ведущую роль в поддержании рН-гомеостаза у ацидофилов играют *протонные помпы*, работа которых зависит от значений pH_i и рН окружающей среды. Работа протонных помп связана с образованием *трансмембранного электрохимического потенциала* – $\Delta\mu_{H^+}$ (возникает в результате переноса H^+ через мембрану).

У нейтрофилов – pH_i составляет около 7,6-8,0, изменение рН цитоплазмы всего на 0,5 единицы может привести к существенному подавлению роста. Сильное подкисление среды может вызвать гибель нейтрофильных бактерий, однако большинство их обладает механизмами адаптации к низкому рН:

1) подвижные бактерии способны удаляться из участков с неблагоприятным рН;

2) экспрессия генов, обеспечивающих выживание в кислой среде. Например, при снижении pH_i происходит дерепрессия синтеза декарбоксилаз аминокислот, повышение концентрации этих ферментов приводит к возрастанию концентрации полиаминов, которые в свою очередь повышают рН среды.

У алкалофилов pH_i составляет около 9,5, а в поддержании рН-гомеостаза ведущая роль принадлежит Na^+/H^+ - антипорту, катализирующему движение внутрь клетки H^+ в обмен на ионы Na^+ .

В любом случае основными барьерами, обеспечивающими необходимое значение рН у облигатных ацидофилов и алкалофилов, служат КС и ЦПМ. Поиски особенностей строения этих клеточных структур не привели к расшифровке конкретных ме-

ханизмов их устойчивости к высоким концентрациям H^+ и OH^- . Неизвестно также, почему облигатные ацидофилы и алкалофилы потеряли способность расти в нейтральной среде, т.е. почему высокие концентрации этих ионов стали для них совершенно необходимыми.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>pH</i>		
<i>ацидофилы</i>		
<i>нейтрофилы</i>		
<i>алкалофилы</i>		
<i>кислото- и щелочетолерантные бактерии</i>		
<i>pH-гомеостаз</i>		

3.7. Окислительно-восстановительные условия и отношение микроорганизмов к кислороду

Жизнедеятельность микроорганизмов приводит к изменению окислительно-восстановительного потенциала среды (Eh). Главными восстановителями в природных условиях являются H_2 и H_2S , часто образуемые микроорганизмами; главным окислителем служит образуемый кислородными фототрофами O_2 . Кислород выступает по отношению к микроорганизмам не только как фактор, определяющий окислительно-восстановительные условия среды и возможность протекания многих химических реакций, но и как акцептор электронов.

Прокариоты по отношению к кислороду делятся на анаэробов и аэробов.

1. *Анаэробные* микроорганизмы – предпочитают условия окружающей среды без O_2 . Энергетические и конструктивные процессы у анаэробов происходят без участия молекулярного кислорода. К ним относятся метаногены, сульфат- и железовосстанов-

ливающие, маслянокислые и некоторые другие бактерии. Среди анаэробов выделяют подгруппы.

1.1. *Облигатные анаэробы*, чувствительные к токсичному действию O_2 , развиваются только в бескислородных условиях; например, метаногены – рода *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina*, *Methanopyris* и др., сульфатредукторы – *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* и др. Однако из литературных данных следует, что некоторые облигатно анаэробные сульфатредукторы, в частности *Desulfovibrio desulfuricans* и *Desulfovibrio gigas*, способны переносить экспозицию на воздухе в течение нескольких суток практически без потери жизнеспособности. Облигатными анаэробами являются также многие аноксигенные фототрофы – гелиобактерии, зеленые и ряд пурпурных серобактерий.

1.2. *Аэротолерантные анаэробы*, например молочнокислые бактерии, обладающие метаболизмом только анаэробного типа, но при этом растут в присутствии кислорода.

2. *Аэробные (аэробы)* – организмы, нуждающиеся в кислороде для осуществления процесса дыхания. Среди аэробных микроорганизмов выделяют подгруппы:

2.1. *Облигатные аэробы*, которые используют только кислород как акцептор электронов в дыхании; например эубактерии родов *Micrococcus*, *Rhodococcus*, *Azotobacter* и многие другие;

2.2. *Микроаэрофилы* используют только O_2 как акцептор электронов и требуют при этом пониженной концентрации кислорода в среде; чувствительность микроаэрофилов к концентрации молекулярного кислорода значительно различается: эубактерии родов *Aquaspirillum*, *Magnetospirillum* растут при 6-8% O_2 в среде, виды рода *Campylobacter* – при 5-10 %, серные бактерии рода *Beggiatoa* – 0,6-6,0% и т.д.;

2.3. *Факультативные аэробы (факультативные анаэробы)* могут переходить от дыхания кислородом к анаэробнобиозу. К ним относятся энтеробактерии (сем. *Enterobacteriaceae*), подавляющее большинство денитрификаторов, некоторые фототрофы (например пурпурные несерные бактерии). В аэробных условиях факультативные анаэробы получают энергию в процессе дыхания, в анаэробных условиях источником энергии служат процессы брожения, анаэробного фотосинтеза или анаэробного дыхания.

Облигатные аэробы не только используют кислород, но и вынуждены защищаться от токсичных продуктов его восстановления, таких как супероксидный анион (O_2^-), синглетный кислород (*O_2), гидроксидный радикал (OH^\bullet), пероксид водорода (H_2O_2), озон (O_3) и атомарный кислород (O).

1) O_2^- – супероксидный анион.

Если восстановление кислорода происходит ступенчато, то при переносе одного электрона на O_2 образуется супероксидный (надпероксидный) анион:



далее он может протонироваться с образованием нейтрального гидропероксидного радикала:



Существует много биохимических реакций, приводящих к возникновению супероксидного аниона. Например, супероксидные анионы образуются при взаимодействии различных соединений (восстановленные флавины, хиноны, тиолы, FeS-белки) с O_2 , а также в реакциях, катализируемых рядом флавопротеиновых ферментов, в процессе фотосинтеза. Помимо реакций биологической природы O_2^- могут возникать вне клетки в водных растворах при воздействии на них ультразвуком, в результате фотохимических, химических и электрохимических процессов.

Супероксидные анионы опасны для клеток, так как время их «жизни» в водной среде продолжительнее, чем у остальных кислородных радикалов. Поэтому экзогенно возникшие O_2^- могут проникать в клетки и (вместе с эндогенными) участвовать в реакциях, приводящих к различным повреждениям: перекисном окислении ненасыщенных жирных кислот, окислению SH-групп белков, повреждении ДНК и др. Токсичность супероксидных анионов может увеличиваться за счет вторичных реакций, ведущих к образованию гидроксидных радикалов (OH^\bullet) и синглетного кислорода (*O_2).

O_2^- разлагается ферментом *супероксиддисмутазой* (СОД):



Кроме того, супероксидные анионы дисмутируют в реакции, протекающей спонтанно:

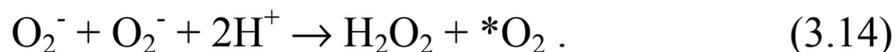


Различие между обеими реакциями состоит, во-первых, в их скоростях (скорость ферментативной реакции приблизительно на четыре порядка выше, чем спонтанной) и, во-вторых, в том, что при спонтанной реакции дисмутации одним из первоначально возникающих продуктов является синглетный кислород, в то время как при ферментативной реакции образующийся кислород находится в основном триплетном состоянии.

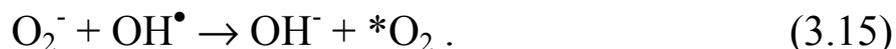
2) *O_2 – синглетный кислород.

Наиболее активная реакционноспособная форма кислорода. *O_2 вызывает неконтролируемые реакции окисления, которые могут разрушать компоненты клетки, даже лигнин может окисляться.

У большинства живых клеток в темноте основным источником *O_2 служит спонтанная дисмутация супероксидных анионов:



Синглетный кислород может возникать также при взаимодействии двух радикалов:



На свету токсичность молекулярного кислорода для живых организмов повышается, этому способствуют находящиеся в клетке вещества, поглощающие видимый свет, – *фотосенсибилизаторы* (например, хлорофиллы и фикобилины, порфирины и промежуточные продукты их синтеза, ряд антибиотиков, хинин, рибофлавин и др.). Окисление биологически важных молекул под влиянием видимого света в присутствии O_2 и фотосенсибилизатора получило название *фотодинамического эффекта*.

Поглощение видимого света приводит к переходу молекулы фотосенсибилизатора в возбужденное синглетное состояние (*Д):



Молекулы, перешедшие в синглетное состояние, могут возвращаться в основное (Д) или переходить в долгоживущее триплетное состояние (^TД), в котором они фотодинамически активны. В таком состоянии молекулы фотосенсибилизатора могут реагировать с O₂ и переводить его в возбужденное синглетное состояние:



В свою очередь, *O₂ окисляет молекулу субстрата (В):



Фотодинамический эффект обнаружен у всех живых организмов. У прокариот в результате фотодинамического действия индуцируются повреждения многих типов: утрата способности формировать колонии, повреждение ДНК, белков, клеточной мембраны. Причина повреждений – фотоокисление некоторых аминокислот (метионина, гистидина, триптофана и др.), нуклеозидов, липидов, полисахаридов и других клеточных компонентов.

Защитой от *O₂ может служить образование антиоксидантов, например, *каротиноидов* – пигментов, имеющих углеродную цепь с чередующимися двойными связями. *O₂ образуется чаще при сильной инсоляции, поэтому фототрофные бактерии ярко окрашены (например пурпурные бактерии и галофильные архебактерии рода *Halobacterium*), каротиноиды имеют также бактерии, длительно находящиеся в воздухе (например сем. *Micrococcaceae*). Перехватчиками *O₂ являются также различные биологически активные соединения: липиды, аминокислоты, нуклеотиды, токоферолы и др.

3) OH[•] – гидроксидный радикал.

Супероксидный анион может взаимодействовать с H₂O₂ с образованием гидроксидного радикала (OH[•]), превосходящего O₂⁻ по окислительной активности и токсичности:



Источником возникновения OH^\bullet могут служить реакции одноэлектронного окисления пероксида водорода, катализируемые железосодержащими соединениями, всегда имеющимися в клетках:



Помимо указанных выше реакций гидроксидные радикалы образуются также при радиолизе воды и в низких концентрациях обычно присутствуют в водных растворах. OH^\bullet из всех известных окислителей является самым сильным, вызывающим радиационные повреждения многих типов биополимеров.

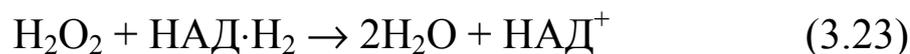
4) H_2O_2 – пероксид водорода.

Перенос 2 электронов на O_2 приводит к образованию перекисного аниона (O_2^{2-}) или пероксида водорода (H_2O_2):



Катализировать перенос 2 электронов на O_2 могут содержащиеся в клетках прокариот оксидазы флавиновой природы и некоторые цитохромы. Источником H_2O_2 могут быть реакции автоокисления некоторых негемовых FeS-белков, а также описанные выше реакции дисмутации супероксидных радикалов. Пероксид водорода образуется у всех аэробных и факультативно анаэробных бактерий, растущих в аэробных условиях, поэтому образование H_2O_2 – естественный процесс.

Пероксид водорода – наиболее стабильный из промежуточных продуктов восстановления O_2 , но и наименее реакционно-способный. H_2O_2 разлагается у прокариот ферментами *пероксидазами*:



или *каталазами*:



Определение наличия каталазы по разложению H_2O_2 суспензией бактерий с выделением пузырьков O_2 – тест бактерий на аэробность.

H_2O_2 вызывает окисление SH-групп в белках, перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот. Однако считается, что пероксид водорода опасен не из-за прямого взаимодействия с компонентами клетки, а потому, что, реагируя с O_2^- или ионами Fe^{2+} , может приводить к образованию гидроксидного радикала.

Облигатные анаэробы погибают при 0,0003%-ной концентрации H_2O_2 , тогда как аэробы выдерживают до 0,015% H_2O_2 в среде, то есть в 50 раз больше.

5) Озон (O_3) и атомарный кислород (O).

Известно, что молекулярный кислород сильно поглощает свет в дальней УФ-области (160-240 нм). Поглощенный фотон ($h\nu$) вызывает диссоциацию молекулы кислорода на два атома:



Затем спонтанно протекает реакция, приводящая к образованию молекулы озона:



Озон может возникать из молекулярного кислорода в воздухе при сильных электрических разрядах, а также при электролизе воды и некоторых реакциях, где он сопровождает образование O_2 . В ряде реакций окисления с помощью озона образуется синглетный кислород. Как окислители озон и атомарный кислород сильнее O_2 . Озон может реагировать практически со всеми типами соединений с образованием радикалов, высоко токсичен для бактерий. Озонирование воды с целью ее обеззараживания употребляется в питьевом водоснабжении.

Наиболее мощная защита от токсичных форм кислорода у аэробных бактерий (СОД, пероксидаза, каталаза), микроаэрофилы не обладают такой мощной защитной системой, но зато имеют высокое сродство к O_2 , что позволяет им размножаться в области его низкой концентрации (менее 1 мг O_2 /л) и полностью удалять кислород из среды. Факультативные анаэробы содержат СОД и

способны переходить от одного типа обмена к другому, т.е. имеют преимущества в условиях резких суточных колебаний концентрации O_2 .

Каталаза и СОД обнаружены также у некоторых облигатных анаэробных бактерий (у сульфатредукторов, метаногенов, ацетогенов). Предполагается, что присутствие O_2 переносят только те организмы, у которых есть СОД, наличие каталазы не столь необходимо. Виды, имеющие значительную СОД активность, характеризуются умеренной или даже высокой аэротолерантностью по сравнению с видами, у которых этот фермент отсутствует или его активность низка. Возможно, синтез СОД инициируется у облигатных анаэробов в результате попадания в неблагоприятные для них аэробные условия (вероятность высока, особенно для патогенных бактерий родов *Bacteroides* и *Clostridium*), что обеспечивает временную защиту от токсичного кислорода.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>анаэробные бактерии</i>		
<i>аэротолерантные бактерии</i>		
<i>аэробные бактерии</i>		
<i>микроаэрофилы</i>		
<i>факультативные аэробы</i>		
<i>супероксидный анион</i>		
<i>СОД</i>		
<i>синглетный кислород</i>		
<i>фотосенсибилизатор</i>		
<i>фотодинамический эффект</i>		
<i>каротиноиды</i>		
<i>пероксид водорода</i>		
<i>пероксидаза</i>		
<i>каталаза</i>		
<i>озон</i>		
<i>атомарный кислород</i>		

3.8. Осмотическое давление и микроорганизмы

Осмотическое давление – это давление, которое нужно приложить, чтобы воспрепятствовать движению молекул растворителя в раствор при разделении их полупроницаемой перегородкой. В качестве полупроницаемой перегородки у бактерий служит ЦПМ, через которую вода свободно проходит по градиенту концентрации солей. В цитоплазме клеток микроорганизмов содержатся более высокие концентрации низкомолекулярных веществ и ионов, чем в окружающей среде. Это необходимо для того, чтобы вода постоянно поступала в клетку.

