

Министерство образования и науки Российской Федерации

Ивановский государственный химико-технологический университет

## **ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ**

Учебное пособие

Иваново 2016

УДК 519.22+658.56

Царев Ю.В. Основы микробиологии / Ю.В. Царев, А.Н. Тростин, С.А. Царева; Иван. гос. хим. - технол. ун-т. - Иваново, 2016.- 135 с.

Учебное пособие предназначено студентам вузов, специализирующимся в различных технологиях защиты окружающей среды. В пособии рассматриваются вопросы дисциплины «Основы микробиологии». Рассмотрено строение микроорганизмов, их систематика и основные свойства. Главное внимание уделено прокариотам; из числа эукариотных организмов дана характеристика водорослей, простейших и микромицетов. В пособии изложены основные положения генетики микроорганизмов, преимущественно бактерий, закономерности их взаимодействия с факторами окружающей среды, различные типы питания, общие закономерности обменных реакций у микроорганизмов. Конкретные микробиологические процессы превращения веществ и их возбудители рассматриваются в качестве звеньев круговоротов биогенных элементов в природе. В пособии приведен лабораторный практикум по дисциплине «Основы микробиологии».

Предназначено для бакалавров направления 18.03.02 «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии», профиля «Защита окружающей среды и промышленная экология».

Табл. 4; Ил. 26; Библиогр.: 20 назв.

Печатается по решению редакционно-издательского совета Ивановского государственного химико-технологического университета

Рецензенты: Кафедра Инфекционных и паразитарных болезней Ивановской государственной сельскохозяйственной академии им. Д.К. Беляева; кандидат ветеринарных наук Шишкарев С.А. (Ивановская государственная сельскохозяйственная академия).

© Царев Ю.В., Тростин А.Н., Царева С.А.

© ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический университет», 2016

## ВВЕДЕНИЕ

Микроорганизмам, или микробам,— этим бесконечно малым живым существам, по словам Луи Пастера, принадлежит бесконечно большая роль в природе и жизни человека. Торф, каменный уголь, нефть, горючий газ — вот *далеко* не полный перечень полезных ископаемых, в образовании которых в недрах Земли принимают участие микроорганизмы. Жизнедеятельность этих существ обуславливает плодородие почв и лежит в основе сложного явления самоочищения, протекающего в природных водоемах. Но, пожалуй, самая важная их функция — участие в круговороте веществ, непрерывно совершающемся в природе и обеспечивающемся жизнь на Земле.

Благодаря способности усваивать разнообразнейшие вещества, чрезвычайно быстро размножаться и легко приспосабливаться к окружающим условиям, микроорганизмы широко распространены в почве, водной среде, атмосфере. Микробы не имеют себе равных и по интенсивности биохимической деятельности. Например, за сутки бактериальная клетка способна переработать количество пищи, в 30— 40 раз превышающее ее собственную массу. Именно этими свойствами микробов и объясняется та исключительно важная роль, которую они играют в жизни нашей планеты.

Область практического применения микроорганизмов в народном хозяйстве чрезвычайно широка. Достаточно напомнить об использовании их в промышленном производстве антибиотиков, стероидных препаратов, ряда витаминов, различных продуктов брожения, кормового белка, ферментов, бактериальных удобрений и т. д.

Одним из самых распространенных современных методов обработки сточных *вод* является метод биологической *очистки*. Активный ил, благодаря которому осуществляется процесс очистки воды, представляет собой сложное сообщество разнообразных микроорганизмов. Метод биологической очистки практически универсален и позволяет обрабатывать

стоки самого различного характера, что связано со способностью бионаселения активного ила использовать органические загрязнения сточных вод в качестве источников питания и энергии.

Однако микроорганизмы могут приносить и неисчислимый вред. Патогенные (болезнетворные) микробы вызывают различные заболевания человека, животных и растений. Жизнедеятельностью микробов-вредителей объясняется порча пищевых продуктов, разрушение строительных конструкций (за счет микробиологической коррозии металла и бетона), закупорка трубопроводов и т. д.

Управлять микробиологическими процессами, в том числе процессами очистки воды, направлять их в нужное русло, усиливать и интенсифицировать полезную деятельность микроорганизмов и ликвидировать их вредные воздействия немислимо без знания основ микробиологии.

Микробиология (от греч. «**micros**» — малый, «**bios**» — жизнь, «**logos**» — учение) — часть общей науки биологии; она изучает внешнюю форму, внутреннее строение, закономерность *роста и развития, жизнедеятельность* мельчайших организмов — микробов.

Основная заслуга в открытии микроорганизмов принадлежит голландскому натуралисту А. Левенгуку (1632— 1723). Он искусно изготовлял маленькие, но очень мощные линзы, через которые рассматривал самые разнообразные предметы: пробку, воду, слюну, листья растений. Во многих веществах он обнаружил живые существа, которые назвал «зверьками». Это и были микроорганизмы. Однако во времена Левенгука микробиология еще не оформилась как наука. Наблюдения, проводимые отдельными исследователями, носили чисто описательный характер.

Становление микробиологии как науки связано с именем великого французского ученого Л. Пастера (1822—1895). Пастер научно опроверг теорию самопроизвольного зарождения и доказал микробиальную природу брожения. Им открыты микроорганизмы — возбудители болезней вина и

пива и предложен метод борьбы с ними, получивший впоследствии название "пастеризации". Пастер высказал предположение, что и многие болезни человека вызваны микроорганизмами. Он же доказал, что такие болезни можно предотвратить путем введения в организм ослабленной культуры бактерий. Пастер впервые изготовил вакцины против сибирской язвы и бешенства. Родоначальником русской микробиологии по праву считается Л.С. Ценковский (1822—1887). Исследования Ценковского, по словам современников, постепенно приподняли перед глазами науки завесу чудесного мира микроорганизмов.

Значительный вклад в микробиологию внес немецкий ученый Р. Кох (1843—1910). Он ввел в практику плотные питательные среды для выращивания чистых культур бактерий, что дало возможность изучить особенности жизнедеятельности различных видов микроорганизмов.

Методы и принципы, разработанные в лабораториях Пастера, Ценковского, Коха и других ученых, заложили основы микробиологии. Ее дальнейшее развитие неразрывно связано с исследованиями русских ученых-микробиологов. Одним из крупнейших исследователей по праву считается И.И. Мечников (1845—1916), открывший явление фагоцитоза (поглощение болезнетворных микробов лейкоцитами крови) и разработавший фагоцитарную теорию иммунитета. Ближайшим соратником И.И. Мечникова был Н.Ф. Гамалея (1859—1949), занимавшийся изучением изменчивости бактерий, вопросами профилактики инфекционных заболеваний. Он участвовал в создании первой в России пастеровской станции в Одессе.

Исследования Д.К. Заболотного (1866—1920), изучавшего эпидемиологию чумы и холеры, составили **научную** основу санитарно-гигиенических, профилактических и лечебных мероприятий по борьбе с инфекционными заболеваниями.

С.Н. Виноградский (1856—1953) внес большой вклад в развитие почвенной микробиологии, открыв явление фиксации атмосферного азота некоторыми видами бактерий. Изучая процесс нитрификации, он доказал

возможность усвоения бактериями углекислого газа без участия хлорофилла и без потребления солнечной энергии. Вместе с С.Н. Виноградским работал его ученик и соратник В.Л. Омелянский — создатель первого русского учебника «Основы микробиологии» (1909).