Осмотическое давление выражают в единицах осмолярности. *Осмолярным* называют раствор, содержащий один осмоль вещества в 1 л растворителя. Если растворенное вещество – электролит, то его осмолярность зависит от степени диссоциации. Осмолярность цитоплазмы клеток прокариот всегда выше осмолярности окружающей клетку раствора. Этим обеспечивается *осмотолерантность* бактерий (способность развиваться в средах с широко варьирующей осмолярностью).

По осмотическим потребностям выделяют несколько групп прокариот.

1. *Негалофильные* (пресноводные) нуждаются в концентрации NaCl в диапазоне 0,0-4,0%. К ним относятся обитатели пресных вод, чувствительные к 3,5%-ной концентрации NaCl (такая соленость у морской воды). Для обитателей почв, где концентрация почвенного раствора резко меняется в зависимости от дождей и засухи, порог чувствительности ниже. Многие почвенные прокариоты – *галотолерантны* (например некоторые представители родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Rhodococcus* и др.). Микроорганизмы, живущие в ультрапресных водах (например, *Caulobacter*, *Spirillum*) развиваются в среде с содержанием солей ниже 0,01%, в том числе в дистиллированной, дождевой воде и воде сфагновых болот.

2. *Морские* развиваются при солености, равной 2,5 – 5,0% NaCl. Обнаруживают потребность в ионах Na⁺ и Cl⁻. Типичными примерами являются представители бактерий родов *Arthrobacter*, *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Rhodococcus*, *Vibrio* и др.

3. *Галофильные* (галофилы) развиваются при солености, существенно превышающей соленость морской воды – от 5,0 до 15,0% NaCl. Типичными представителями галофилов являются бактерии рода *Halomonas*.

4. *Экстремальные галофилы* развиваются вплоть до насыщения воды NaCl при 30,0%-ной солености. Диапазон солености, при которой живут – от 12 – 15 до 32% NaCl, т.е. способны обитать в условиях физиологической сухости среды. К экстремальным галофилам относятся археобактерии сем. *Halobacteriaceae* и группа *Haloanaerobiales*, ацетатобразующие бактерии рода *Acetohalobium*.

Наиболее сильное развитие галофилов происходит при солености 10,0 – 20,0% NaCl в испаряющихся лагунах. Есть галофильные цианобактерии – род *Microcoleus*. Соленость выше 10 – 15,0% NaCl исключает развитие эукариот, кроме некоторых зеленых водорослей (род *Dunaliella*).

Механизмы и стратегии осмоадаптации прокариот

1. Для негалофильных бактерий:

1.1. Осмосенсоры в ЦПМ (вероятно, белковой природы) реагируют на изменение напряжения мембраны. Изменение осмолярности среды регистрируется осмосенсорами, что приводит к изменению соотношения белков – поринов, образующих гидрофильные поры, а это, в свою очередь, сопровождается изменением транспорта в клетку низкомолекулярных веществ.

1.2. Осмопротекторы (осмолиты), наличие и концентрация которых в бактериальной клетке уравнивает внешнее давление. К известным осмопротекторам относятся аминокислоты, олигосахариды; наиболее известные осмопротекторы: γ-аминомасляная кислота, глутаминовая кислота, пролин, бетаин, глицинбетаин, трегалоза. Особенностью осмопротекторов является

исключительная растворимость в воде. Например, в 1 л воды можно растворить 14 кг пролина или бетаина.

1.3. Система избирательного накопления в клетке ионов K^+ , даже при незначительной их концентрации в окружающей среде. С повышением осмолярности среды увеличивается концентрация K^+ в клетках.

2. Для морских бактерий:

2.1. Накапливают в клетке Na^+ .

2.2. Обнаружены в клетках полиамины – спермидин, путресцин и др. Полиамины способствуют стабилизации мембран. С понижением осмолярности среды концентрация полиаминов в клетках морских бактерий возрастает.

3. Для галофильных бактерий:

3.1. Накапливают ионы Na^+ , K^+ , Mg^{2+} .

3.2. В клетках обнаружены осмопротекторы бетаин, эктоин, глутамат. С повышением осмолярности среды концентрация бетаина увеличивается. Для умеренных галофилов показано, что с понижением осмолярности среды увеличивается содержание в составе мембран отрицательно заряженных фосфолипидов.

4. Для экстремальных галофилов:

4.1. Накапливают ионы Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} . Поглощают из окружающей среды в больших количествах K^+ (до 30-40% сухого вещества клетки). K^+ для экстремальных галофилов является лимитирующим фактором.

4.2. В клетках обнаружен осмопротектор бетаин. С повышением осмолярности среды концентрация бетаина увеличивается.

Помимо концентрации солей повышенное осмотическое давление создается высоким содержанием в среде органических веществ. Приспособленные к таким условиям организмы называют *осмофилами* – это спироплазмы, размножающиеся в нектаре цветов, мицелиальные грибы и дрожжи, обитающие в варенье, сиропах, сухофруктах.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>осмотическое давление</i>		
<i>осмотолерантность</i>		
<i>негалофильные бактерии</i>		
<i>галотолерантные бактерии</i>		
<i>морские бактерии</i>		
<i>галофилы</i>		
<i>экстремальные галофилы</i>		
<i>осмосенсоры</i>		
<i>осмопротекторы</i>		
<i>осмофилы</i>		

3.9. Гидростатическое давление

Гидростатическое давление – это давление столба жидкости. Бактерии относительно мало чувствительны к изменению гидростатического давления благодаря прочности своих клеточных стенок. Известно, что повышение гидростатического давления до некоторого предела не сказывается на скорости роста обычных наземных бактерий, но, в конце концов, начинает препятствовать их нормальному росту и делению. Например, повышение гидростатического давления до 200 атм даже стимулирует рост *E. coli*, при 400 атм наблюдается образование нитчатых клеток, рост которых замедлен, при 1000 атм за 48 ч погибает до 90% клеток кишечной палочки, а через 5 – 7 сут наблюдается их полная гибель. Следует отметить, что различные процессы клеточного метаболизма в разной степени чувствительны к повышению давления. Так, у *E. coli* повышение гидростатического давления препятствует дерепрессии лактозного оперона, у *Bacillus licheniformis* – индукции синтеза пенициллиназы. При этом индукция других ферментов не затруднена. Чувствителен к повышению давления именно процесс регуляции на уровне транскрипции, у конститутивных мутантов активность синтеза и работа этих ферментов к повышенному гидростатическому давлению не чувствительна.

Область высокого гидростатического давления на поверхности Земли довольно обширна, свыше 70% ее занимают воды Мирового океана. На большей площади дна Мирового океана давление превышает 300 атм, а на максимальных глубинах – 1100 атм. Глубоководные микроорганизмы находятся в условиях постоянно низкой температуры с очень небольшими колебаниями и, видимо, являются психрофилами с крайне ограниченными возможностями адаптации из-за медленности синтетических процессов. Содержание органического вещества здесь крайне низкое, и поэтому бактерии представлены карликовыми формами (ультрамикробактерии).

По отношению к гидростатическому давлению выделяют четыре группы бактерий.

1. *Барочувствительные*. Для таких бактерий повышение давления приводит к ухудшению параметров роста (снижению урожая и увеличению времени удвоения).

2. *Баротолерантные*. К ним относятся бактерии, размножающиеся и при обычном атмосферном – около 1 атм, и при высоком давлении, при этом их скорость роста не зависит от давления. Например, морские бактерии переносят давление 200-300 атм. Кратковременное воздействие в 3000-5000 атм выдерживают многие бактерии, а спорообразующие бактерии не повреждаются даже при воздействии давления в 20000 атм в течение 45 мин. Описаны бактерии, преимущественно выделенные из морской воды, не только сохраняющие жизнеспособность, но и способные размножаться в условиях повышенного давления (*Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* – до 400 атм; *Bacillus cereus*, *B. mentericus*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *Serratia marcescens* – до 500 атм; *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus luteus* – до 600 атм).

3. *Барофильные*. Рост барофилов стимулируется при повышении давления. Многие кокки, спорообразующие бактерии, псевдомонады, выделенные из морских глубин, хорошо растут при 300-400 атм, а молочнокислые стрептококки – при 500-600 атм. Снижение давления обуславливает замедленный рост этих микроорганизмов и нарушение процессов деления, что приводит к образованию нитевидных клеток.

4. *Облигатные барофилы*. Могут расти только при повышенном давлении. К ним относятся, например, обитатели глубоководных гидротерм – *Pyrococcus abussi*, *Methanococcus jannaschii*, *Thermococcus barophilus* и др., вышеуказанные бактерии являются еще и термофилами.

На барофильность и баротолерантность микроорганизмов влияют условия культивирования. Например, увеличение солености среды и повышение температуры культивирования повышают порог давления, за которым не происходит роста.

Механизм влияния гидростатического давления на метаболическую активность прокариот пока не известен, однако доказано, что оно непосредственно влияет на липидный состав мембран и белковый состав бактериальных клеток. Липиды глубоководных бактерий характеризуются значительным содержанием (до 20%) длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот, причем при повышении давления содержание этих кислот возрастает. Полиненасыщенные жирные кислоты имеют относительно низкую температуру плавления и соответственно не замерзают при значительном повышении гидростатического давления с глубиной. Напомним, что баротолерантные и барофильные микроорганизмы обычно являются психрофилами. В составе мембран большинства изученных бактерий подобные жирные кислоты не встречаются.

В экологии микроорганизмов возникло направление – *баробиология микроорганизмов*, которая изучает роль гидростатического давления как экологического фактора, оказывающего влияние на распространение и активность микроорганизмов в глубине морей и океанов или под землей.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>гидростатическое давление</i>		
<i>барочувствительные бактерии</i>		
<i>баротолерантные бактерии</i>		
<i>барофильные бактерии</i>		
<i>облигатные барофилы</i>		

3.10. Электромагнитное излучение и микроорганизмы

Основная масса падающей на Землю солнечной энергии приходится на долю видимых лучей – 75%, на инфракрасную (ИК) область – 20%, на ближний ультрафиолет (УФ) с длиной волны (λ) в области 300-380 нм – 5%. Дальний УФ с $\lambda = 220 - 300$ нм усиленно поглощается озоновым экраном. Излучение с длинами волн менее, чем у дальнего УФ, относится к ионизирующему, источники которого описаны ниже. Биологические эффекты, вызываемые облучением, зависят от длины волны и его дозы, т.е. от энергии и количества поглощенных квантов (рис. 7).

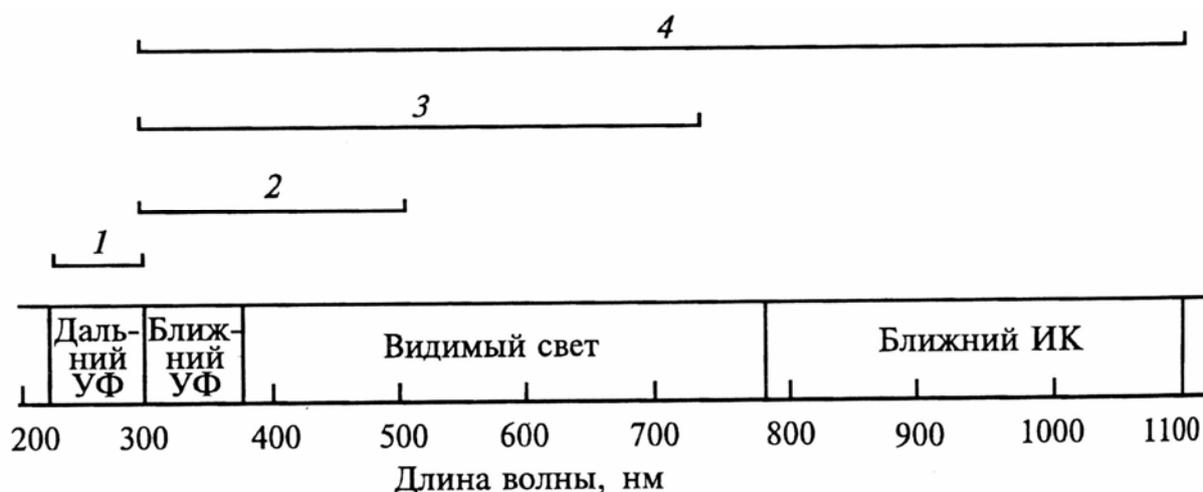


Рис.7. Биологические эффекты, вызываемые излучением разной длины волны: 1 – повреждения ДНК и белков; 2 – фотореактивация ДНК; 3 – фототаксис и фотосинтез эукариот; 4 – фототаксис и фотосинтез эукариот.

Весь спектр солнечного излучения с длинами волн вплоть до 700 нм оказывает на микроорганизмы летальное действие, но наиболее опасные электромагнитные волны лежат в УФ области спектра.

Имеются данные, что красное ($\lambda \sim 600$ нм) и инфракрасное ($\lambda \sim 900$ нм) излучение оказывает стимулирующее действие на рост бактериальных клеток, приводя к повышению синтеза АТФ, ДНК и некоторых белков, к стимулированию процесса азотфиксации у цианобактерий; при этом ответ бактериальных клеток на действие красного и инфракрасного излучения зависит от их физиологического состояния.

Для излучений с $\lambda > 1100$ нм к настоящему времени не зарегистрировано каких-либо биологических эффектов. Основное действие инфракрасного излучения – ускорение движения молекул (нагревание).

Начиная с $\lambda = 300$ нм и дальше, излучение индуцирует фотосинтетические и фототаксические реакции: при $\lambda = 300-750$ нм – кислородный фотосинтез у всех эукариот и двух групп прокариот (цианобактерии и прохлорофиты); при $\lambda = 300-1100$ нм – анакислородный и кислородный фотосинтез прокариот (спектр заметно шире).

Ближний УФ с $\lambda = 300-380$ нм. При высоких дозах облучения наблюдаются мутагенный и летальный эффекты. Повреждается ДНК, транспортные системы мембран. При этом нарушения ДНК вызывают не столько сами УФ лучи, сколько различные другие возбужденные светом молекулы. Эффект действия ближнего УФ может быть опосредован фотосенсибилизатором. Например, в присутствии акридина у *E. coli* ближний УФ вызывает нарушения ДНК и ЦПМ, в результате чего клетки становятся чувствительными к лизоциму, детергентам, осмотическому шоку. Ближний УФ может при невысоких дозах облучения вызывать *фотопротекцию*, т.е. снижать биологический эффект последующего облучения дальним УФ.

Дальний УФ с $\lambda = 220-300$ нм. ДНК интенсивно поглощает УФ в области с $\lambda = 240-300$ нм с пиком поглощения при $\lambda = 254$ нм, что лежит в основе высокой мутагенной и летальной эффективности дальнего УФ. При облучении происходит образование пиримидиновых димеров в ДНК, что является основным механизмом, обуславливающим летальный и мутагенный эффекты. Может происходить димеризация цитозина. Под влиянием УФ-облучения имеет место также гидроксильное цитозина и

урацила, сшивки ДНК с белком, образование поперечных сшивок в молекуле ДНК, разрывы цепей ДНК и денатурация ДНК. Все вышеперечисленные эффекты приводят к невозможности нормальной репликации ДНК.

В медицинской практике используют бактерицидные лампы, излучающие свет в диапазоне с $\lambda = 250-280$ нм для обеззараживания операционных, перевязочных и больничных палат.

Некоторые прокариоты приобрели устойчивость к действию УФ-излучения. Отмечена особая устойчивость цианобактерий, образующих гетероцисты, к УФ-излучению, с ней связывают широкое распространение этих организмов в почвах высокогорий.

Механизмы УФ-резистентности:

1) синтез соединений, защищающих от УФ-излучения; например, пигментов – каротиноидов;

2) уход подвижных форм микроорганизмов от УФ-облучения (отрицательный фототаксис);

3) функционирование механизмов репарации ДНК;

4) синтез ферментов каталазы, пероксидазы и СОД, защищающих от активных форм O_2 , возникающих при облучении.

Кроме того, известны защитные вещества против УФ: псоралены, рибоксин, тиогликолят натрия, сульфит и нитрит натрия, а также глицин, пируват, фенол, гидросульфит. Антимутагенным действием против мутагенеза, индуцированного УФ облучением, обладают метионин, триптофан, казаминокислоты, ретинол и пр.

Ионизирующее излучение с $\lambda < 200$ нм. К источникам ионизирующего излучения относятся: 1) космические лучи; интенсивность излучения зависит от географической широты, но особенно от высоты над уровнем моря и приблизительно удваивается каждые 1500 м; в период солнечных вспышек фон космической радиации повышен; 2) радиоизотопы пород, почв, гидро- и атмосферы; 3) испытание ядерного оружия; 4) работа и аварии АЭС; 5) применение радиоизотопов для медицинских, научных и др. целей.

Наличие источников ионизирующего излучения в среде – причина того, что микроорганизмы подвергаются высоким дозам облучения. Ионизирующее излучение вызывает повреждения ДНК двух категорий: непосредственные и опосредованные. Непосредственные повреждения представляют собой одно- или

двухцепочечные разрывы в ДНК. Опосредованные повреждения возникают в связи с образованием свободных радикалов, которые также вызывают одно- и двухцепочечные разрывы. Кроме того, ионизирующее излучение вызывает изменения в составе фосфолипидов бактериальных мембран.

В настоящее время известны радиорезистентные формы бактерий (штаммы *E. coli*, *Bacillus subtilis*, представители родов *Achromobacter*, *Desulfurococcus*, *Haemophilus*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Thermococcus* и др.). Радиорезистентных бактерий выделяют из охлаждающих систем ядерных реакторов, радоновых минеральных источников, загрязненных радионуклидами почв, облученных продуктов и пр. Например, высоко радиорезистентная грамположительная бактерия *Deinococcus radiodurans* (уст. *Micrococcus radiodurans*) была выделена из мяса, подвергнутого γ -облучению; может переносить дозы ионизирующего облучения до 5×10^5 рад без какой-либо заметной инактивации, обладает также УФ-резистентностью (гибель 90% клеток штамма наблюдается при дозе $10\,000 - 15\,000$ эрг·мм⁻²) и устойчивостью к дегидратации и действию H₂O₂. Считается, что *D. radiodurans* обладает самой совершенной системой репарации ДНК среди бактерий и даже занесена в Книгу рекордов Гиннеса (1987) как «наиболее прочная бактерия в мире». Сейчас к роду *Deinococcus* относят около 13 видов радиорезистентных микроорганизмов, представляющих особую филогенетическую ветвь.

Особенности радиорезистентных бактерий:

1. Содержание А+Т в ДНК меньше и, следовательно, меньше образуется тиминовых димеров при облучении.
2. Высокое содержание фосфатидилхолина (лецитина) в мембранах, играющего роль ингибитора окисления липидов.
3. Высокая скорость вырезания тиминовых димеров, процесс проходит до репликации ДНК.
4. Способность к репарации одно- и даже двухцепочечных разрывов в ДНК.

Интересно, что большинство устойчивых к γ -излучению бактерий также толерантны к дегидратации (обезвоживанию) и действию H₂O₂. Оказалось, что эти факторы вызывают в бактериаль-

ной клетке сходные поражения, а именно одно- и двуцепочечные разрывы в молекулах ДНК.

В настоящее время интенсивно ведутся работы по исследованию бактерий, выделенных из природных образцов зоны отчуждения Чернобыльской АЭС. Оказалось, что в почвах зоны ЧАЭС преобладали бактерии, устойчивые к ДНК повреждающим факторам, в первую очередь, к γ -излучению, к УФ-облучению и H_2O_2 . Видимо, радиорезистентность – это одно из проявлений защитных клеточных систем, имеющих более широкие функции, т.е. по радиорезистентности можно судить о проявлении способности клетки защищать себя от целого комплекса ДНК-повреждающих воздействий.

Ионизирующее облучение используется для стерилизации пищевых продуктов, упаковочных материалов, перевязочных средств, а также в микробиологической промышленности для стерилизации сыпучих питательных сред и наполнителей (метод радиационной стерилизации). В генной инженерии УФ и γ -излучение широко используются при получении мутантов с продуктивностью, в сотни раз превышающей таковую у исходных необлученных организмов.

Советуем обратить внимание!

Излучение	Длина волны (λ), нм	Биологический эффект
<i>инфракрасное излучение</i>		
<i>видимый свет</i>		
<i>ближний УФ</i>		
<i>дальний УФ</i>		
<i>ионизирующее излучение</i>		

3.11. Влияние ультразвука на микроорганизмы

Звуковые волны с частотой колебания свыше 16000 Гц относятся к ультразвуку (УЗ). Биологическое действие УЗ зависит от продолжительности озвучивания, интенсивности УЗ волн, свойств и физиологического состояния микроорганизмов, условий озвучивания. Интенсивность УЗ волн играет большую роль, чем продолжительность озвучивания. При большой интенсивности достаточно нескольких секунд, чтобы вызвать разрыв бактериальной клетки. Повреждения клеток имеют различный характер. В одних случаях происходит одиночный разрыв оболочки на одном из концов или в середине клетки, в других – разрывы множественны, часто клетки распадаются на две равные половины, у жгутиковых бактерий наблюдается повреждение жгутиков или отрыв их вместе с куском оболочки. Существует мнение, что характер повреждения зависит от свойств и структуры клеточной оболочки, в частности от степени ее гидрофобности: чем ниже гидрофобность, тем устойчивее клетки к УЗ.

Степень бактерицидного действия зависит также от концентрации клеток в озвучиваемой суспензии. Например, при озвучивании густой суспензии клеток *Escherichia coli*, содержащей 10^8 клеток в мл, летальный эффект был слабым. Разбавление суспензии в 100 раз резко увеличивало гибель клеток. Микробные клетки быстрее разрушаются при озвучивании в водной среде и значительно слабее в растворе белка. Повышение температуры среды усиливает летальное действие УЗ. Разные виды микроорганизмов отличаются между собой по устойчивости к действию УЗ. Палочковидные формы бактерий менее чувствительны к УЗ, чем кокки.

К ультразвуку чувствительны все микроорганизмы, в том числе и спорообразующие. Но по степени чувствительности к этому фактору они значительно отличаются. Например, под воздействием ультразвуковых волн легко разрушаются клетки *Salmonella typhimurium*, *Lactobacillus casei*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus anthracis*; не-

сколькo более устойчивы клетки *Sarcina urea*, *Acetobacter suboxydans* и *Mycobacterium tuberculosis*.

Биологическое действие УЗ объясняют явлением *кавитации*, которое заключается в образовании разряженных полостей (кавитационных полостей или пузырьков) при прохождении УЗ волн через жидкие среды. При захлопывании таких полостей возникают гидравлические удары, обладающие сильным разрушительным действием. Подобное механическое действие может быть усилено образованием активных радикалов, возникающих в результате фото- и электрохимических реакций внутри кавитационных полостей. Бактерицидный эффект УЗ уменьшается, если подавляется кавитация, что происходит при дегазации или погружении объектов в вязкую среду.

В результате краткосрочного ультразвукового воздействия могут наблюдаться биохимические и функциональные изменения, не приводящие к гибели организма. Под воздействием УЗ могут высвобождаются в клетке биологически активные вещества (витамины, ферменты и др.), изменяется чувствительность к антибиотикам. Например, у гемолитического стафилококка (*Staphylococcus haemolyticus*), подвергнутого воздействию УЗ с частотой 800 кГц в течение 10 мин, чувствительность к пенициллину возрастает в 2 – 5 раз.

УЗ волны используются в микробиологии для разрушения микробных клеток с целью исследования их отдельных компонентов; для стерилизации субстратов, повреждающихся при тепловой обработке.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>ультразвук</i>		
<i>кавитация</i>		
<i>кавитационная полость</i>		

Таким образом, мы рассмотрели раздельное влияние различных физических и химических факторов внешней среды на микроорганизмы. Однако в действительности изолированное влияние отдельного фактора – весьма редкое явление. В природе на микроорганизмы оказывает действие множество факторов среды одновременно. Часто это резко меняет эффективность рассматриваемого фактора. Так, реакция среды влияет на летальный эффект температуры: бактерии гораздо легче могут быть уничтожены при нагревании в кислой среде, чем в нейтральной или щелочной. Летальный эффект рентгеновских лучей сильно повышается в присутствии молекулярного кислорода. В то же время бактерии могут быть защищены от воздействия рентгеновских лучей, если облучение идет в среде, компоненты которой находятся в восстановленном состоянии.

Следующая глава пособия посвящена приспособительным механизмам прокариот к неблагоприятным факторам окружающей среды.

4. Приспособление микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям окружающей среды

Существует множество физических и химических факторов, которые могут оказывать на бактериальную клетку неблагоприятное действие. Реакция живых организмов на неблагоприятные внешние воздействия подчиняется *правилу «доза-эффект»*: чем больше доза, тем сильнее эффект.

Для обозначения дозы применяется величина $L_{1/2}$ или половина летальной дозы, $L_{1/2}$ – доза, обуславливающая половину эффекта. Отмирание организмов происходит по экспоненциальному закону, предполагающему гибель постоянной определенной части популяции:

$$-\frac{dx}{dt} = kX, \quad (4.1)$$

где k – константа, зависящая от качества агента и его интенсивности и, естественно, от свойств популяции, например, вегетативных клеток или спор; X – численность клеток в популяции.

В процессе эволюции прокариоты приспособились к существованию в условиях, которые нельзя отнести к оптимальным. Токсические вещества, неблагоприятная температура, рН, облучение в пределах, определяемых видовой или штаммовой чувствительностью организма, не препятствуют нормальному существованию бактерий. Резкие изменения условий в неблагоприятную сторону приводят к отмиранию клеток. Однако при некоторых воздействиях, которые обычно обозначают как *сублетальные*, клетки не погибают сразу, но оказываются травмированными. Их дальнейшая судьба в значительной степени зависит от условий, в которые они будут помещены. У травмированных клеток во многих случаях нарушаются барьерные функции мембран, наблюдается выход в среду некоторых метаболитов, нарушается синтез белка, возникают нарушения в структуре ДНК.

Травмированные клетки, помещенные в благоприятные условия, способны репарировать, т.е. исправлять повреждения различных структур. Известен ряд систем репарации ДНК.

4.1. Репарация повреждений ДНК

Поскольку определенные воздействия вызывают преимущественно характерные для них нарушения структуры ДНК, ведущее значение приобретают те или иные системы репарации.

Фотореактивация наблюдается при освещении клеток УФ и состоит в разрезании пиримидиновых димеров в ДНК. Процесс связан с действием фермента фотолиазы. Фотолиаза связывается с пиримидиновыми димерами, активация фермент-субстратного комплекса светом длиной волны 300-600 нм приводит к мономеризации димеров.

Кроме того, имеет место непрямая фотореактивация с пиком в области 340 нм. Этот эффект не связан с расщеплением димеров. Снижение эффекта УФ-облучения в этом случае объясняется задержкой роста бактерий, в результате чего удлиняется период протекания репарационных процессов. Непрямая фотореактивация, таким образом, не связана с работой каких-либо специальных репарационных систем.

Экцизионная репарация состоит в удалении поврежденного участка ДНК в одной цепи и восстановлении нормальной последовательности оснований по матрице оснований на комплементарной цепи.

Рекомбинационная репарация – это репарация, включающая рекомбинацию, у *E. coli* представлена двумя типами. Во-первых, это репарация, при которой заполняется пробел в последовательности оснований во вновь синтезированной цепи на месте поврежденного участка. Этот процесс определяется, по крайней мере, четырьмя генами. Во-вторых, существует процесс связанного с репликацией восстановления двунитевых разрывов в ДНК, возникающих под действием УФ, ионизирующей радиации, митомицина, тоже определяемый активностью нескольких генов.

4.2. Бактериальные регуляторные системы ответа на стресс

Принято говорить, что клетки, подвергшиеся неблагоприятным воздействиям, находятся в состоянии стресса. В различных случаях это состояние может быть связано или не связано с нарушениями клеточных структур, т.е. клетки могут быть или не быть травмированы. Воздействия, которые приводят клетки в состояние стресса, определяют как стрессорные. Травмированные клетки восстанавливают в меру своих возможностей причиненные им повреждения. Под влиянием сублетальных воздействий неблагоприятных факторов происходят перестройки в процессах обмена веществ клетки, имеющие очевидное адаптивное значение. Более того, оказывается, что воздействие неблагоприятных условий нередко вызывает ответную реакцию клетки, еще не приводя к каким-либо нарушениям ее структуры. В настоящее время у бактерий выявлены следующие регуляторные системы ответа на стрессовые воздействия: 1) система строгого контроля; 2) система SOS-ответа; 3) адаптивный ответ; 4) синтез белков теплового шока; 5) ответ на окислительный стресс.

Во всех перечисленных случаях происходят глубокие перестройки метаболизма, связанные с замедлением или прекращением размножения и синтезом белков, необходимых для выживания. По крайней мере в некоторых случаях, в процессах регуляции принимают участие специальные соединения, клеточные гормоны, получившие название *алармонов* (фр. *alarme* – тревога). Перечисленные системы находятся под контролем соответствующих генов и взаимосвязаны.

4.2.1. Система строгого контроля

Система строгого контроля включается, главным образом, в ответ на исключение из среды необходимых клетке источников углерода, аминокислот, при солевом шоке, инактивации аминокил-тРНК-синтетаз, снижение температуры (по крайней мере у некоторых термофилов). В данном случае клетки не обязательно должны быть травмированы.

Система строгого контроля регулируется продуктом гена *rel A* – синтетазой алармонов: гуанозин-5-дифосфат-3-дифосфата (*ppGpp*) и гуанозин-5'-трифосфат-3'-дифосфата (*pppGpp*); *ppGpp* более активен, а *pppGpp*, видимо, является его предшественником в процессе синтеза. У разных бактерий свойства этого фермента могут несколько различаться. Синтетаза I, характерная для кишечных бактерий и некоторых термофильных бактерий, активна только в комплексе с рибосомами, иРНК и специфически связанной с соответствующим кодоном тРНК. У бацилл обнаружена синтетаза II, для активности которой образование подобного комплекса не требуется.

Положительный контроль предполагает включение системы при накоплении продукта регуляторного гена. Повышение содержания алармонов в результате активности синтетазы приводит к ингибированию синтеза иРНК, тРНК и некоторых рРНК, в результате снижается синтез фосфатидилэтаноламина, а соответственно и мембранных липидов, снижается синтез нуклеотидов, полианионов, некоторых ферментов катаболизма. Снижение уровня метаболизма способствует выживанию клетки в условиях, не допускающих сбалансированный обмен.