Одним из важнейших достижений биологии конца XIX в. было открытие Д.И. Ивановским вирусов. Изучая мозаичную болезнь табака, он нашел, что возбудителем ее являются организмы, невидимые при максимальных по тому времени увеличениях микроскопа. Эти микробы не росли на средах, не содержащих живых клеток, и проходили через самые мелкие бактериальные фильтры. Вирусы стали величайшей загадкой XX века. Увидеть вирусы удалось только после создания электронного микроскопа.

Большой вклад в развитие технической микробиологии внесли работы С.П. Костычева, А.И. Лебедева, В.Н. Шапошникова, В.С. Буткевича.

Современная микробиология развивается в нескольких направлениях. Сообразно практическим потребностям человека из нее выделился ряд самостоятельных дисциплин — таких, как санитарная и медицинская микробиология, а также промышленная, сельскохозяйственная, водная, космическая.

С позиции подготовки специалистов в области очистки природных и сточных вод наибольший интерес представляют водная и санитарная микробиология. Водная микробиология изучает обитателей природных водоемов, роль микроорганизмов в пищевых цепях и круговороте веществ в Мировом океане. В задачу этой дисциплины входит также изучение микронаселения питьевых и сточных вод и его роль в процессах очистки воды. Санитарная микробиология исследует микрофлору и микрофауну воды, почвы, воздуха, пищевых продуктов и т.д. с точки зрения их опасности для здоровья человека и соответствия гигиеническим требованиям.

Как водная, так и санитарная микробиология базируются на знании морфологии и основных закономерностей развития и жизнедеятельности

микроорганизмов, т.е. на знании основ общей микробиологии. В соответствии с этим в лекциях, помимо основных вопросов водной и санитарной микробиологии, изложены основы морфологии и физиологии микроорганизмов. Кроме того, дано краткое описание некоторых обитателей водной среды и почвы, не относящихся к микробам, но имеющих важное значение в самоочищении природных водоемов и биохимических процессах очистки воды и обеспечивающих разложение и минерализацию органических веществ.

Материал учебного пособия составлен с учетом знания основ общей биологии, поэтому в нем не рассматривается строение животной и растительной клеток, употребляются без пояснения некоторые термины.

## **1. ОСНОВЫ ОБЩЕЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

Микромир объединяет организмы, относящиеся к различным систематическим группам. Это бактерии, простейшие, водоросли, грибы, риккетсии, вирусы. Каждая систематическая группа в свою очередь представлена микроорганизмами, достаточно разнообразными по строению и способам существования. Однако в основе этого удивительного многообразия микромира лежит принцип биохимического единства жизни, сформулированный А.Клюйвером и К. ван Нилем. Этот принцип утверждает, что для всех живых организмов характерны единый механизм передачи наследственной информации, единство энергетических процессов и процессов синтеза клеточного вещества. Это значит, что несмотря на сложность и разнообразие биохимических процессов в клетках различных микроорганизмов, все они могут быть представлены цепью элементарных реакций нескольких типов.

### **1.1. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МИКРООРГАНИЗМАХ**

#### **1.1.1. Положение микроорганизмов в системе живого мира. Принципы их систематики**

Еще на ранних этапах развития биологии мир живых организмов ученые делили на два царства: царство растений и царство животных. Принадлежность к тому или другому легко определялась по ряду структурных и функциональных признаков. С открытием микроорганизмов делались попытки распределить их между этими царствами. Основой для определения принадлежности микробов к животным или растительным организмам служили два признака: подвижность и способность к фотосинтезу. Однако постепенное накопление знаний о микроорганизмах, их чрезвычайном разнообразии сделало затруднительным и часто нелогичным отнесение некоторых видов к определенному царству. Оказалось, что клетки одних микробов по своей структуре напоминают клетки животных, у других они сходны с растительными, третьи могут сочетать признаки тех и других клеток или существенно отличаться от них.

В 1866 г. немецкий биолог Э. Геккель предложил выделить микроорганизмы в третье царство живой природы и дал ему название «царство протистов». Основу строения клеток всех протистов, как и клеток высших животных и растений, составляют цитоплазма и ядро.

Однако развитие электронной микроскопии и совершенствование методов приготовления биохимических препаратов позволили выявить принципиально важные отличия во внутренней структуре клеток протистов. Оказалось, что несмотря на общность структурной, биохимической и физиологической организации, присущую всем живым организмам, царство протистов четко делится на две группы.

Первую составляют высшие протисты — эукариоты, клетки которых по своему строению сходны с клетками высших животных и растений. Важнейшие отличительные особенности эукариотической клетки — структурная организация ядра и способ его деления. Клетки эукариот имеют обособленное ядро, отделенное от цитоплазмы мембраной. Наследственная информация заключена в хромосомах, содержащих дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) и белки особого типа. Деление ядра при размножении клеток происходит в результате сложного процесса — митоза. Из микроорганизмов к эукариотам относятся простейшие, грибы, водоросли (кроме сине-зелёных).

Вторая группа объединяет низших протистов, называемых прокариотами (доядерными). В клетках прокариот сформированное ядро отсутствует, но есть ядроподобные образования — нуклеоиды (от лат. «nucleus» — ядро). По сравнению с ядрами клеток эукариот нуклеоиды имеют более простое строение и не отделены от цитоплазмы оболочкой. Наследственную информацию несет одна хромосома, представляющая собой длинную молекулу ДНК.

Таким образом, граница, разделяющая все клеточные формы жизни на две группы, соответствующие двум типам клеточной организации, проходит через царство протистов. Наука о распределении живых организмов по отдельным группам- таксонам называется систематикой. Классификация и

номенклатура — две основные области систематики. Задачей классификации является объединение живых организмов, обладающих общими признаками и свойствами, в определенный таксон.

Основная единица в систематике живых организмов — вид. Под видом подразумевают совокупность организмов, имеющих общее происхождение, характеризующихся общими морфологическими и физиологическими признаками и приспособленными к существованию в определенных условиях внешней среды. Виды объединяют в таксоны более высокого ранга — роды. Роды в свою очередь группируют в семейства, семейства — в порядки (или отряды в царстве животных), порядки — в классы и т. д. Высшим уровнем таксономической иерархии является царство.

Номенклатура как отрасль систематики обеспечивает единство и стабильность названий отдельных таксонов и организмов, принадлежащих к ним. Для наименования вида принята бинарная номенклатура, предложенная К. Линнеем в XVIII в. Видовое название складывается из двух слов. Первое обозначает род и пишется с прописной буквы, второе — вид, к которому принадлежит организм,— пишется со строчной буквы.

### **1.1.2. Особенности микроорганизмов**

Отличительные признаки микроорганизмов — ничтожно малые размеры и простота биологической организации. Величина микробов измеряется микро- или нанометрами ( $1 \text{ мм} = 10^3 \text{ мкм} = 10^6 \text{ нм}$ ) и колеблется в значительном интервале для организмов разных систематических групп.

К микроорганизмам обычно относят все живые объекты, величина которых лежит за пределами видимости невооруженным глазом, т. е. не превышает 80—100 мкм. Однако среди них есть и исключения. Так, длина клетки спирохет может достигать 500 мкм, а некоторых грибов — даже нескольких миллиметров. Большинство же даже самых крупных представителей микромира по величине не превышает 100 мкм. Мельчайшие микроорганизмы (ультрамикробы) имеют размеры 0,016—0,26 мкм.