4.2.2. Система SOS-ответа

Система SOS-ответа начинает работать при разнообразных нарушениях в структуре ДНК или системах ее репликации. Для развития SOS-ответа существенное значение имеет образование однонитевой ДНК. Эта система работает, например, после УФ-облучения, воздействия различными химическими мутагенами. В состав SOS-системы входит ген *lex A*, продуктом которого является белок *Lex A* – репрессор ряда генов, и ген *rec A*, кодирующий полифункциональный белок *Rec A*. Белок *Rec A*, активированный сигналом-индуктором SOS-системы, приобретает свойства протеазы и инактивирует репрессорный белок *Lex A*, в результате разрушения белка *Lex A* снимается репрессия, по крайней мере, с 17 генов. К этим генам, в частности относятся *uvr A* и *uvr B*, определяющие эксцизионную репарацию ДНК; ген *umu C*, отвечающий за индуцированный мутагенез; ген *him A*, определяю-

ший сайт-специфическую рекомбинацию; ген *sf1 A*, продуктом которого является белок-ингибитор клеточного деления, ген *sul A*, кодирующий белок, связывающийся с определенными участками внешней мембраны, т.е. при SOS-ответе изменяется состав белков внешней мембраны. Кроме того, белок Rec A катализирует ряд процессов, в том числе перенос нитей от одной молекулы ДНК к другой, т.е. участвует в рекомбинации.

При SOS-ответе могут образовываться нитевидные клетки в результате подавления процесса деления продуктом гена *sf1 A*, зато не образуются клетки, лишенные ДНК. Такие клетки образуются у мутантов по гену *rec A*, у которых SOS-система не срабатывает.

В процессе SOS-ответа можно выделить три фазы:

1. Характеризуется подавлением синтеза ДНК и ее частичной деградацией в ответ на образование белка Rec A.

2. Синтез ДНК протекает с нормальной скоростью, но вновь синтезируемая ДНК содержит пробелы, которые восстанавливаются в процессе пострепликативной или рекомбинационной репарации. Кроме того, в это же время погибают клетки, нарушения в ДНК которых слишком значительны. Их гибель связана с действием Rec A и является проявлением одной из функций SOS-системы. У мутантов с неработающей SOS-системой клетки с подобными нарушениями в ДНК могут еще некоторое время существовать и даже приступить к делению, однако в процессе размножения они неизбежно обречены на гибель. Очевидно, что запрограммированное уничтожение неполноценных клеток выгодно для существования популяции хотя бы потому, что такие клетки сразу исключаются из числа потребителей пищи. Этот пример служит свидетельством существования у прокариот совершенных и тонких регуляторных механизмов, обеспечивающих виду успех в борьбе за существование.

3. В клетках начинается нормальный синтез ДНК, завершаются процессы репарации ДНК. Клетки переходят к нормальному росту.

Наличие SOS-системы обнаружено у различных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, у *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*. У *Bacillus subtilis* при SOS-ответе, кроме всего проче-

го, развивается компетентное состояние клеток, т.е. они приобретают способность воспринимать экзогенную ДНК в процессе генетической трансформации.

4.2.3. Система адаптивного ответа клетки

Система адаптивного ответа клетки – индуцибельная антимуtagenная система репарации. Облучение и мутагены в низких дозах вызывают снижение частоты мутаций при последующих воздействиях. Облучение в дозе 12,5 – 50 рад в состоянии проявить защитный эффект в отношении последующего массированного облучения в дозах порядка 2×10^3 рад. Частота мутаций у *E. coli* возрастает эффективно лишь в первый момент инкубации в присутствии мутагена нитрозогуанидина. По мере инкубации в присутствии мутагена частота мутаций падает, причем после индукции этой антимуtagenной функции клетки становятся устойчивыми к нитрозогуанидину в концентрации в 100 раз выше первоначальной. При удалении нитрозогуанидина из культуральной среды через 4 часа индуцибельная антимуtagenная функция полностью исчезает. Количество первичных нарушений ДНК при действии системы адаптивного ответа не изменяется, эффект зависит от индуцибельного репарационного процесса. Индукция системы происходит при концентрациях мутагенов в 10-100 раз меньших, чем необходимые для проявления их мутагенного действия. Система адаптивного ответа непосредственно не связана с SOS-системой; эти системы индуцируются различными воздействиями. Так, УФ-облучение вызывает SOS-ответ, но не адаптивный ответ.

У *E. coli* имеется индуцибельная система, увеличивающая частоту мутаций (SOS-ответ), и антимуtagenная система. Индуктором и субстратом первой индуцибельной системы служат достаточно грубые повреждения, блокирующие синтез ДНК. Антимуtagenная репарационная система индуцируется другими типами повреждений, которые, вероятно, не связаны с блоком репликации ДНК, но приводят к возникновению мутаций в момент репликации.

4.2.4. Синтез белков теплового шока

Белки теплового шока (БТШ) представляют собой полифункциональную, высоко консервативную в эволюции группу белков, имеющую сравнительно небольшие молекулярные массы. В оптимальных условиях они присутствуют в клетках в небольшом количестве и выполняют разнообразные жизненно важные функции. При тепловом шоке или других стрессовых воздействиях БТШ быстро индуцируются в высоких концентрациях и выполняют защитную функцию разными путями. Белки теплового шока предотвращают денатурацию белков и ренатурируют свернутые белки. Как протеазы, они деградируют денатурированные белки. БТШ защищают хромосомы и особенно транскрипционно – активные участки в молекулах ДНК от повреждения.

Синтез белков теплового шока вызывается сублетальным температурным шоком, этанолом в высокой концентрации (4 – 10 %), УФ-облучением, обработкой налидиксовой кислотой (ингибитор ДНК-гиразы), вирусной инфекцией. Во всех этих случаях образуются сходные группы белков, что, по-видимому, отражает существование общих механизмов реакции клеток на стрессы, непосредственно затрагивающие структуру белков или целостность ДНК. Другие физиологические стрессы (сдвиги pH, осмотического давления, содержания O₂), вероятно, не индуцируют синтез белков теплового шока.

Значение БТШ для клеток, видимо, очень велико, поскольку многие организмы, и прокариотические, и эукариотические имеют совокупность генов, кодирующих БТШ. Синтез ряда БТШ у *E. coli* находится под контролем регуляторного гена *htp R* (*hin*). У *E. coli* выявлено 14 основных БТШ, а ген *htp R* необходим бактериям для роста при повышенной температуре; например, при росте *E. coli* при 42 °С, но этот ген не нужен для роста при умеренной температуре.

В настоящее время считают, что такой адаптационный механизм, как образование белков теплового шока, обеспечивает организму нормальное существование без изменения его физиологических функций. Однако при усилении степени стрессового воздействия присутствие БТШ уже не способно защитить клетку,

и организм включает другую программу выживания. Такая программа может включать, например, образование покоящихся форм у многих бактериальных родов, а у стрептомицетов – вторичного мицелия.

4.2.5. Синтез белков холодового шока

Резкое понижение температуры при выращивании бактериальных культур приводит к временной остановке их роста, а затем к его постепенному возобновлению после определенного периода адаптации. Чем сильнее понижается температура, тем продолжительнее период адаптации и тем меньше скорость последующего роста культуры. Более того, существует предельно низкая температура, ниже которой адаптация становится невозможной. Например, для *E. coli*, у которой оптимальная температура роста около $+37^{\circ}\text{C}$, процесс адаптации начинает наблюдаться при температурах ниже $+20^{\circ}\text{C}$, а предельно минимальная температура для адаптации составляет около $+8^{\circ}\text{C}$.

Понижение температуры значительно ингибирует многие клеточные процессы, прежде всего те, которые связаны с реализацией генетической информации – транскрипцию и трансляцию. Было показано, что при резком понижении температуры до величин, близких к критическим для адаптации, наблюдается полная остановка синтеза всех ранее синтезировавшихся белков, и начинается активный синтез нескольких (четырёх в случае *E. coli*) низкомолекулярных белков. Именно эти белки были названы главными белками холодового шока (major CSP; cold shock proteins). Все исследованные CSP – белки, обладающие высоким сродством как к ДНК, так и к РНК, могут связываться с любыми нуклеотидными последовательностями.

Вскоре после начала синтеза главных CSP активируется синтез еще около двух десятков разных белков холодового шока, участвующих в процессе адаптации бактерий к пониженной температуре. Среди них преобладают белки, задействованные в структурных переходах и превращениях нуклеиновых кислот. Наконец, спустя 3–4 часа после понижения температуры постепенно восстанавливается синтез тех белков, которые синтезиро-

вались при оптимальных условиях роста, и возобновляется рост и размножение клеток. Повышенная экспрессия главных CSP при низких температурах является необходимым условием адаптации бактерий к росту и размножению в этих изменившихся условиях.

Связываясь с ДНК в клетках бактерий, CSP работают как факторы транскрипции и активируют, а иногда подавляют экспрессию большого количества генов, участвующих в клеточном делении, дифференцировке и кодирующих разнообразные защитные белки. Этим определяется ряд функций CSP:

1) адаптируют бактерии к росту при низких температурах окружающей среды;

2) повышают устойчивость клеток к ионизирующей радиации и химическим агентам, повреждающим ДНК;

3) являются ранними маркерами множественной лекарственной устойчивости.

Поиск генов, кодирующих CSP, обнаружил их широкое распространение у эубактерий, имеющих разные температурные оптимумы роста, включая термофилов, мезофилов, психрофилов и психроактивных прокариот. У *Bacillus subtilis* имеется три гена, которые кодируют белки со степенью идентичности по аминокислотной последовательности более 70%. У некоторых бактерий, таких как *Haemophilus influenzae* (возбудитель менингита), обнаружено по одному гену. Ряд прокариотических организмов не имеет генов, кодирующих CSP. К последним принадлежат *Mycoplasma genitalium* (возбудитель инфекций половых органов), *Mycoplasma pneumoniae* (возбудитель пневмонии), *Methanococcus jannaschi* (метанообразующая бактерия), *Helicobacter pylori* (возбудитель язвы желудка и двенадцатиперстной кишки) и некоторые другие. Эубактерии и архебактерии, не имеющие генов CSP, обычно обитают в стабильных условиях окружающей среды (в том числе и по температурному фактору), и, по-видимому, не нуждаются в CSP, необходимых для адаптации к стрессовым условиям.

4.2.6. Ответ на окислительный стресс

Ответ на окислительный стресс наиболее изучен на кишечных бактериях. Клетки экспоненциально растущей культуры *Salmonella typhimurium*, обработанные в течение 1 ч 60 мМ пероксидом водорода, приобретают устойчивость к 10 мМ H₂O₂; для необработанных клеток такая концентрация пероксида водорода летальна.

Система ответа на окислительный стресс находится под контролем гена *oxyR*. Продукт гена *oxyR* взаимодействует с алармоном, в роли которого выступает аденилированный нуклеотид ArrrrrA. Этот комплекс активирует образование белков двух классов: 1) ранние белки, которые синтезируются с максимальной скоростью в течение первых 10 мин после добавления пероксида водорода; 2) поздние белки, максимальный синтез которых начинается через 10-30 мин после начала воздействия. Среди образующихся белков имеется ряд ферментов, необходимых для защиты от окислителей. Это белки с каталазной и пероксидазной активностью, Mn-зависимая супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, НАД(Ф)Н-зависимая алкил-гидропероксидредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, БТШ. Клетки, приобретшие устойчивость к пероксиду водорода, становятся устойчивыми и к тепловому шоку, однако тепловой шок не стимулирует устойчивости к H₂O₂.

Среди белков, синтез которых стимулируется в условиях окислительного стресса, видимо, имеются и ферменты, участвующие в процессах репарации ДНК, поскольку окислители вызывают ее специфические повреждения.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>фотореактивация</i>		
<i>репарация ДНК</i>		
<i>стресс</i>		
<i>регуляторные системы ответа на стресс</i>		
<i>система строгого контроля</i>		

<i>система SOS-ответа</i>		
<i>адаптивный ответ</i>		
<i>белки теплового шока (БТШ)</i>		

4.3. Таксисы бактерий

У подвижных бактерий функционируют сложные сенсорные системы, определяющие характер и направление их перемещения в пространстве. Двигательную реакцию в ответ на односторонне действующий стимул называют *таксисом* (гр. *taxis* – расположение). Таксисы, как правило, носят адаптивное значение для прокариот и позволяют им выживать в постоянно меняющихся условиях среды обитания. В зависимости от фактора различают хемотаксис (частный случай – аэротаксис), фототаксис, магнитотаксис, термотаксис и вискозитаксис.

Термотаксис – движение бактерий в сторону с повышенной или пониженной температурой окружающей среды.

Хемотаксис – способность к направленному движению в сторону увеличения или уменьшения концентрации определенных химических веществ. Те или иные соединения могут вызывать или не вызывать таксис у данной бактерии. В этом случае говорят об эффекторах, среди которых различают две группы: аттрактанты и репелленты. Аттрактанты – вещества, привлекающие бактерий, репелленты – отпугивающие их. Аттрактантами для бактерий могут быть сахара, аминокислоты, витамины, нуклеотиды и т.д.; репеллентами – некоторые аминокислоты, спирты, фенолы, неорганические ионы. Хотя бактерии перемещаются в пространстве, сравнение концентрации эффекторов происходит во времени.

Способность клетки реагировать на изменение концентрации эффекторов определяется наличием у бактерий специфических хеморецепторов. У *E. coli* найдено более 30 различных рецепторов, специфичных к сахарам, аминокислотам, спиртам и другим соединениям, и до 10 тыс. копий каждого из рецепторов. Рецепторы представляют собой белки, которые синтезируются только в присутствии эффектора, или их синтез конститутивен. Специ-

фичность рецептора определяется его способностью образовывать комплексы только с определенными, обычно химически родственными веществами. Некоторые субстраты, например, глюкоза, могут реагировать с несколькими рецепторами. Рецептор реагирует на эффектор и передает сигнал по определенному пути, конкретный механизм которого не известен, на «мотор» жгутика.

Во многих случаях целесообразность хемотаксиса для бактерий несомненна. Так, для вида *Vibrio alginolyticum*, обитающего на морских водорослях, аттрактантами являются гликолевая кислота, акриловая кислота и диметилсульфид – обычные компоненты выделений водорослей. Клетки *Rhizobium sp.* привлекаются многими веществами, выделяемыми корнями бобовых растений: сахарами, аминокислотами, специфическими гликопротеидами. Подвижные клетки способны за день мигрировать в почве на расстояние до 2 см. Хемотаксис облегчает ризобиям заражение бобовых растений.

Перечисленные выше примеры свидетельствуют об адаптивном значении аттракции бактерий. Вместе с тем целесообразность реакций хемотаксиса не столь очевидна. Аттрактанты не всегда служат пищей, а репелленты не всегда вредны. Например, для *E. coli* ацетат является репеллентом, но может быть использован как источник углерода и энергии. Наборы аминокислот, используемые или даже необходимые для роста и являющиеся аттрактантами, для разных бактерий обычно совершенно различны. Поэтому эффекторы, видимо, важны не сами по себе: их концентрационные градиенты свидетельствуют об определенных изменениях экологической обстановки. Так, например, увеличение концентрации тех или иных аминокислот может свидетельствовать о приближении источника разлагающегося белка, а увеличение концентрации ацетата, скорее всего, о развитии уже сформировавшихся бродильных бактериальных сообществ, т.е. о том, что место уже занято.