Линейные размеры большинства бактерий лежат в пределах 0,5—3 мкм, хотя самые мелкие из них — микоплазмы — по величине близки к вирусам (0,12—0,15 мкм), а самые крупные, например, клетки некоторых нитчатых бактерий, достигают в длину 50—55 мкм. Малые размеры микроорганизмов обуславливают целый ряд особенностей в их строении и процессах жизнедеятельности.

Большинство протистов — одноклеточные организмы, в силу чего в их строении и функциях сочетаются и клеточные, и организменные черты.

В одноклеточном организме специализированные части клетки, называемые органеллами, выполняют роль определенных органов. Например, реснички у инфузорий, жгутики у бактерий являются органами движения. С другой стороны, такие органеллы, как ядро, рибосомы, митохондрии, по своим функциям аналогичны соответствующим органоидам клеток высших растений и животных.

При сравнении строения клеток микроорганизмов различных систематических групп, как правило, оказывается, что чем крупнее микробы, тем более сложно организована их клетка. Это связано с тем, что в малых клетках необходимые для жизни продукты обмена достаточно быстро попадают в любую ее часть благодаря процессу диффузии. В крупных клетках диффузия не обеспечивает быстрого перераспределения веществ между отдельными частями клетки, поэтому в них появляются специализированные структуры, выполняющие определенные функции.

Чрезвычайно малые размеры микроорганизмов определяют большую величину отношения площади поверхности их клетки к объему. Если представить, что клетка имеет форму правильного шара с радиусом 1 мкм, то объем  $24 \cdot 10^6$  клеток составит только  $1 \text{ см}^3$ , а их суммарная поверхность окажется равной примерно  $3 \text{ м}^2$ . Это объясняет одну из важнейших особенностей микроорганизмов — высокую интенсивность обменных процессов с окружающей средой и внутри клетки.

При увеличении размеров клетки ее объем  $V$  растет быстрее, чем

поверхность  $S$ , и, соответственно, снижается  $S/V$ .

Малые размеры, а следовательно, и малая масса микробов имеют экологическое значение: именно благодаря этому микроорганизмы легко переносятся потоками воздуха, насекомыми и птицами на значительные расстояния. В результате в биосфере практически не существует мест, которые не были бы заселены теми или иными видами микробов.

Еще одна важная особенность микроорганизмов — их способность приспосабливаться к изменяющимся условиям окружающей среды. Исключительная пластичность обменных процессов позволяет микробам с большей или меньшей легкостью адаптироваться к самым разнообразным физическим и химическим факторам окружающей среды.

## 1.2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫСШИХ ПРОТИСТОВ

### 1.2.1. Структурная организация эукариотической клетки

Простейшие, водоросли и грибы — три основные группы микроорганизмов- эукариот. Каждая из этих групп объединяет достаточно разнообразные по строению и функциям организмы. Еще более существенные различия наблюдаются между микроорганизмами, относящимися к разным группам. Тем не менее клеткам высших протистов свойственна общность внутренней структуры, присущая всем эукариотам.

Как и все клетки, клетки микробов снаружи окружены цитоплазматической мембраной, способной пропускать внутрь клетки воду, небольшие молекулы некоторых веществ и ионы. Цитоплазма, связывающая внутренние клеточные структуры в единое целое, находится в постоянном движении, обеспечивая согласованное взаимодействие всех органелл клетки.

Внутреннее пространство клетки множеством мембран, образующих эндоплазматическую сеть, делится на более или менее изолированные отсеки, в каждом из которых протекают биохимические процессы. На определенных участках эндоплазматической сети локализованы рибосомы, в которых осуществляется синтез белка; часть рибосом свободно лежит в цитоплазме. На внутриклеточных мембранах эндоплазматической сети протекает синтез и других жизненно важных соединений, таких, как жиры и полисахариды. Таким образом, эндоплазматическая сеть является одной из органелл эукариотической клетки. Энергетические процессы у эукариот осуществляются в митохондриях, расположенных непосредственно в цитоплазме.

Ядро, отделенное от цитоплазмы ядерной мембраной, как правило, располагается в центре клетки. В ядре сосредоточена наследственная информация.

Характерная органелла эукариотических клеток — комплекс Гольджи, выполняющий несколько функций. Разнообразные вещества,

синтезируемые клеткой в эндоплазматической сети, поступают сначала в комплекс Гольджи, затем транспортируются в различные участки клетки. Одним из продуктов этого комплекса являются лизосомы — окруженные мембраной пузырьки, в которых сосредоточены ферменты, способные расщеплять питательные вещества.

Важнейшая функция комплекса — накопление продуктов обмена перед выводом их из клетки.

Эукариотам свойственны пиноцитоз и фагоцитоз. Сущность этих явлений состоит в переносе небольших капелек жидкости (пиноцитоз) или твердых частиц (фагоцитоз) в клетку в результате втягивания участка цитоплазматической мембраны внутрь, отрыва образовавшегося мешочка и превращения его в вакуоль. Вакуоль сливается с лизосомой; при этом вещества, попавшие в клетку, подвергаются гидролизу.

### 1.2.2. Простейшие

Организмы, относящиеся к Protozoa, очень многочисленны и, хотя тело их состоит из одной клетки, крайне разнообразны по своему строению. Общее число видов простейших превышает 25 тыс. Размеры их колеблются в широких пределах (от 2- 4 мкм до 2 мм) и зависят от видовой принадлежности и физиологического состояния.

Большинство простейших имеют скелетные образования разного характера. Наружный скелет обычно выполняет защитные функции. У одних видов такой скелет образуется в результате уплотнения наружного слоя цитоплазмы и превращения его в тонкую эластичную оболочку — пелликулу, позволяющую животному изгибать тело. Дальнейшее уплотнение пелликулы приводит к образованию кутикулы - очень плотной оболочки, обеспечивающей постоянство формы клетки. Некоторые виды простейших имеют студенистые оболочки, скелет других представляет собой раковинки или домики.

Помимо общеклеточных органелл в *цитоплазме могут* присутствовать специальные органеллы, присущие главным образом простейшим. К их

числу относятся пищеварительные и сократительные вакуоли, органеллы нападения и защиты и т.д.

Пищеварительные вакуоли образуются у простейших, питающихся твердой пищей. Сократительные вакуоли служат для выделения жидких продуктов обмена и представляют собой периодически нарастающий пузырек жидкости, который, достигая определенных размеров, подходит к оболочке клетки и выбрасывает свое содержимое наружу. Второй функцией сократительной вакуоли является осморегуляция. Среда, в которой обитает большинство микроорганизмов, обычно значительно менее концентрированная, чем цитоплазма клетки. В соответствии с законами осмотического давления вода стремится проникнуть внутрь клетки. Сократительная вакуоль действует как своеобразный клеточный насос, удаляя избыток воды и поддерживая постоянное осмотическое давление.

Некоторые простейшие обладают специальными органеллами нападения и защиты, имеющими вид палочек, которые выстреливаются клеткой при раздражении.

Размножаются простейшие простым делением клетки (бесполое размножение) или половым путем. У некоторых видов половое и бесполое размножение чередуются.

Важная биологическая особенность большинства видов простейших - их способность образовывать цисты. Как правило, инцистирование связано с воздействием неблагоприятных условий внешней среды. Переход в инцистированное состояние сопровождается уменьшением объема клетки в 2—8 раз за счет усиленного выделения воды с помощью сократительной вакуоли. Цисты имеют плотную оболочку, которая позволяет им переносить резкие изменения температуры, влажности и других факторов окружающей среды.

Среди **Protozoa** много болезнетворных видов, вызывающих такие заболевания, как амёбная дизентерия, малярия, африканская сонная болезнь и др. Все простейшие способны передвигаться. Большинство видов

подвижны в течение всей жизни, некоторые — только на определенных стадиях развития. Различают пять типов простейших, из которых в практике очистки природных и сточных вод наибольшее значение имеют два: **Sarcomastigophora** (саркомастигофоры) и **Ciliophora** (инфузории). Тип **Sarcomastigophora** включает два класса: **Sarcodina** и **Mastigophora**.

**Sarcodina**. Саркодовые передвигаются с помощью особых меняющих форму выростов тела, которые носят название ложноножек или псевдоподий. У разных видов псевдоподии весьма разнообразны по числу и форме. Некоторые из них имеют ложноножки, широкие, лопастевидные, у других они напоминают сплетение корней дерева, у третьих они подобны прямым тонким лучам. Ложноножки одновременно служат и для захвата пищи.

Наибольший интерес представляет подкласс **Rhizopoda** (корненожки). Сюда относятся наиболее простые по строению организмы — голые амобы (рис. 2.1). Тело их представляет собой комочек цитоплазмы, в которой различают внутренний жидкий зернистый слой эндоплазмы и более вязкий, плотный, но тонкий ободок экзоплазмы.

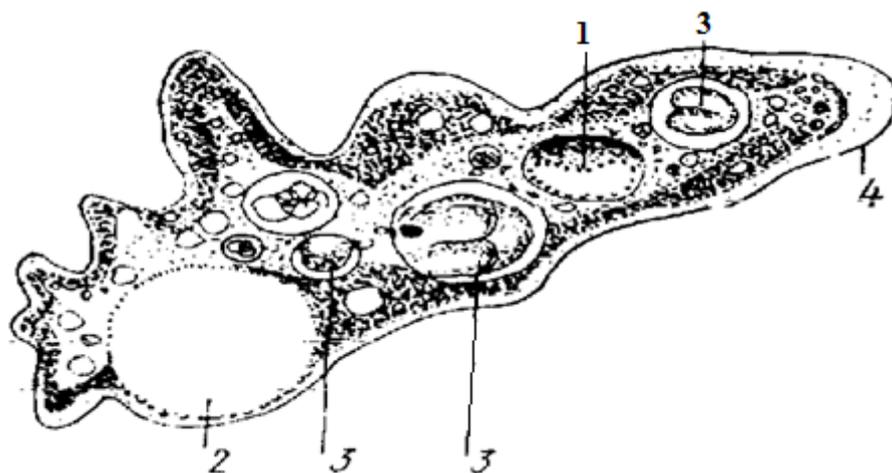


Рис. 2.1. Голая амeba. *Amoeba proteus*:

1 - ядро, 2 - сократительная вакуоль, 3 - пищеварительные вакуоли, 4 -  
цитоплазматическая мембрана

Раковинные амобы (рис. 2.2) отличаются от голых амоб наличием шапочковидной, грушевидной, яйцевидной или *дисковидной раковины с отверстием (устьем)* для псевдоподий.

Поступление пищи и вывод продуктов обмена происходит через устье раковины. Пищей амебам служат главным образом бактерии, другие простейшие и водоросли. Амебы способны захватывать частицы, значительно превышающие размеры их тела.

Размножаются амебы простым делением клетки, но у раковинных амёб этому предшествует образование внутри тела запасных веществ, из которых затем строится раковина новой амебы. При делении примерно половина цитоплазмы с запасными веществами выходит через устье раковины наружу и окружается новой раковинной.

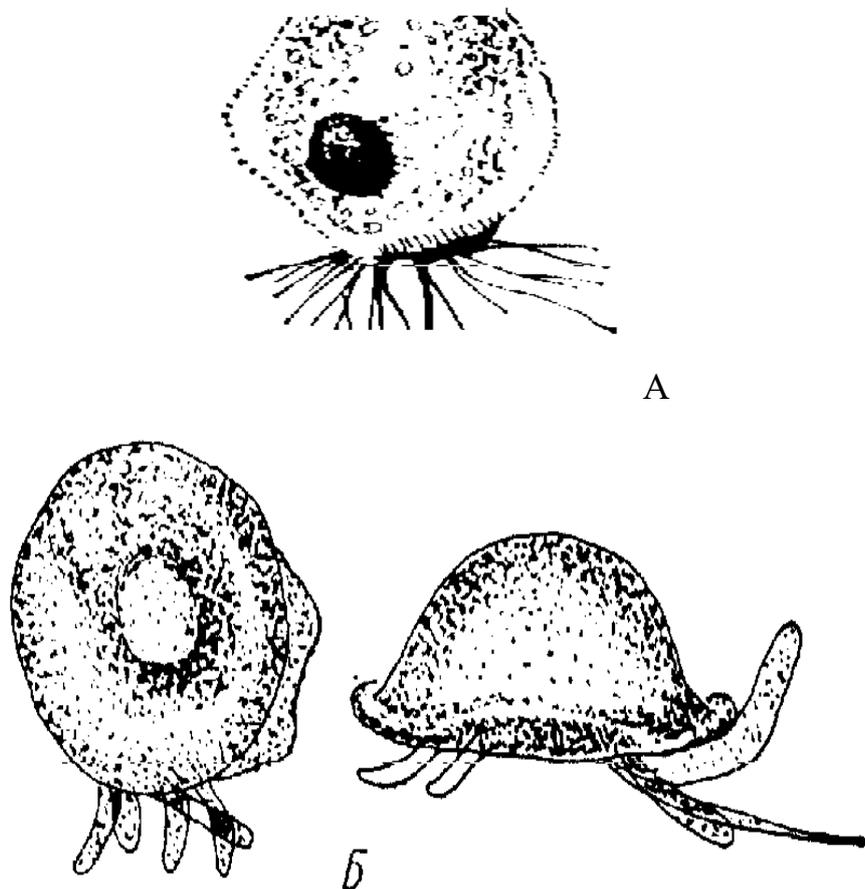


Рис. 2.2. Раковинные амебы. А — *Pamphagus hyalinus*-, Б — *Arcella vulgaris*

**Mastigophora.** Для представителей этого класса органами движения служат жгутики—тонкие нитевидные выросты цитоплазмы. Клетки имеют от одного до восьми жгутиков.