Аэротаксис – частный случай хемотаксиса. Аттрактантом для аэробных и репеллентом для анаэробных прокариот служит молекулярный кислород.

У подвижных бактерий можно определить тип метаболизма (аэробный или анаэробный) по их аэротаксическим движениям и скоплению на определенных расстояниях от края покровного стекла. В слое бактерий, помещенных между предметным и покровным стеклами, аэробные бактерии скапливаются у края покровного стекла или в непосредственной близости от оказавшихся в препарате пузырьков воздуха; это указывает на их потребность в аэробных условиях и на то, что необходимую энергию они получают за счет процесса дыхания (рис. 8, А).

Строго анаэробные бактерии будут скапливаться в центре (рис. 8, В). Микроаэрофильные бактерии, например, некоторые псевдомонады и магнитоспириллы, будут держаться на определенном расстоянии от края покровного стекла (рис. 8, Б).

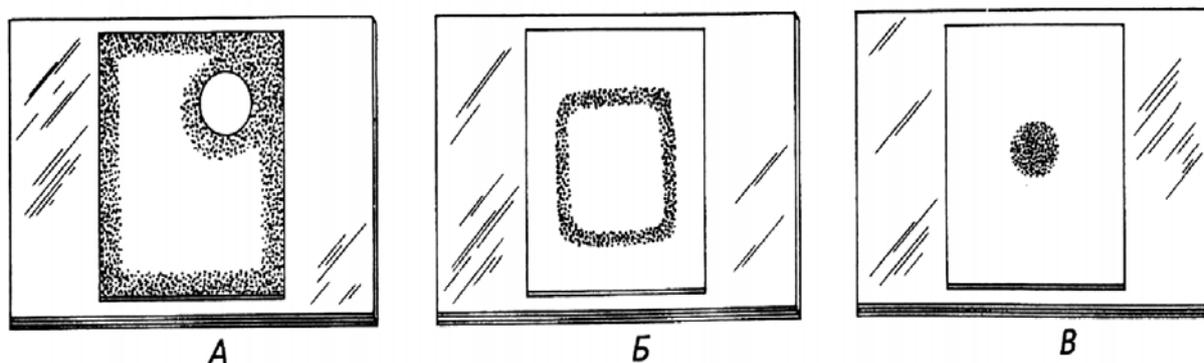


Рис. 8. «Фигуры дыхания» как следствие аэротаксиса у подвижных бактерий. Аэробные бактерии скапливаются у края покровного стекла и вокруг попавших в среду пузырьков воздуха (А). Микроаэрофильные бактерии остаются на некотором расстоянии от краев покровного стекла (Б). Строго анаэробные бактерии скапливаются в центре (В).

С помощью бактерий, проявляющих положительный аэротаксис, Энгельману удалось продемонстрировать выделение молекулярного кислорода локально освещаемыми хлоропластами зеленой водоросли рода *Spirogyra*.

Фототаксис. Видимый свет (длина волны в диапазоне 400 – 740 нм) влияет на поведение фототрофных бактерий, у них наблюдается явление фототаксиса: бактерии способны реагировать

на изменение спектрального состава света или освещенности. У эубактерий фоторецепторами служат бактериохлорофиллы и каротиноиды, т.е. те же пигменты, которые поглощают свет в процессе фотосинтеза. У архебактерий обнаружены специальные сенсорные пигменты (например, родопсин у галобактерий). Бактериальные клетки, способные к фототаксису, резко изменяют направление движения, если попадают из более освещенного участка в менее освещенный или в совсем не освещенный. В результате бактерии двигаются к свету – это положительный фототаксис. В некоторых условиях наблюдается отрицательный фототаксис – движение в сторону уменьшения освещенности. Подобные реакции определяют как фотофобные.

Магнитотаксис – это способность перемещаться по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита. Магнитотаксисом обладают бактерии, содержащие внутриклеточные включения – магнетосомы, которые представляют собой однодоменные кристаллы магнитного минерала магнетита (Fe_3O_4), окруженные двойной мембраной и определенным образом выстроенные в клетке. На долю магнетита может приходиться до 4% сухого вещества клетки. Бактерий, способных к магнитотаксису, называют магнитотактическими (магнитными, магнитобактериями, магниточувствительными). Чистые культуры магнитотактических бактерий получить трудно. Сравнительно подробно исследована в культуре хемоорганотрофная микроаэрофильная бактерия *Magnitospirillum magnetotacticum* (уст. *Aquaspirillum magnetotacticum*). Считается, что магнитотактические бактерии весьма широко распространены в природе, встречаются в водоемах с соленой и пресной водой, в почвах. Для своего роста требуют микроаэробных или анаэробных условий. Механизмом, позволяющим бактериям «находить» микроаэробные и анаэробные области, а также избегать богатых кислородом поверхностных слоев, и является магнитотаксис.

Цепочки магнетосом в клетках магнитотактических бактерий играют роль магнитной стрелки. Наиболее понятно поведение в магнитном поле бактерий, имеющих один жгутик (монополярные монотрихи). У таких бактерий магнитный момент цепочки магнетосом может быть ориентирован двояко, что обуславливает два

вида подвижности. Если магнитный момент цепочки магнетосом направлен от конца клетки, к которому крепятся жгутики, к свободному концу, то бактерии при ориентации будут двигаться в направлении магнитного поля Земли на север – это «северолюбивые магнитотактические бактерии». Если магнитный момент цепочки магнетосом направлен от свободного конца к жгутику, то бактерии движутся на юг – это «юголюбивые магнитотактические бактерии».

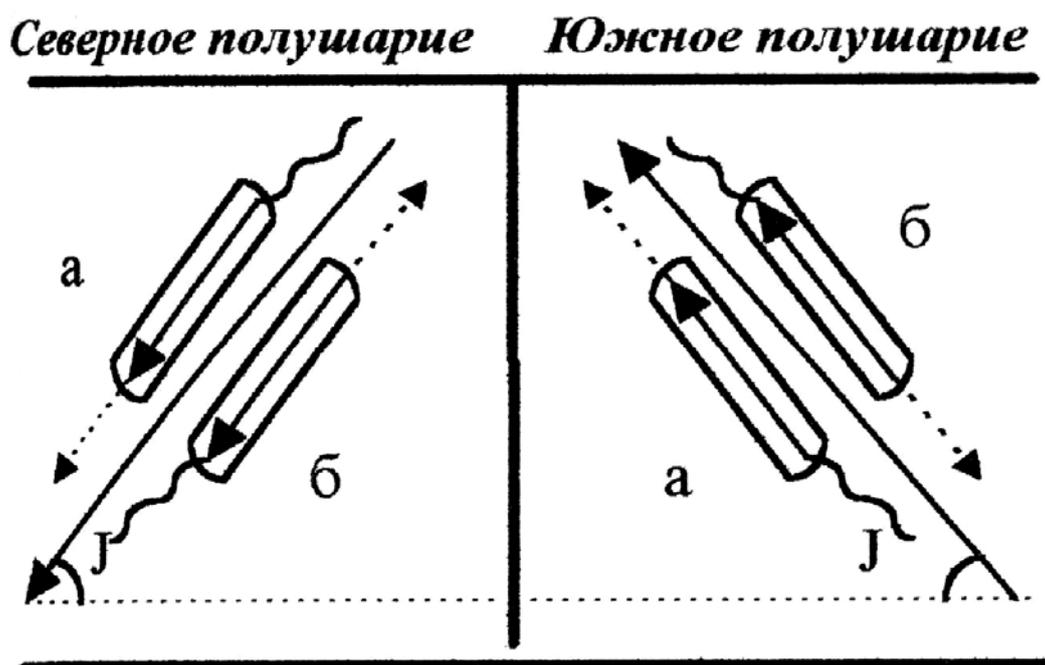


Рис. 9. Схема движения клеток магнитотактических бактерий в магнитном поле с наклоном.

Длинные сплошные стрелки – магнитная силовая линия в Северном и в Южном полушариях; а – «северолюбивые» клетки, б – «юголюбивые» клетки; J – угол наклона магнитного поля; короткие стрелки – магнитные моменты бактерий; пунктирные стрелки указывают направление движения клеток

В Северном полушарии магнитное поле Земли наклонено «вниз», а в Южном – «вверх». Вследствие этого, «северолюбивые» бактерии мигрируют в Северном полушарии на север и «вниз», по направлению геомагнитных силовых линий; а в Южном полушарии – на север и «вверх» (рис. 9, а). Поэтому в Юж-

ном полушарии они будут двигаться к поверхности (области, богатой кислородом) и погибать, «юголюбивые» (рис. 9, б), наоборот, в Северном полушарии движутся на юг и «вверх» (где гибнут), а в Южном – на юг и «вниз» (в благоприятную среду). Поэтому в Южном полушарии преобладают «юголюбивые» магнитотактические бактерии, в Северном – «северолубивые».

Вискозитаксис – движение бактерий в сторону увеличения или уменьшения вязкости среды.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>таксис</i>		
<i>термотаксис</i>		
<i>хемотаксис</i>		
<i>аттрактанты</i>		
<i>репелленты</i>		
<i>аэротаксис</i>		
<i>фототаксис</i>		
<i>магнитотаксис</i>		
<i>магнитотактические бактерии</i>		
<i>вискозитаксис</i>		

4.4. Покоящиеся формы бактерий

В природных условиях достаточно большая доля бактерий находится в анабиотическом состоянии – в виде *покоящихся форм* – ПФ, назначение которых состоит в обеспечении переживания вида в течение длительного времени в неблагоприятных условиях, связанных с голоданием, действием неоптимальных температур и целого ряда других, неблагоприятных для роста биотических и абиотических факторов. У ПФ микроорганизмов отсутствуют рост и размножение, они не выделяют токсинов, экзoферментов и других веществ. К таким ПФ относятся:

1) *Эндоспоры грамположительных бактерий* (роды *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina* и др.). Эндоспоры – внутриклеточные тельца сферической или эл-

липтической формы. Обычно эндоспоры появляются, когда бактерии испытывают недостаток питательных веществ или в среде их обитания в большом количестве накапливаются продукты метаболизма. Спора имеет толстую оболочку, а в сердцевине зрелой споры содержатся: ДНК, РНК, белки, ферменты, дипиколиновая кислота (ДПК), низкомолекулярные соединения, в том числе Ca^{2+} , рибосомы. Считают, что белки сердцевины споры образуют комплексы с ДНК, что приводит к изменению структуры последней и обеспечивает термо- и радиорезистентность споры. Большое значение в обеспечении терморезистентности спор придается комплексу ДПК- Ca^{2+} .

Споры сохраняют жизнеспособность в условиях, когда вегетативные клетки, т.е. не образовавшие спор, погибают. Большинство спор хорошо переносят высушивание, многие споры нельзя убить даже кипячением в течение нескольких часов. Для их уничтожения требуется стерилизация паром, при которой температура пара 121°C при его давлении 1 атм ($1,01 \times 10^5$ Па) поддерживается в течение 20 мин. В сухом состоянии споры погибают лишь при сильном нагревании ($150 - 160^{\circ}\text{C}$) в течение нескольких часов. Споры отдельных видов бактерий отличаются особой термоустойчивостью.

Благодаря барьерной роли белковых покровов, споры способны выдерживать также воздействие низких температур, радиации, давления, органических растворителей, ядов, ферментов, антибиотиков и т.п.

Споры бактерий могут длительное время существовать в покоящемся состоянии. Английский микробиолог П. Снис нашел жизнеспособные споры бактерий в комочках почвы, приставших к корням растений гербария, хранившегося около 320 лет. В слое осадков на дне озера в штате Миннесота найдены споры, возраст которых оценивают в 7500 лет. М.Б. Вайнштейном и др. (1995) была выделена сульфатовосстанавливающая бактерия *Desulfotomaculum orientis* из вечномерзлых отложений, возрастом 20-30 тыс. лет, бактерия способна выживать в условиях вечной мерзлоты в виде спор. По некоторым данным, найдены споры и более «солидного» возраста. Так, немецкий микробиолог Г. Домбровский обнаружил жизнеспособные споры в образцах соли из де-

вонских, пермских и силурийских месторождений, расположенных в Германии и Северной Америке, имеющих возраст более 300 млн лет. А в опытах, проведенных в Лейденском университете (Нидерланды), было показано, что споры некоторых бактерий могли бы выжить в условиях космоса в течение 45 млн лет.

Кроме того, споры обеспечивают распространение бактерий в окружающей среде, позволяя виду колонизировать разнообразные местообитания. Они могут переноситься на большие расстояния потоками воздуха и дождевой воды, а также животными, благодаря чему спорообразующие бактерии в природе вездесущи. Почвенную бактерию *Bacillus subtilis* можно выделить из самых разнообразных экосистем, включая океанические осадки.

2) *Цисты* (отмечены у родов *Azotobacter*, *Bdellovibrio*, у спирохет, миксобактерий, риккетсий, метилотрофных бактерий). У миксобактерий цисты еще называются *миксоспорами*.

В процессе образования цисты бактериальная клетка целиком превращается в покоящуюся клетку, при этом изменяется ее форма, утолщается клеточная стенка. Зрелые цисты представляют собой округлые образования, имеющие сердцевину – цитоплазму с нуклеоидом и гранулами поли-β-гидроксимасляной кислоты. Цитоплазма окружена ЦПМ и двумя оболочками: интиной – толстой внутренней оболочкой и *экзиной* – многослойной внешней оболочкой. В цистах содержится почти в два раза больше липидов, чем в вегетативных клетках. Цисты более устойчивы к механическим воздействиям, высушиванию и лизоциму, чем вегетативные клетки. Устойчивость цист к высоким температурам не намного выше, чем вегетативных клеток. Так, цисты азотобактера гибнут при нагревании до 60⁰С в течение 15 мин, при высушивании сохраняют 100%-ную жизнеспособность в течение 12 сут; миксоспоры гибнут на 90% после выдерживания при 50⁰С в течение 20 мин, при высушивании через 6 сут 50% клеток гибнет.

3) *Экзоспоры актиномицетов*. На специализированных воздушных гифах, поднимающихся вверх от субстрата, образуются цепочки многочисленных спор (может быть свыше 50 спор). Экзоспоры относительно устойчивы к высушиванию, но чувствительны к высокой температуре. Так, экзоспоры актиномицетов проявляют гибель на 99% после выдерживания при 75⁰С в тече-

ние 70 мин, а при высушивании сохраняют жизнеспособность в течение 14 лет.

4) *Акинеты цианобактерий* представляют собой покоящиеся клетки с толстой стенкой; их появление характерно для родов, образующих гетероцисты (например, роды *Anabaena* и *Cylindrocapsa*) при дефиците источников питания или энергии. Эти структуры служат для выживания в условиях холода или засухи («экзоспоры»). Акинеты гибнут на 95% после выдерживания при 40⁰С в течение 10 мин; при высушивании 95%-ная жизнеспособность сохраняется в течение 15 месяцев при 4⁰С.