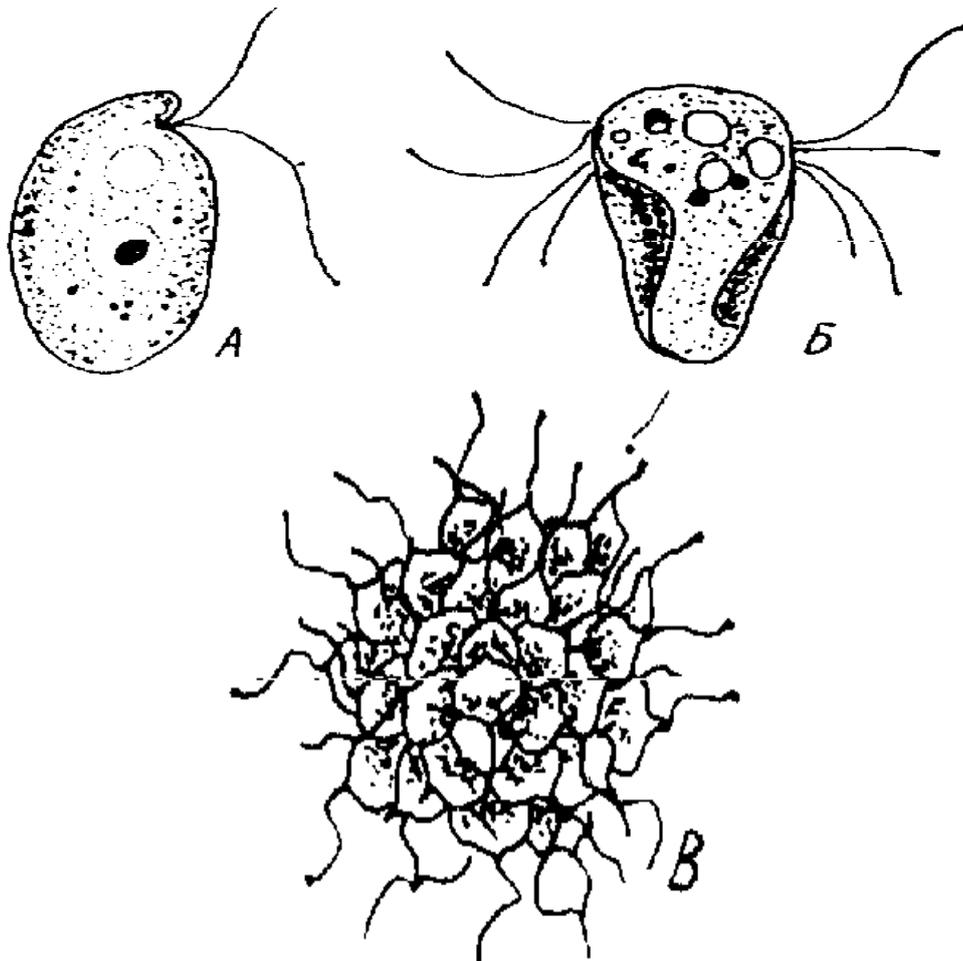


Рис. 2.3. Бесцветные жгутиковые:

А — *Bodo* sp.; Б — *Trepomonas steini*; В — *Oicomonas socialis*

У одних жгутиковых клетки по виду напоминают цилиндр или шар, у других имеют яйцевидную или бутылковидную форму. Поверхностный уплотненный слой цитоплазмы образует пелликулу, но у некоторых видов цитоплазма снаружи отграничена, подобно голым амебам, только слоем экзоплазмы. Такие жгутиковые способны выпускать ложноножки, служащие для захвата пищи. Более высокоорганизованные формы имеют ротовое отверстие, находящееся у основания жгута. Те и другие способны поглощать твердую пищу. Среди жгутиковых есть виды, питающиеся растворенными органическими веществами или ведущие растительный образ жизни.

Размножаются жгутиковые делением клетки в продольном направлении.

На очистных сооружениях систем водоотведения чаще всего

встречаются мелкие бесцветные жгутиковые, представители которых показаны на рис. 2.3.

Тип *Ciliophora*, к которому относятся свыше 7000 видов, делится на два класса: *Ciliata* — ресничные инфузории и *Suctoria* — сосущие инфузории.

**Ciliata.** Класс ресничных инфузорий включает более 20 отрядов. Органами движения инфузорий служат либо отдельно расположенные на их теле реснички, либо комплексы ресничек, образующиеся в результате их склеивания.

Форма тела инфузорий чрезвычайно разнообразна. Клетки могут иметь вид шара, овала, линзы, воронки, конуса, колокольчика и т.д. Среди инфузорий немало колониальных форм. Клетки в колониях объединяются разветвленным стебельком. Тело инфузорий покрыто пелликулой. Благодаря эластичности пелликулы многие инфузории способны изгибать тело, сжиматься, принимать шарообразную форму. Характерный признак инфузорий — сложный ядерный аппарат, состоящий по меньшей мере из двух ядер. Большое ядро — макронуклеус — управляет жизненными процессами. Малое ядро — микронуклеус — носитель наследственной информации. Все инфузории, кроме некоторых паразитических форм, имеют ротовое отверстие. Вокруг рта расположены реснички, обычно более мощные и длинные, чем на других участках тела. С помощью этих ресничек пищевые частицы подгоняются ко рту и проглатываются. Далее пища поступает в короткий канал — глотку, иногда выстланную ресничками. У внутреннего края глотки пищевой комок обволакивается капелькой пищеварительного сока, выделяемой лизосомой. Так образуется пищеварительная вакуоль. Отрываясь от глотки, эта вакуоль подхватывается током цитоплазмы и совершает в клетке определенный путь, в течение которого происходит пищеварение. Вакуоли с неперевавшими остатками пищи через специальный выделительный органоид - порошицу выбрасываются наружу. Жидкие продукты обмена удаляются с помощью сократительной вакуоли. У инфузорий чередуется бесполое и половое

размножение.

Тело некоторых инфузорий таких, как *Paramecium caudatum* (рис. 2.4), равномерно покрыто ресничками. Эти инфузории широко распространены в водоемах и на очистных сооружениях.

Отряд **Heterotricha** — разноресничные инфузории. Для них характерен спирально закрученный слева направо пояс ресничек, находящийся около ротового отверстия. Один из самых крупных представителей этого подкласса трубоч (Stentor) — типичный обитатель пресных вод (рис. 2.4).

К отряду **Hypotricha** относятся часто встречающиеся в илах очистных сооружений брюхоресничные инфузории. Тело их уплощено в спинно-брюшном направлении. Кроме окологротовой зоны реснички располагаются только на брюшной стороне, где они образуют цирры — пучки коротких, слитых вместе ресничек. Благодаря циррам, брюхоресничные инфузории могут ползать по субстрату (рис. 2.4).

Отряд **Peritricha** — кругоресничные инфузории. Представители отряда имеют реснички только около рта в виде закрученного влево пояса. Большинство видов ведут сидячий образ жизни, прикрепляясь к субстрату с помощью стебелька. Среди кругоресничных инфузорий есть как одиночные (например, род *Vorticella*), так и колониальные формы (например, род *Curchesium*). Реснички служат только для добывания пищи. Тело инфузорий этого отряда и стебелек на котором они сидят, могут сокращаться.

**Suctoria.** Класс Suctoria — сосущие инфузории — имеет ряд особенностей, принципиально отличающих его от других инфузорий. Suctoria лишены рта, реснички появляются только на ранних стадиях развития. Во взрослом состоянии ресничные образования заменяются сосательными щупальцами — тонкими трубочками с внутренним каналом, открытым и уплощенным на конце. Щупальца способны растягиваться и сокращаться. Ими суктории ловят добычу (главным образом ресничных инфузорий). Суктории ведут прикрепленный образ жизни и размножаются почкованием.