5) *Цистоподобные рефрактерные клетки (ЦРК)* отмечены у широкого круга неспорообразующих бактерий (рода *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* и др.); у представителей рода *Bacillus* в условиях репрессии спорообразования. В отличие от вегетативных клеток характеризуются пониженным содержанием фосфора и калия, высоким уровнем кальция, снижением уровня эндогенного дыхания, сохранением жизнеспособности, терморезистентностью и ультраструктурными особенностями. Микробиологические исследования вечномерзлых подпочвенных осадков Арктики и Антарктиды, а также погребенных почв различных климатических зон показали высокую степень сохранения жизнеспособности ЦРК в условиях природной криоконсервации на протяжении сотен тысяч лет. Считается, что в условиях криоконсервации низкая температура (-7 – 12⁰С) и недоступность воды являются определяющими факторами, обуславливающими переход клеток в ЦРК.

После попадания в подходящие условия ПФ прорастают, давая начало вегетативным клеткам. Прорастанию предшествует оводнение и набухание с быстрой последующей дезинтеграцией наружных слоев оболочки ПФ и образованием трещин. После разрушения оболочки развиваются типичные вегетативные клетки.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
<i>покоящиеся формы бактерий</i>		
<i>эндоспоры</i>		
<i>цисты</i>		
<i>микроспоры</i>		
<i>экзоспоры</i>		
<i>акинеты</i>		
<i>цистоподобные рефрактерные клетки</i>		

Контрольный тест

Вам предлагаются тестовые задания для самостоятельной проверки знаний по аутоэкологии микроорганизмов. До того, как приступить к выполнению заданий, внимательно прочтите материал, изложенный в пособии, и обратите внимание на ключевые слова – термины, указанные в таблицах после отдельных глав в пособии.

Задание № 1. Выберите все правильные ответы

1. Для прокариот характерен тип питания:
 - А. фототрофный
 - Б. голозойный
 - В. осмотрофный
 - Г. галофильный
 - Д. олиготрофный

2. Хемоорганогетероанаэротрофы для своего существования используют:
 - А. Энергию окислительно-восстановительных реакций
 - Б. Неорганические соединения в качестве донора электронов
 - В. CO_2 в качестве источника углерода
 - Г. Органические вещества в качестве источника углерода
 - Д. Органические соединения в качестве донора электронов

3. Фотолитоавтоанаэротрофы для своего существования используют:
 - А. Энергию солнечного света
 - Б. Неорганические соединения в качестве донора электронов
 - В. CO_2 в качестве источника углерода

- Г. O_2 в качестве акцептора электронов
- Д. Органические соединения в качестве донора электронов

4. Хемоорганогетероаэротрофы для своего существования используют:

- А. Энергию окислительно-восстановительных реакций
- Б. Неорганические соединения в качестве донора электронов
- В. CO_2 в качестве источника углерода
- Г. O_2 в качестве акцептора электронов
- Д. Органические соединения в качестве источника углерода

5. К копитрофам относятся микроорганизмы:

- А. Рода *Nyphomicrobium*
- Б. Имеющие цитоплазматические выросты – простеки
- В. Предпочитающие изобилие пищевых субстратов в среде
- Г. Живущие в природе только в экстремальных условиях
- Д. Растущие на среде РПА

6. К олиготрофам относятся организмы:

- А. Которые зависят от низкого суточного поступления соединений азота
- Б. Родов *Escherichia* и *Proteus*
- В. Способные размножаться в местах с пищевым потоком до 0,1 мг С/л в сутки
- Г. Способные расти на РПА
- Д. Имеющие цитоплазматические выросты – простеки

7. Психрофильные бактерии:

- А. Характеризуются высоким содержанием ненасыщенных жирных кислот в фосфолипидах мембран
- Б. Приспособлены к сезонным изменениям климата
- В. Характеризуются высоким содержанием разветвленных жирных кислот в фосфолипидах мембран

Г. Обитают в местах с постоянно низкой температурой
Д. Оптимальная температура роста находится при +25⁰С и ниже

8. Термофильные бактерии отличаются:

А. Оптимальным температурным диапазоном в области +25 ... +40⁰С

Б. Способностью вызывать заболевания теплокровных животных

В. Высоким содержанием разветвленных жирных кислот в фосфолипидах мембран

Г. Наличием необычных полиненасыщенных жирных кислот в мембранах

Д. Наличием в клетках специфических полиаминов, которые стабилизируют ДНК или аппарат синтеза белка

9. Психроактивные бактерии:

А. Существуют в постоянно холодных условиях

Б. Приспособлены к сезонным изменениям климата

В. Эвритермные организмы

Г. Имеют оптимальную температуру роста при 25-30⁰С

Д. Обладают особыми цитоморфологическими особенностями

Задание № 2.

Установите соответствие

1. Микроорганизм	Характеристика
А. <i>Escherichia coli</i>	1) Образует споры
Б. <i>Deinococcus radiodurans</i>	2) Может вызывать кишечные инфекции
	3) Обитает в гиперсоленых лагунах
	4) Обладает радиорезистентностью
	5) Выделен из кишечника человека и животных
	6) Свидетельствует о фекальном загрязнении
	7) Обладает УФ-резистентностью
	8) Типичный термофил

2. Микроорганизм	Характеристика
А. <i>Caulobacter sp.</i>	1) Автотроф
Б. <i>Deinococcus radiodurans</i>	2) Обитает в пресных водах
	3) Устойчив к обезвоживанию и H_2O_2
	4) Обладает радиорезистентностью
	5) Олиготроф
	6) Обитает в местах с повышенным радиоактивным фоном
	7) Типичный термофил
	8) Может вызывать кожные инфекции
3. Микроорганизм	Характеристика
А. <i>Caulobacter sp.</i>	1) Экстремальный галофил
Б. <i>Pyrolobus sp.</i>	2) Обитает в глубоководных гидротермах
	3) Олиготроф
	4) Обладает радиорезистентностью
	5) Гипертермофил
	6) Обитает в пресных водоемах
	7) Устойчив к высоким температурам, может расти при $+100\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выше
	8) Обладает УФ-резистентностью

Задание № 3. Дополните

1. Совокупность морфофизиологических, поведенческих, популяционных и др. особенностей данного вида, обеспечивающая возможность специфического образа жизни в определенных условиях внешней среды – ...

2. Развитие особых черт, обеспечивающих приспособление организма к данным условиям существования – ...

3. Свойство организма, имеющее приспособительную ценность для еще не осуществленных форм взаимодействия со средой – ...

4. Дальний УФ в диапазоне длин волн ... нм и ближний УФ в диапазоне длин волн ... нм, обладает высоким ... и ... эффектами, поскольку вызывает образование ... тимина и цитозина в молекулах ...

5. Ионизирующее излучение в диапазоне длин волн ... нм обладает высоким ... и ... эффектами, поскольку вызывает образование ... и ... разрывов в молекулах ...

6. Видимый свет в диапазоне длин волн ... у автотрофных бактерий необходим для осуществления ... фотосинтеза, который не сопровождается выделением ...; у цианобактерий фотосинтез ... и сопровождается выделением ...; кроме того, видимый свет вызывает у подвижных форм поведенческую реакцию ...

7. Диапазон оптимальных значений активности воды (a_w) для бактерий находится в пределах..., а в котором обитают бактерии ..., поэтому большинство бактерий является ..., хотя для почвенных видов характерна ...

8. Микроорганизмы, обитающие при рН среды меньше 4,0 относятся к ..., в присутствии концентрации O_2 меньше 21% относятся к ..., при концентрации NaCl в диапазоне 12-32% относят к ..., при температуре выше $50^{\circ}C$ относят к ...

9. Антибиотики обладают ... и ... действием по отношению к прокариотам, действуют в низких концентрациях, поэтому их относят к ... веществам, тем не менее есть прокариоты, устойчивые к действию антибиотиков, их называют ...

Ответы на вопросы теста

№ во-проса	Задание № 1	Задание № 2	Задание № 3
1.	А В	А 2 5 6 Б 4 7	адаптация
2.	А Г Д	А 2 5 Б 3 4 6	специализация
3.	А Б В	А 3 6 Б 2 5 7	преадаптация
4.	А Г Д		220-300 300-380 Мутагенным Летальным димеров ДНК
5.	В Д		До 200 Мутагенным Летальным Одноцепочечные Двуцепочечные ДНК
6.	В Д		380-780 аноксигенного O ₂ Оксигенный O ₂ фототропизм
7.	А Г Д		0,99-0,90 0,99-0,60 гигрофилам ксерофилия

8.	В Г Д		ацидофилам микроаэрофилам экстремальные галофилы термофилы
9.	Б В Г		бактерицидным бактериостатиче- ским олигодинамиче- ским антибиотикоре- зистентными

Шкала оценок теста

Правильных ответов всего – 72,
за каждый правильный ответ – 1 балл,
за каждый неправильный – 0 баллов.

От 68 до 72 – оценка «5» (95-100% решенных заданий)

От 67 до 61 – оценка «4» (80-95% решенных заданий)

От 60 до 50 – оценка «3» (70-80% решенных заданий)

От 49 и ниже – оценка «2» (меньше 70% решенных заданий)

Список сокращений

- АТФ** – аденозинтрифосфат
АДФ – аденозиндифосфат
БГКП – бактерии группы кишечной палочки
ГТФ – гуанинтрифосфат
Г+Ц – отношение суммы гуанина и цитозина к общему весу оснований в молекуле ДНК, мол. %
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
КС – клеточная стенка
МПА – мясопептонный агар (среда для культивирования гетеротрофных бактерий)
МПБ – мясопептонный бульон (среда для культивирования гетеротрофных бактерий)
НАД⁺/НАДН – никотинамидадениндинуклеотид ок. / восст.
НАДФ⁺/НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат ок. / восст.
ПАВ – поверхностно-активные вещества
ПФ – покоящаяся форма
РНК – рибонуклеиновая кислота
РОВ – растворенное органическое вещество
РПА – рыбопептонный агар (среда для культивирования гетеротрофных бактерий)
СОД – супероксиддисмутаза
УФ – ультрафиолет
ФАД⁺/ФАДН – флавинадениндинуклеотид ок. / восст.
ЦПМ – цитоплазматическая мембрана
ЭТЦ – электронтранспортная цепь

Словарь терминов

Адаптация (от лат. *adaptation* – приспособление, прилаживание) – совокупность морфофизиологических, поведенческих, популяционных и др. особенностей данного вида, обеспечивающая возможность специфического образа жизни в определенных условиях внешней среды. В жизнедеятельности микроорганизмов большую роль может играть явление преадаптации.

Активность воды (a_w) – это мера свободной воды в многокомпонентной системе для протекания химических реакций и осуществления процессов жизнедеятельности микроорганизмов. У чистой воды $a_w = 1$. При взаимодействии воды с поверхностями, анионами и катионами, любыми гидрофильными группами активность воды становится меньше 1, т.е. a_w падает при увеличении концентрации веществ в водном растворе. Активность воды определяют по формуле:

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{OB}{100} = \frac{П_2}{П_1 - П_2} ,$$

где P – давление водяного пара в исследуемой системе, P_0 – давление водяного пара над чистой водой, OB – относительная влажность, $П_1$ – число молей растворителя, $П_2$ – число молей растворенного вещества.

Алкалофилы – микроорганизмы, предпочитающие рН среды в пределах от 9 до 12 (почвы, обогащенные минералами, экскрементами животных, разлагающимися белками; содовые озера и источники и т.п.).

Анаэробы – микроорганизмы, которые предпочитают условия окружающей среды без O_2 . Энергетические и конструктивные процессы у анаэробов происходят без участия молекулярного кислорода. К ним относятся метаногены, сульфат- и железовосстанавливающие, маслянокислые и некоторые другие бактерии. Среди анаэробов выделяют подгруппы: *облигатные анаэробы* (чувствительные к токсичному действию O_2 , развиваются

только в бескислородных условиях) и *аэротолерантные анаэробы* (обладающие метаболизмом только анаэробного типа, но при этом растут в присутствии кислорода).

Антибиотики (греч. *anti* – против, *bios* – жизнь) – специфические продукты жизнедеятельности организмов (бактерий, грибов, растений и животных) или их химические модификации, обладающие высокой физиологической активностью к определенным группам микроорганизмов, избирательно задерживая их рост или полностью подавляя развитие. Антибиотики обладают бактериостатическим и бактерицидным действием. Для антибиотиков характерны такие свойства, как олигодинамичность и избирательность действия.

Антисептик (греч. *anti* – против, *septicos* – гнилостный) – соединение, обладающее противомикробными свойствами. Антисептики применяют: в медицине (для лечения ран и дезинфекции инструментов, одежды, помещений), в пищевой промышленности (для защиты продуктов от порчи), для предотвращения от порчи деревянных сооружений, для дезинфекции питьевой воды и пр. Антисептики обладают бактериостатическим, бактерицидным и бактериолитическим действием. К антисептикам относятся галогены и их производные, неорганические и органические кислоты, щелочи, окислители, спирты, альдегиды, фенолы, красители, ПАВ и т.п.

Архебактерии – одна из самых древних ветвей эволюции живых существ, новое царство органического мира, открытое Woese с соавт. (1978) в результате сравнительного анализа высоко консервативных информационных молекул (16 S и 18 S рРНК), измеряющих как эволюционные отношения, так и эволюционные расстояния между организмами. Архебактерии имеют общие с другими прокариотами свойства, а также ряд уникальных особенностей – структура липидов и полисахаридов в ЦПМ и клеточной стенке, рибосомальные белки в составе 16 S и 55 S рРНК и тРНК, особый тип фотосинтеза, синтез метана и специфических кофакторов, отсутствие тимина в «общей» ветви тРНК, способность некоторых видов размножаться при 100⁰С и выше.

Ассоциация микроорганизмов (микробоценоз, микробное сообщество) – совокупность популяций разных видов микроор-

ганизмов, обитающих в определенном биотопе. Количественный и качественный состав ассоциации микроорганизмов зависит от условий обитания, от миграционного потока из соседних биотопов, изменчивости микроорганизмов, а также от типа и выраженности внутривидовых взаимоотношений.

Аутэкология (греч. *autos* – сам) – раздел экологии, изучающий действие различных абиотических факторов среды на отдельные популяции и виды живых организмов.

Аэробы – микроорганизмы, нуждающиеся в кислороде для осуществления процесса дыхания. Среди аэробных микроорганизмов выделяют подгруппы: *облигатные аэробы* (используют только кислород как акцептор электронов в дыхании), *микрoаэрофилы* (используют только O₂ как акцептор электронов и требуют при этом пониженной концентрации кислорода в среде), *факультативные аэробы* (могут переходить от дыхания кислородом к анаэробнобиозу).

Аэротаксис – частный случай хемотаксиса. Аттрактантом для аэробных и репеллентом для анаэробных прокариот служит молекулярный кислород.

Ацидофилы – микроорганизмы, обитающие при значениях рН среды от 1 до 4 (горячие вулканические источники, вулканические почвы, терриконы угольных шахт, дренажные воды, рудничные стоки, кислые озера, кислые сфагновые болота, истощенные почвы и т.п.).