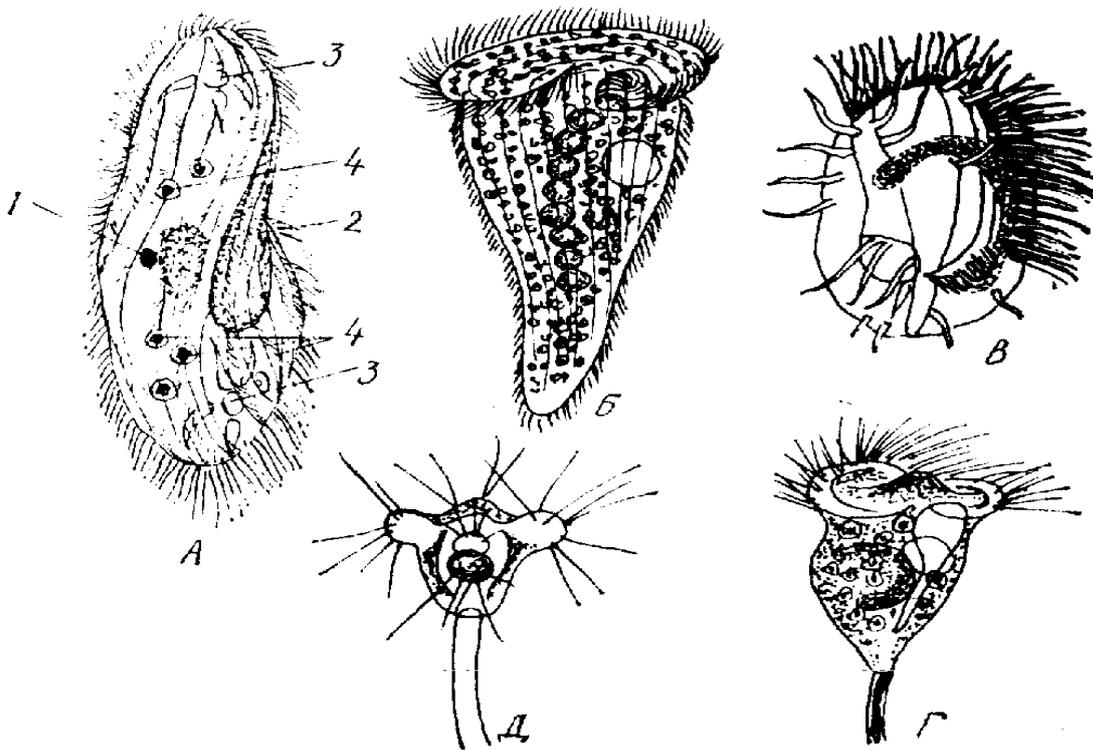


Рис. 2.4. Инфузории.

*A* — *Paramecium caudatum*: 1 — малое ядро, 2 — большое ядро, 3 — сократительная вакуоль, 4 — пищеварительные вакуоли;  
*Б*—*Stentor polymorphus*; *В*—*Euplotes haron*; *Г*—*Vorticella convallaria*; *Д*—  
*Tokophrya quadriparlita* (сосущая инфузория)

### 1.2.3. Водоросли

Водоросли — группа низших растений, обитающих преимущественно в воде. Эта группа включает несколько типов.

Помимо органелл общего назначения, присущих всем эукариотам, микроскопические водоросли, подобно клеткам высших растений, содержат светочувствительные пигменты, локализованные в специальных органеллах, называемых хлоропластами. Благодаря им водоросли способны к фотосинтезу.

Как и все клетки растений, снаружи большинство водорослей имеют жесткую оболочку, которая выполняет защитные функции и участвует в регуляции осмотического давления в клетке. В клетках есть одна или несколько вакуолей с клеточным соком.

Тело водорослей (или таллом) может состоять из одной или множества клеток, образующих колонии или многоклеточные организмы.

Способы размножения водорослей очень разнообразны. Бесполое размножение осуществляется с помощью спор, образующихся в материнской клетке. У большинства видов водорослей, способных к бесполому размножению, споры подвижны и называются зооспорами. Некоторые водоросли размножаются с помощью неподвижных апланоспор. Вегетативное размножение происходит в результате простого деления у одноклеточных водорослей и за счет распада нитей или колоний у нитчатых и колониальных форм.

При половом размножении происходит слияние двух половых клеток — гамет — с образованием зиготы, дающей затем начало новой особи.

Основное место обитания водорослей — водоемы, но многие из них живут в почве, развиваются на очистных сооружениях водопровода и систем водоотведения. В водоемах водоросли находятся как в толще воды, так и на дне. Многие из них поселяются на стеблях высших водных растений.

Систематика водорослей основана на различиях в пигментном составе хлоропластов и в организации клетки. В пресных водоемах наиболее распространены зеленые, диатомовые и сине-зелёные. Сине-зелёные водоросли в настоящее время чаще называют цианобактериями. В связи с принципиальным отличием типа клеточной организации цианобактерии от остальных групп водорослей они рассматриваются в главе, посвященной прокариотам.

Тип Chlorophyta — зеленые водоросли (рис. 2.5). Это самый обширный тип, объединяющий крайне разнообразные организмы. По строению клетки зеленые водоросли более чем другие, похожи на высшие растения. Большинство водорослей этого типа имеют целлюлозную оболочку, вакуоль с клеточным соком, в качестве запасного вещества откладывается крахмал. Протопласт содержит одно или много ядер, хлоропласты зеленого цвета, чашевидные, пластинчатые, звездчатые, дисковидные. Размножаются эти

водоросли вегетативным, бесполом или половым путем.