Бактериолитическое (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; *lysis* – лизис, разрушение) действие факторов окружающей среды, например, антисептиков, при воздействии которых бактерии лизируются (разрушаются).

Бактериостатическое (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; *stasis* – стояние на месте) действие факторов окружающей среды, например, антибиотиков и антисептиков, при воздействии которых у бактерий останавливается рост, клетки при этом сохраняют жизнеспособность.

Бактерицидное (греч. *bakterion* – палочка, бактерия; лат. *caedere* – убивать) действие факторов окружающей среды, например антибиотиков или антисептиков, при воздействии которых бактерии погибают.

Баротолерантные микроорганизмы – это микроорганизмы, размножающиеся и при обычном атмосферном, и при высоком давлении, при этом их скорость роста не зависит от давления.

Барофильные микроорганизмы – это микроорганизмы, рост которых стимулируется при повышении давления. Снижение давления обуславливает замедленный рост этих микроорганизмов и нарушение процессов деления, что приводит к образованию нитевидных клеток. *Облигатные барофилы* могут расти только при повышенном давлении.

Барочувствительные микроорганизмы – это микроорганизмы, для которых повышение давления приводит к ухудшению параметров роста (снижению урожая и увеличению времени удвоения).

Белки теплового шока (БТШ) – полифункциональная, высоко консервативная в эволюции группа белков, имеющая сравнительно небольшие молекулярные массы. В оптимальных условиях они присутствуют в клетках в небольшом количестве и выполняют разнообразные жизненно важные функции. При тепловом шоке или других стрессовых воздействиях БТШ быстро индуцируются в высоких концентрациях и выполняют защитную функцию разными путями. Белки теплового шока предотвращают денатурацию белков и ренатурируют свернутые белки. Как протеазы, они деградируют денатурированные белки. БТШ защищают хромосомы и особенно транскрипционно-активные участки в молекулах ДНК от повреждения. Синтез белков теплового шока вызывается сублетальным температурным шоком, этанолом в высокой концентрации (4 – 10%), УФ-облучением, обработкой налидиксовой кислотой (ингибитор ДНК-гиразы), вирусной инфекцией.

Вискозитаксис – движение бактерий в сторону увеличения или уменьшения вязкости среды.

Водный потенциал (ψ) – это количество термодинамической работы, которое должно быть затрачено организмом для извлечения воды; ψ измеряется в барах: $1 \text{ бар} = 10^6 \text{ дин}\cdot\text{см}^2 = 0,987 \text{ атм} = 750 \text{ мм рт. ст.}$ Водный потенциал чистой воды равен нулю, по отношению к чистой воде все растворы имеют отрицательные по-

тенциалы, выражаемые в отрицательных барах. Водный потенциал рассчитывают по формуле:

$$\Psi = \frac{1000RT}{W_a} \ln a_w,$$

где R – универсальная газовая постоянная, T – температура (K), W_a – молекулярный вес воды, a_w – активность воды.

Галофильные микроорганизмы (галофилы) – микроорганизмы, которые развиваются при солености, существенно превышающей соленость морской воды – от 5,0 до 15,0% NaCl.

Гемолитические бактерии (гемофильные бактерии) – бактерии, вызывающие гемолиз – разрушение оболочки эритроцитов. В лаборатории выращивают на питательной среде, содержащей кровь теплокровных животных или человека. Гемолиз проявляется в просветлении непрозрачной взвеси эритроцитов («лаковая» кровь), на плотной питательной среде (5-10% кровяной агар) – в виде зон просветления вокруг колоний. Такие бактерии обитают в респираторном тракте человека и животных, условно-патогенны. Могут вызывать пневмонию, бронхит, отит, менингит и др. заболевания. К ним относятся рода *Haemophilus*, *Streptococcus* и др.

Гомеостаз (греч. *homoios* – подобный, одинаковый; *stasis* – неподвижность, состояние) – относительное постоянство состава и свойств внутренней среды организма. Поддержание гомеостаза зависит от способности биологических систем противостоять изменениям внутренней среды и сохранять относительное постоянство ее состава и свойств.

Грамотрицательные бактерии – бактерии, окрашивающиеся по методу Грама (метод дифференцированной окраски клеточных стенок бактерий; результат окрашивания – систематический признак бактерии) в красный цвет. К ним относятся рода *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Spirillum* и многие другие.

Грамположительные бактерии – бактерии, окрашивающиеся по методу Грама в темно-фиолетовый цвет. К ним относятся *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus* и многие другие.

Конкуренция (лат. *concurrere* – сталкиваться) – взаимоотношения между организмами одного или разных видов, сорев-

нующихся за одни и те же ресурсы внешней среды при недостатке последних. Конкуренция может быть пассивной – потребление ресурсов внешней среды, необходимых обоим организмам, или активной – подавление одного организма другим в результате образования определенных продуктов обмена (кислоты, щелочи, антибиотики и т.п.).

Копиотрофы (греч. *copiosus* – изобилие, *trophe* – пища) – бактерии, не только способные расти на богатых питательных средах, но и предпочитающие изобилие пищевых веществ. К копиотрофам относятся бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Proteus* и т.д. Наличие пищевых субстратов в высоких концентрациях – необходимый фактор конкурентоспособности копиотрофов в природе. Копиотрофы развиваются в условиях пищевого потока более $50 \text{ мг } C_{\text{орг}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$.

Лиофилизация – удаление воды из замороженных клеток путем сублимации при низком давлении (в вакууме); при этом вода испаряется без перехода в жидкую фазу. В таком лиофилизированном состоянии чистые культуры бактерий в коллекциях хранятся десятилетиями, если защищены от действия кислорода, влаги, высокой температуры и света.

Магнитотаксис – это способность микроорганизмов перемещаться по силовым линиям магнитного поля Земли или магнита. Магнитотаксисом обладают бактерии, содержащие внутриклеточные включения – магнетосомы, которые представляют собой однодоменные кристаллы магнитного минерала магнетита (Fe_3O_4), окруженные двойной мембраной и определенным образом выстроенные в клетке. Бактерий, способных к магнитотаксису, называют магнитотактическими (магнитными, магнитобактериями, магниточувствительными).

Макроэлементы – 12 химических элементов, содержащихся в организме в концентрации выше 0,001% (O, H, C, N, P, K, Ca, S, Mg, Na, Cl, Fe), преимущественно из них построены органические вещества клеток – нуклеиновые кислоты, белки, жиры, углеводы, витамины, ферменты и пр. Макроэлементы составляют основную массу живого вещества клетки (около 99%), особенно высока концентрация O, H, C, N (98% всех макроэлементов).

Мезофилы (греч. *mesos* – средний, промежуточный, *phileo* – люблю) – большинство известных видов микроорганизмов, у которых оптимальные температуры роста лежат между +30 и +40⁰С, а температурный диапазон, в котором возможен рост, находится между +10 и +45 ... +50⁰С.

Микробоценоз – см. Ассоциация микроорганизмов

Микроэлементы – биогенные элементы, требуются живым организмам в концентрациях от 0,001 до 0,000001% (1,9% массы клетки). К биогенным микроэлементам чаще всего относят Cu, Zn, I, Mn, Co, Mo, Se, Cr, Ni, Si, F, V, W и др. Большинство биологически значимых микроэлементов входят в состав биологически активных веществ – ферментов, витаминов, пигментов и пр.

Миксотрофы – организмы, способные переходить от одного типа питания к другому. В микробиологии под миксотрофией понимается способность организмов использовать одновременно разные источники энергии или синтезировать один и тот же компонент клеток из разных соединений углерода, например, фиксировать по автотрофному пути CO₂ и утилизировать одновременно в биосинтетических процессах органические вещества.

Морские микроорганизмы – это микроорганизмы, которые развиваются при солености, равной 2,5 – 5,0% NaCl. Обнаруживают потребность в ионах Na⁺ и Cl⁻.

Негалофильные (пресноводные) микроорганизмы – это микроорганизмы, которые нуждаются в концентрации NaCl в диапазоне 0,0-4,0%. К ним относятся обитатели пресных вод, чувствительные к 3,5%-ной концентрации NaCl (такая соленость у морской воды).

Нейтрофилы – микроорганизмы, которые предпочитают условия среды с рН от 4 до 9 (сфагновые болота, почвы разных типов, пресные водоемы, моря и океаны).

Олигодинамические вещества (греч. *oligos* – малый, *dinamys* – сила) – соединения, которые оказывают губительное действие в небольших концентрациях. Например, многие антисептики действуют в разбавлении 1 : 10 000 на вегетативные клетки бактерий и 1 : 500 на их споры.

Олиготрофы (греч. *oligos* – малый, *trophe* – пища) – бактерии, существование которых в природе зависит от их способно-

сти размножаться в местах с низким пищевым потоком (менее $1 \text{ мг } C_{\text{орг}} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сутки}^{-1}$); к олиготрофам можно отнести представителей родов *Caulobacter*, *Hyphomicrobium* и др.; термин «олиготрофы» был предложен в 1903 г. М. Бейеринком.

Осмотическое давление – это давление, которое нужно приложить, чтобы воспрепятствовать движению молекул растворителя в раствор при разделении их полупроницаемой перегородкой. В качестве полупроницаемой перегородки у бактерий служит ЦПМ, через которую вода свободно проходит по градиенту концентрации солей.

Осмотическое давление выражают в единицах осмолярности. *Осмолярным* называют раствор, содержащий один осмоль вещества в 1 л растворителя. Если растворенное вещество – электролит, то его осмолярность зависит от степени диссоциации. Осмолярность цитоплазмы клеток прокариот всегда выше осмолярности окружающего клетку раствора. Этим обеспечивается *осмотолерантность* бактерий (способность развиваться в средах с широко варьирующей осмолярностью).

Питательные среды бактериологические – жидкие, полужидкие или плотные субстраты, используемые для выращивания микроорганизмов в лабораторных и производственных условиях. Используют для выделения чистых культур бактерий из биогенных и абиогенных объектов; для определения культуральных и ферментативных свойств; а также устойчивости к химическим, физическим и биологическим факторам; для накопления микробной биомассы и продуктов биосинтеза; для хранения музейных культур. Питательные среды должны содержать в достаточном количестве неорганические соли, воду, источники углерода, азота, серы, в ряде случаев – ростовые факторы; питательные среды должны быть стерильными; иметь оптимальное значение pH и окислительно-восстановительного потенциала.

Плазмиды – внехромосомные кольцевые молекулы ДНК различной молекулярной массы, обладающие свойствами *репликона* – способностью к независимой репликации. Плазмиды – не обязательный генетический материал бактерий, необходимый для проявления ее жизнедеятельности. Они выявлены у 50% бактерий родов *Enterobacter* и *Pseudomonas*, у 10% бактерий рода *Ba-*

cillus. В то же время плазмиды могут определять весьма сложные свойства бактерий. Например: 1) способность к передаче генетического материала от донорских F⁺-клеток к реципиентным F⁻ клеткам при конъюгации (F-плазида); 2) устойчивость к антибиотикам, сульфаниламидным препаратам (R-плазмиды); 3) способность к синтезу токсинов (*Ent*-плазида); 4) способность использовать нафталин, камфору, октан и др. соединения; 5) образование фимбрий, которыми энтеробактерии прикрепляются к кишечному эпителию и др.

Покоящиеся формы (ПФ) бактерий – особые формы бактериальных клеток (эндоспоры, экзоспоры, цисты, акинеты и т.п.), назначение которых состоит в обеспечении переживания вида в течение длительного времени в неблагоприятных условиях, связанных с голоданием, действием неоптимальных температур и целого ряда других неблагоприятных для роста биотических и абиотических факторов. У ПФ микроорганизмов отсутствуют рост и размножение, они не выделяют токсинов, экзоферментов и других веществ.

Преадаптация (от лат. *prae* – впереди, вперед; *adaptation* – приспособление, прилаживание) – свойство организма, имеющее приспособительную ценность для еще не осуществленных форм взаимодействия со средой.

Психрофилы (греч. *psychria* – холод, *phileo* – люблю) растут в диапазоне от -10 до +20 °С и выше с оптимумом +15 °С, могут существовать только в местах с постоянно низкой температурой (подземные и обледенелые пещеры, глубинные слои морей и океанов). Растут при низкой температуре могут также организмы, получившие название *психроактивных*. По сути, такие бактерии являются эвритермными, обладающими достаточной активностью при низких температурах (от 0 до + 10 °С). Растут при 0 °С, оптимум при этом около +25 ... +30 °С, максимальная температура – (+30 °С). Психроактивные бактерии – обитатели почв, болот и т.п. умеренной зоны и обладают адаптацией к жизни в широком диапазоне температур.

Резистентность (от англ. *resistance* – сопротивление, противодействие) – состояние устойчивости организма к повреждающим факторам внешней среды различной природы: механиче-

ским, физическим, химическим. Для обозначения резистентности к биологическим факторам введен специальный термин – невосприимчивость.

Сапротрофы (греч. *sapros* – гнилой, *trophe* – пища, питание) – бактерии (а также грибы и простейшие), которые питаются мертвыми растениями, животными и их органическими остатками. Сапротрофы широко представлены в поверхностном слое почвы, в водоемах; на покровах растений, животных и человека. Выполняют функцию самоочищения воды и почвы, минерализуя органические вещества.

Сидерофоры – низкомолекулярные водорастворимые органические соединения, связывающие Fe^{3+} координационными связями с высокой специфичностью и высоким сродством (константа устойчивости порядка 10^{30}).

Синтрофия (греч. *syn* – вместе, *trophe* – пища, питание) – способность двух или более видов бактерий осуществлять такой процесс, который ни один из них не может осуществлять по отдельности. Синтрофия является частным случаем симбиотических взаимоотношений между бактериями. Основой таких взаимоотношений может быть передача фактора роста; образование одним организмом субстрата, обеспечивающего развитие другого; удаление одним организмом продукта, токсичного для другого и т.п. Несколько механизмов синтрофии могут действовать одновременно.

Специализация (от лат. *specialis* – особый) – развитие особых черт, обеспечивающих приспособление организма к данным конкретным условиям существования.

Таксис (гр. *taxis* – расположение) – двигательная реакция в ответ на односторонне действующий стимул. Таксисы, как правило, носят адаптивное значение для прокариот и позволяют им выживать в постоянно меняющихся условиях среды обитания. В зависимости от фактора различают хемотаксис (частный случай – аэротаксис), фототаксис, магнитотаксис, термотаксис и вискозитаксис.

Термотаксис – движение бактерий в сторону с повышенной или пониженной температурой окружающей среды.

Термофилы (термофильные бактерии) – группа микроорганизмов, нижняя граница роста которых выше 45°C . Оптимальная зона роста термофилов равна $45 - 50^{\circ}\text{C}$, но они могут размножаться и при более низких температурах (до 30°C). Среди термофилов выделяют несколько групп: 1) облигатные термофилы, имеющие температурный оптимум $65 - 70^{\circ}\text{C}$ и минимум выше $40 - 42^{\circ}\text{C}$; 2) факультативные термофилы с температурным максимумом $50 - 65^{\circ}\text{C}$ и минимумом менее 20°C ; 3) термотолерантные бактерии с температурным максимумом $45 - 50^{\circ}\text{C}$; 4) экстремальные термофилы или гипертермофилы – бактерии с температурным оптимумом выше 70°C .