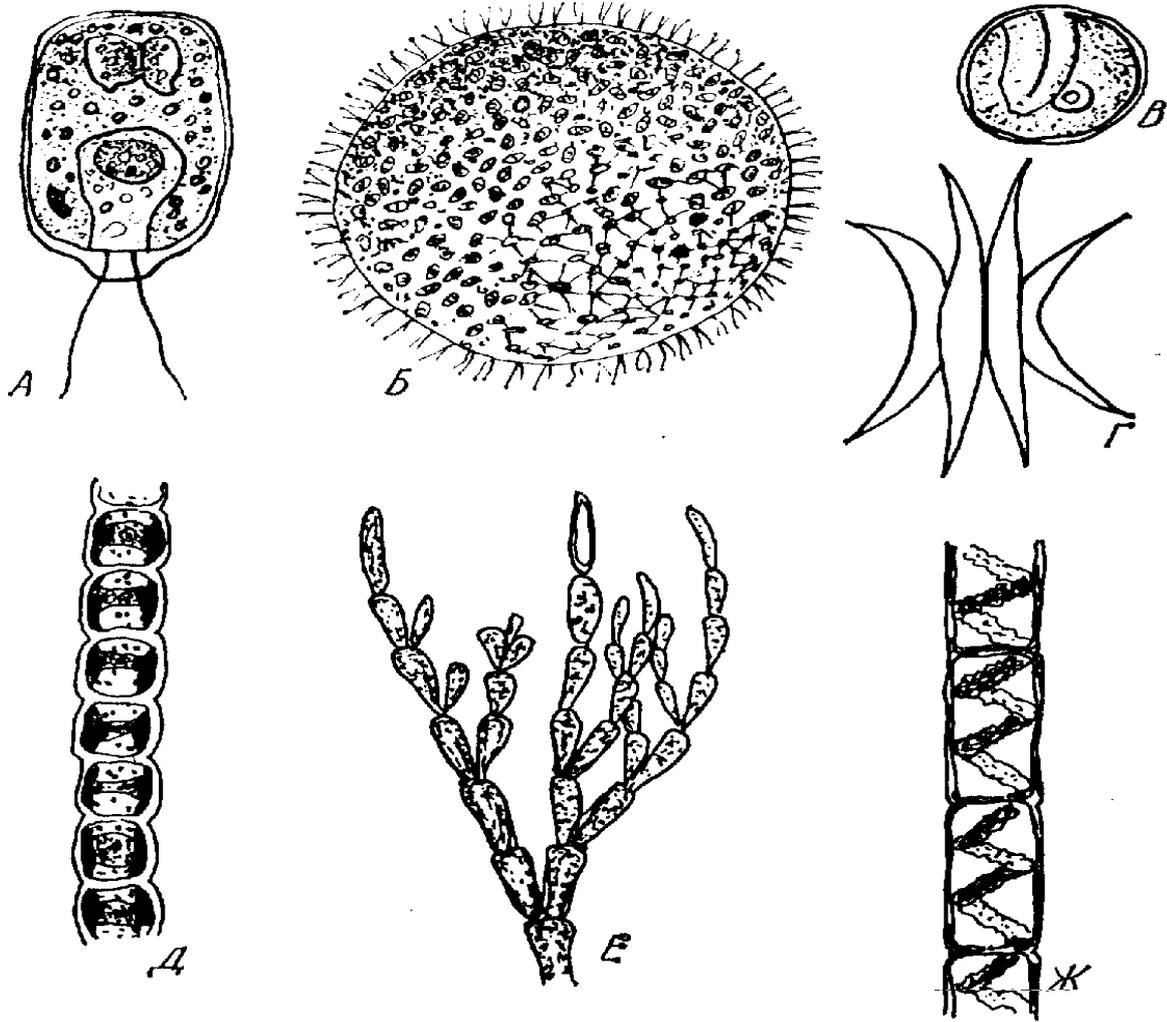


Рис. 2.5. Зеленые водоросли.

*A — Chlamidomonas simplex; Б — Volvox aureus; B — Chlorella vulgaris;*  
*Г — Scenedesmus acuminatus; Д — Ulothrix zonata; E — Cladophora glomerata;*  
*Ж — Spirogyra porticalis*

Тип Chlorophyta включает одноклеточные, колониальные и нитчатые многоклеточные организмы. Большинство микроскопических водорослей этого типа относится к двум классам: равножгутиковые и конъюгаты, или сцеплянки. Класс равножгутиковых представлен одноклеточными, многоклеточными и колониальными формами. Из равножгутиковых рассмотрим порядки вольвоксовые, протококковые, улотриксовые и сифонокладовые.

Зеленые водоросли порядка вольвоксовых широко распространены в мелких стоячих или проточных водоемах, в почве; некоторые виды прекрасно развиваются в сильно загрязненных местах, например, на полях фильтрации, полях орошения, биофильтрах. К одноклеточным вольвоксовым относится род хламидомонада. Клетки имеют шаровидную или эллипсоидную форму, подвижны (рис. 2.5, А). Колонии вольвоксовых (рис. 2.5, Б) представляют собой слизистый шар, образованный 200 и более клетками, похожими по строению на хламидомонаду, но ослизняющимися. Клетки располагаются в один слой, а внутренность шара заполнена слизью. Большая часть колонии сформирована вегетативными, не способными к размножению клетками. Репродуктивные клетки (клетки размножения) на определенной стадии опускаются внутрь шара и дают начало новой колонии.

Порядок протококковые зеленые водоросли объединяет одноклеточные или колониальные неподвижные организмы. Простейший представитель протококковых — хлорелла (рис. 2.5, В). В колониях клетки удерживаются либо общей слизью, либо за счет срастания целлюлозных оболочек отдельных клеток, например, у водорослей рода сценедесмус (рис. 2.5, Г).

К многоклеточным зеленым водорослям относятся порядки улотриковых и сифонокладовых. Первые представляют собой не ветвистые нитчатые организмы с одноядерными клетками (рис. 2.5, Д). Таллом сифонокладовых водорослей состоит из простых или разветвленных нитей с крупными цилиндрическими многоядерными клетками (рис. 2.5, Е).

К классу конъюгат (рис. 2.5, Ж.) относятся одноклеточные или не ветвистые нитчатые водоросли, не имеющие в цикле развития подвижных стадий. Нити, состоящие из цилиндрических клеток со звездчатыми или ленточными хлоропластами, одеты слизистым чехлом.

**Тип Bacillariophyta (Diatomeae).** Диатомовые водоросли составляют очень обособленную группу организмов с желто-бурой окраской хлоропластов, обусловленной пигментом фукоксантином. Клетки диатомей покрыты пектиновой оболочкой, в качестве запасных веществ в клетках

откладываются масло и волютин (азотистое соединение, включающее полифосфаты). Своеобразие этим водорослям придает панцирь, состоящий из кремнезема. Он, подобно коробке, состоит из двух створок, вдвинутых одна в другую.

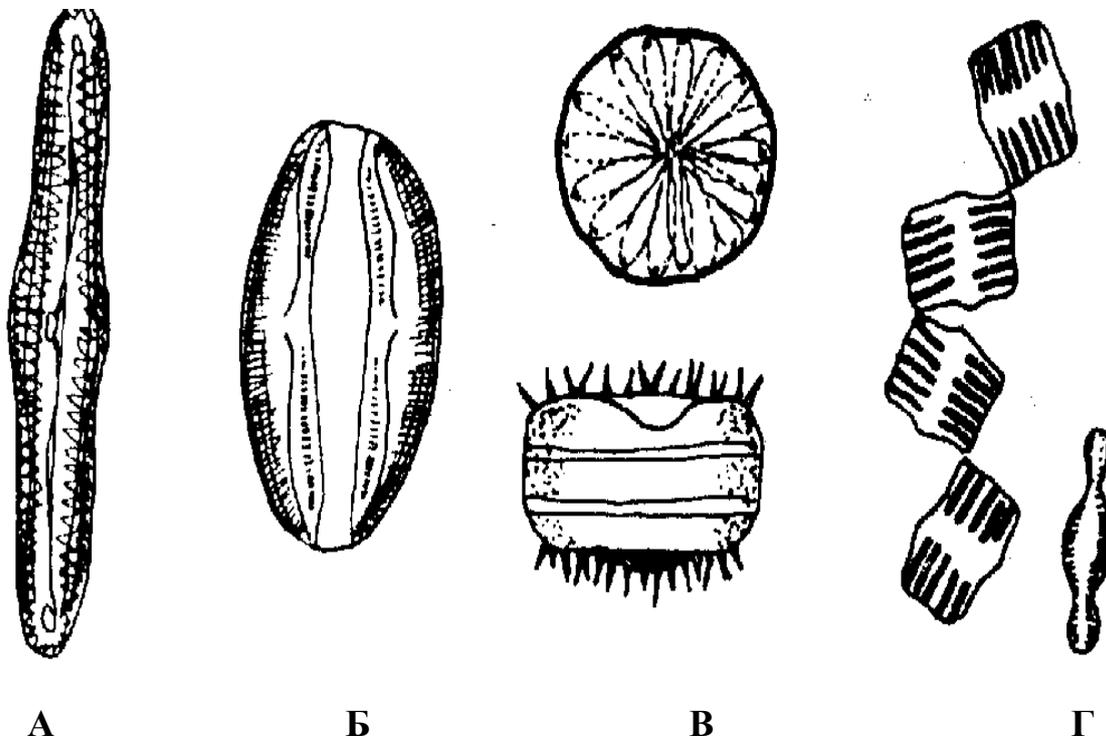


Рис. 2.6. Диатомовые водоросли:

*A* — *Pinnularia nobilis*; *Б* — *Amphora ovalis*;

*В* — *Stephanodiscus hantzschii*; *Г* — *Tabellaria flocculosa*

Форма и строение панциря весьма разнообразны у разных видов. При вегетативном размножении деление происходит в плоскости шва, образованного створками. Каждая из дочерних клеток получает только одну створку, но немедленно после деления на свободной поверхности клетки формируется недостающая часть панциря. Половое размножение осуществляется путем слияния двух клеток, покинувших панцирь. Диатомовые водоросли — в основном одноклеточные организмы (рис. 2.6, *A*, *Б*). Некоторые виды образуют колонии в виде нитей или кустиков (рис. 2.6, *В*, *Г*).