Ультрамикрорезлементы – биогенные элементы (например, Au, U, Ra и др.), которые входят в состав клеток живых организмов в концентрации, не превышающей $0,000001\%$. Роль большинства элементов этой группы до сих пор не выяснена.

Факторы роста бактерий – органические соединения, которые не синтезируются бактериями, но без которых жизнь клетки оказывается не возможна (аминокислоты, пурины, пиримидины, витамины и др.). Эти соединения прокариоты должны получать из среды. Бактерии, нуждающиеся в каком-либо факторе роста, называются *ауксотрофными* по отношению к этому соединению, в отличие от *прототрофных*, способных синтезировать данное вещество в клетке.

Фототаксис – двигательная реакция бактерий на изменение спектрального состава света или освещенности. У эубактерий фоторецепторами служат бактериохлорофиллы и каротиноиды, т.е. те же пигменты, которые поглощают свет в процессе фотосинтеза. У архебактерий обнаружены специальные сенсорные пигменты (например родопсин у галобактерий). Бактериальные клетки, способные к фототаксису, резко изменяют направление движения, если попадают из более освещенного участка в менее освещенный или в совсем не освещенный. В результате бактерии двигаются к свету – это положительный фототаксис. В некоторых условиях наблюдается отрицательный фототаксис – движение в сторону уменьшения освещенности. Подобные реакции определяют как фотофобные.

Чистая культура – совокупность микроорганизмов одного вида или варианта, полученная из одного образца материала и содержащаяся в определенном объеме воды (например, в пробирке, колбе и т.д.). Чистая культура из колонии обладает высокой однородностью свойств, поскольку она обычно происходит из одной особи.

Штаммом бактерий в микробиологии называется низшая инфраподвидовая систематическая категория, обозначающая идентифицированную чистую культуру какого-либо вида, подвида, варианта, выделенную из того или иного источника (организма, внешней среды). Штамм может отличаться от других штаммов этого вида одним или несколькими признаками, в том числе источником выделения. Обозначают штаммы произвольно: по месту выделения, порядковому номеру регистрации, отличительному признаку и др. Штаммы, имеющие особое значение для народнохозяйственных или научных целей, сохраняют в государственных коллекциях, на них выдаются авторские свидетельства.

Хемотаксис – способность прокариот к направленному движению в сторону увеличения или уменьшения концентрации определенных химических веществ. Те или иные соединения могут вызывать или не вызывать таксис у данной бактерии. В этом случае говорят об эффекторах, среди которых различают две группы: аттрактанты и репелленты. Аттрактанты – вещества, привлекающие бактерий, репелленты – отпугивающие их. Аттрактантами для бактерий могут быть сахара, аминокислоты, витамины, нуклеотиды и т.д.; репеллентами – некоторые аминокислоты, спирты, фенолы, неорганические ионы.

Экосистема (греч. *oikos* – жилище, местообитание; *systema* – сочетание, объединение) – совокупность совместно обитающих организмов и условий их существования, находящихся в закономерной связи друг с другом и образующих систему взаимообусловленных биотических и абиотических явлений и процессов.

Понятие экосистема применимо к объектам разной сложности и размеров. Можно выделить экосистему озера, пруда, леса, но может быть экосистема рубца жвачного животного, кишечного тракта дождевого червя или ризосферы растения. В экосисте-

му входят сообщество организмов или биоценоз и физико-химические условия его обитания.

Под «окружающими условиями» обычно понимают как биотические, так и абиотические компоненты экосистемы.

Экстремальные галофилы – это микроорганизмы, которые развиваются вплоть до насыщения воды NaCl при 30,0 %-ной солености. Диапазон солености, при которой живут – от 12-15 до 32% NaCl, т.е. способны обитать в условиях физиологической сухости среды.

Эубактерии (истинные бактерии) – царство бактерий, к нему относятся все известные ныне бактерии, кроме архебактерий, которые выделены в отдельное царство. Имеют типичное для прокариот строение, клеточная стенка содержит пептидогликан, по строению клеточной стенки делятся на грамположительных и грамотрицательных, есть грамвариабельные виды. Авто- и гетеротрофы. Размножаются главным образом бинарным делением. Встречаются повсеместно – в почве, в пресных и соленых водоемах, в донных отложениях, в воздухе, на покровах тела и внутри всех известных организмов.

Эффект Арндт-Шульца – аккумуляция яда в не летальных концентрациях на поверхности клетки изменяет проницаемость мембраны, нарушает ее барьерные функции, что определяет свободное поступление пищи в клетку и возрастание скорости метаболических реакций.

Список использованной литературы

1. Бекасова, О.Д. Аккумуляция кадмия, титана и алюминия цианобактерией *Nostoc muscorum* / О.Д. Бекасова, В.К. Орлеанский, В.В. Никандров // Микробиология. – 1999. – Т. 68. № 6. – С. 851-859.
2. Брюханов, А.Л. Каталаза и супероксиддисмутаза в клетках строго анаэробных микроорганизмов / А.Л. Брюханов, Р.Л. Тауэр, А.И. Нетрусов // Микробиология. – 2002. – Т. 71. № 3. – С. 330-385.
3. Воробьева, Л.И. Реактивация инактивированных ультрафиолетовым светом *Escherichia coli* клеточными экстрактами пропионово-кислых бактерий / Л.И. Воробьева, Г.В. Никитенко, Е.Ю. Ходжаев, Г.М. Пономарева // Микробиология. – 1993. – Т. 62. Вып. 6. – С. 1135-1143.
4. Готшалк, Г. Метаболизм бактерий / Г. Готшалк. – М.: Мир, 1982. – 310 с.
5. Гриневич, А.Г. Техническая микробиология / А.Г. Гриневич, А.М. Босенко. – Минск: Высшая школа, 1986. – 168 с.
6. Громов, Б.В. Экология бактерий / Б.В. Громов, Г.В. Павленко. – Л.: ЛГУ, 1989. – 248 с.
7. Гусев, М.В. Микробиология / М.В. Гусев, Л.А. Минеева. – М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.
8. Вайнштейн, М.Б. Сульфатвосстанавливающая бактерия из вечной мерзлоты / М.Б. Вайнштейн, Г.И. Гоготова, Х. Хиппе // Микробиология. 1995. – Т. 64. № 4. – С. 514-518.
9. Демкина, Е.В. Образование покоящихся форм *Arthrobacter globiformis* в автолизирующих суспензиях / Е.В. Демкина, В.С. Соина, Г.И. Эль-Регистан // Микробиология. – 2000. – Т. 69. № 3. – С.383-388.
10. Дорошенко, Е.В. Биоразнообразие покоящихся форм микроорганизмов / Е.В. Дорошенко, Н.Г. Лойко, А.Л. Мулюкин // Горизонты физ.-хим. биол.: Шк.-конф. – Пущино. 2000. – Т. 1. – С. 195-196.

11. Дорошенко, Е.А. Прорастание спор и рост мицелия стрептомицетов при разных уровнях влажности / Е.А. Дорошенко, Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев, И.И. Судницын // Микробиология. – 2005. – Т. 74. № 6. – С. 795-799.
12. Емцев, В.Т. Микробиология / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Дрофа, 2005. – 445 с.
13. Ермилова, Е.В. Подвижность и поведение микроорганизмов. Т. 1. Прокариоты / Е.В. Ермилова, Ж.М. Залуцкая, Т.В. Лапина. – СПб: Изд-во С.-Пб. ун-та, 2004. – 192 с.
14. Жилина, Т.Н. *Ruminococcus palustris* nov. sp. – психроактивный анаэробный организм из болота / Т.Н. Жилина, О.Р. Коцюрбенко, Г.А. Осипов, Н.А. Кострикина, Г.А. Заварзин // Микробиология. – 1995. – Т. 64. № 5. – С. 674-680.
15. Жизнь микробов в экстремальных условиях / под ред. Д. Кашнера. – М.: Мир, 1981. – 519 с.
16. Заварзин, Г.А. Введение в природоведческую микробиологию / Г.А. Заварзин, Н.Н. Колотилова. – М.: Книжный дом «Университет», 2001. – 256 с.
17. Звягинцев, Д.Г. Биология почв / Д.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
18. Иванов, А.Ю. Устойчивость некоторых штаммов бактерий рода *Pseudomonas* к повреждающему действию ионов тяжелых металлов / А.Ю. Иванов, А.В. Гаврюшкин, Т.В. Сиунова, Л.А. Хасанова, З.М. Хасанова // Микробиология. – 1999. – Т. 68. № 3. – С. 366-374.
19. Ившина, И.Б. Бактерии рода *Rhodococcus* : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Пермь, 1997. – 98 с.
20. Комарова, Т.И. Роль низкомолекулярных азотистых соединений в осмотолерантности бактерий родов *Rhodococcus* и *Arthrobacter* / Т.И. Комарова, Т.В. Коронелли, Е.А. Тимохина // Микробиология. – 2002. – Т. 71. № 2. – С. 166-170.
21. Копылов, В.М. Гамма-устойчивость и ультрафиолетовая чувствительность экстремально-термофильных архебактерий и эубактерий / В.М. Копылов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.А. Светличный, М.Л. Мирошниченко, В.С. Скобкин // Микробиология. – 1993. – Т. 62. Вып. 1. – С. 90-95.

22. Красильников, А.П. Микробиологический словарь-справочник / А.П. Красильников, Т.Р. Романовская. – Минск: «Асар», 1999. – 400 с.

23. Лысак, Л.В. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий / Л.В. Лысак, Т.Г. Добровольская, И.Н. Скворцова. – М.: МАКС-Пресс, 2003. – 120 с.

24. Люй, Х. Влияние теплового шока на рост, морфологию и образование антибиотиков стрептомицетами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Москва, 1999. – 24 с.

25. Маянский, А.Н. Микробиология для врачей / Маянский А.Н. – Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской гос. мед. академии, – 1999. – 400 с.

26. Мирошниченко, М.Л. Термофильные микробные сообщества глубоководных гидротерм / Маянский А.Н. // Микробиология. – 2004. – Т. 73. № 1. – С. 5-18.

27. Никитин, Д.И. Высокая устойчивость к ионизирующей радиации некоторых олиготрофных бактерий / Д.И. Никитин, М.А. Таштемирова, И.А. Питрюк, В.В. Сорокин, М.С. Оранская, Л.Е. Никитин // Микробиология. – 1993. – Т. 62. Вып. 6. – С. 1064-1071.

28. Никитин, Д.И. Современные представления о бактериальной олиготрофии / Д.И. Никитин // Труды Всероссийской конференции «Перспективы развития почвенной биологии». – М.: МАКС Пресс, 2001. – С. 73-76.

29. Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. – М.: Мир, 1997.

30. Прозоров, А.А. Рекомбиногенные перестройки генома бактерий и адаптация к среде обитания / А.А. Прозоров // Микробиология. – 2001. – Т. 70. № 5. – С. 581-594.

31. Романовская, В.А. Чувствительность к стрессовым факторам почвенных бактерий, изолированных из зоны отчуждения Чернобыльской АЭС / В.А. Романовская, П.В. Рокитко, Ю.Р. Малашенко, Т.П. Криштаб, Н.А. Черная // Микробиология. – 1999. – Т. 68. № 4. – С. 534-539.

32. Романовская, В.А. Влияние γ -излучения и дегидратации на выживаемость бактерий, изолированных из зоны отчуждения

Чернобыльской АЭС / В.А. Романовская, П.В. Рокитко, А.Н. Михеев, Н.И. Гуща, Ю.Р. Малашенко, Н.А. Черная // Микробиология. – 2002. – Т. 71. № 5. – С. 705-712.

33. Современная микробиология. Прокариоты : в 2 т. / под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. – М.: Мир, 2005.

34. Трушин, М.В. Влияние красного и инфракрасного излучения на рост клеток *Escherichia coli* и продукцию рекомбинантного белка барстара / М.В. Трушин // Микробиология. – 2002. – Т. 71. № 4. – С. 452-454.

35. Шигаева, М.Х. Действие физических и химических факторов на микроорганизмы / М.Х. Шигаева. – Алма-Ата: Изд-во КазГУ, 1980. – 56 с.

36. Экология микроорганизмов / под ред. А.И. Нетрусова. М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 272 с.

37. Castenholz, R.W. Strategies of UV resistance and tolerance in cyanobacteria // Program and Abstr. 10th Int. Symp. Phototroph. Prokaryotes. Barcelona. 2000. P. 51.

38. Dos Santos, W.G., Pacheco, I., Liu, M.-Y., Teixeira, M., Xavier, A.V., LeGall J. Purification and characterization of an iron superoxide dismutase and catalase from the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio gigas* // J. Bacteriol. 2000. V. 182. № 3. P. 796-804.

39. DeLong, E. Archaeal means and extremes // Science. 1998. V. 280. № 5372. P. 542-543.

40. Fernando, C., Julian, D. Horizontal gene transfer and the origin of species: Lessons from bacteria // Trends Microbiol. 2000. V. 8. № 3. С. 128-133.

41. Gregory, E.M., Moore, W.E.C., Holdeman, L.V. Superoxide dismutase in anaerobes: survey // Appl. Environ. Microbiol. 1978. V. 35. № 5. P. 553-557.

42. Hewitt, J., Morris, J.G. Superoxide dismutase in some obligately anaerobic bacteria // FEBS Lett. 1975. V. 50. № 3. P. 315-318.

43. Malik, A., Jaiswal, R. Metal resistance in *Pseudomonas* strains isolated from soil treated with industrial wastewater // World J. Microbiol. and Biotechnol. 2000. V. 16. № 2. 3. 177-182.

44. Privalle, C.T., Gregory, E.M. Superoxide dismutase and O₂ lethality in *Bacteroides fragilis* // J. Bacteriol. 1979. V. 138. № 1. P. 139-145.

45. Rothschild, L.J., Mancinelli, R.L. Life in extreme environments // Nature. 2001. V. 409. № 6823. P. 1092-1101.

46. Stetter, K.O. Extremophiles and their adaptation to hot environments // FEBS Lett. 1999. V. 452. № 1-2. P. 22-25.

47. Wall, L.D., Rapp-Giles, B.J., Brown, M.F., White, J.A. Response of *Desulfovibrio dssulfuricans* colonies to oxygen stress // Can. J. Microbiol. 1990. V. 36. № 3. P. 400-408.

Учебное издание

Пухова Наталия Юрьевна

**Экологическая
физиология
микроорганизмов**

Часть 2.

Аутэкология микроорганизмов

Учебное пособие

Редактор, корректор А.А. Аладьева
Компьютерная верстка И.Н. Ивановой

Подписано в печать 26.06.2006 г. Формат 60x84/16. Бумага тип.

Усл. печ. л. 7,44. Уч.-изд. л. 5,02. Тираж 100 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен в редакционно-издательском отделе ЯрГУ.

Ярославский государственный университет.

150000 Ярославль, ул. Советская, 14.

Отпечатано
ООО «Ремдер» ЛР ИД № 06151 от 26.10.2001.
г. Ярославль, пр. Октября, 94, оф. 37
тел. (4852) 73-35-03, 58-03-48, факс 58-03-49.