Среди диатомей много подвижных форм. Движение клеток — процесс сложный и обусловлен перемещением цитоплазмы в шве и вертикальных

каналах.

Неблагоприятные условия (замерзание, высушивание) диатомеи переносят в форме покоящихся стадий. Переход в покоящееся состояние не сопровождается образованием специальных клеток, наблюдается лишь частичное или полное обезвоживание цитоплазмы.

#### 1.2.4. Грибы

Грибы составляют обширную группу организмов совершенно особой биологической организации. Тело большинства видов грибов состоит из тонких нитей — *гиф*, образующих разветвленную структуру, называемую *мицелием*. Гифы представляют собой жесткие трубочки, заполненные многоядерной цитоплазмой. Некоторые грибы не имеют эпителиального строения. У грибов нет светочувствительных пигментов. Питаются они, поглощая всей поверхностью тела разнообразные органические вещества. Основное место питания грибов — почва, но некоторые виды живут и в водной среде. Среди грибов много форм паразитирует на водорослях, простейших, рыбах, в организме человека и животных, на высших растениях.

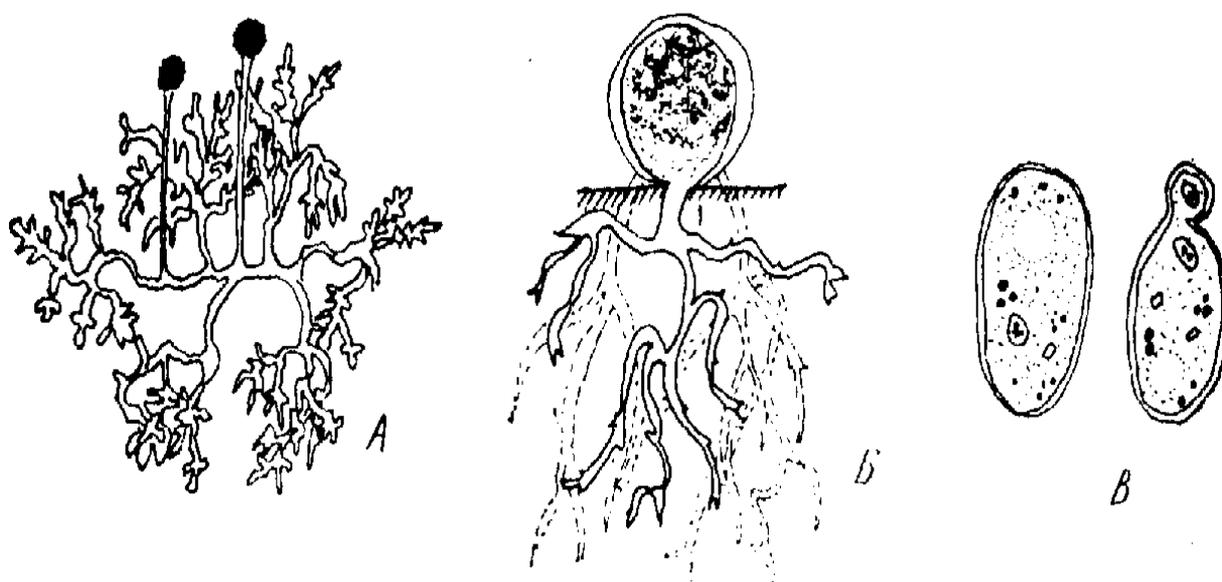


Рис. 2.7. Грибы. А—*Mucor mucedo*, Б— водный фикомицет, В — дрожжи

В основу систематики грибов положены способы размножения. Типы бесполого размножения очень разнообразны: с помощью спор, путем почкования, обрывками гиф. Бесполое размножение чередуется с половым,

которое, как и у всех эукариот, заключается в слиянии двух ядер.

Различают низшие и высшие грибы. Низшие, или примитивные, грибы относятся к классу фикомицетов. Мицелий фикомицетов несептирован, то есть гифы не имеют поперечных перегородок. Споры образуются внутри специальных структур.

Для почвенных фикомицетов (рис. 2.7, А) характерно образование воздушных гиф - *спорангиеносцев*, расширяющихся на конце и переходящих в *округлый спорангий*, внутри которого развивается большое количество спор. Водные формы фикомицетов размножаются с помощью подвижных зооспор. Один из водных фикомицетов показан на рис. 2.7, Б. Тело *гриба представляет собой зооспорангий* — мешочек диаметром около 100 мкм, прикрепленный к субстрату с помощью тонких ветвящихся нитей. При созревании спор зооспорангий разрывается и споры выходят наружу. Прорастая, спора образует новый гриб.

В пресных водах встречаются *как* собственно водные грибы, так и некоторые виды почвенных грибов, приспособившиеся к водной среде.

Высшие грибы имеют септированный мицелий. В гифах таких грибов на определенных расстояниях друг от друга образуются поперечные перегородки. Многие высшие грибы широко используются в промышленности, поэтому могут обнаруживаться в сточных водах некоторых производств. Например, отдельные виды грибов рода *Aspergillus* применяют при производстве лимонной кислоты, ферментных препаратов, а грибы рода *Penicillium* используют в фармацевтической промышленности и для приготовления сыра.

Отдельную группу составляют дрожжи, или сахаромицеты. Дрожжи не образуют мицелия, их клетки размером 10—15 мкм имеют округлую или яйцевидную форму (рис. 2.7, В). Применение дрожжей в промышленности связано с их способностью превращать сахар в этиловый спирт и угольную кислоту. Дрожжи применяют в хлебопечении, пивоварении, виноделии, спиртовой промышленности. Соответственно и сточные воды этих

производств содержат клетки дрожжей.

### **1.2.5. Другие организмы природных и сточных вод**

Почва, природные и сточные воды служат временным или постоянным местом обитания разнообразных многоклеточных животных организмов, которые наряду с микроорганизмами участвуют в деструкции загрязнений в природных водоемах и на очистных сооружениях.

**Коловратки (Rotatoria)** — многоклеточные микроскопические животные. У большинства коловраток тело четко подразделяется на голову, туловище и ногу. Головной отдел Rotatoria снабжен коловращательным аппаратом — специфическим органом, обеспечивающим одновременно движение и питание животного.

Туловище коловраток чаще всего имеет веретенообразную форму, но может быть овальным, округлым или конусовидным. У многих видов туловище покрыто жестким панцирем. Тело коловратки заканчивается ногой с двумя пальцами различной формы либо подобием присоска. Нога позволяет коловраткам прикрепляться к субстрату, помогает им ползать и плавать.

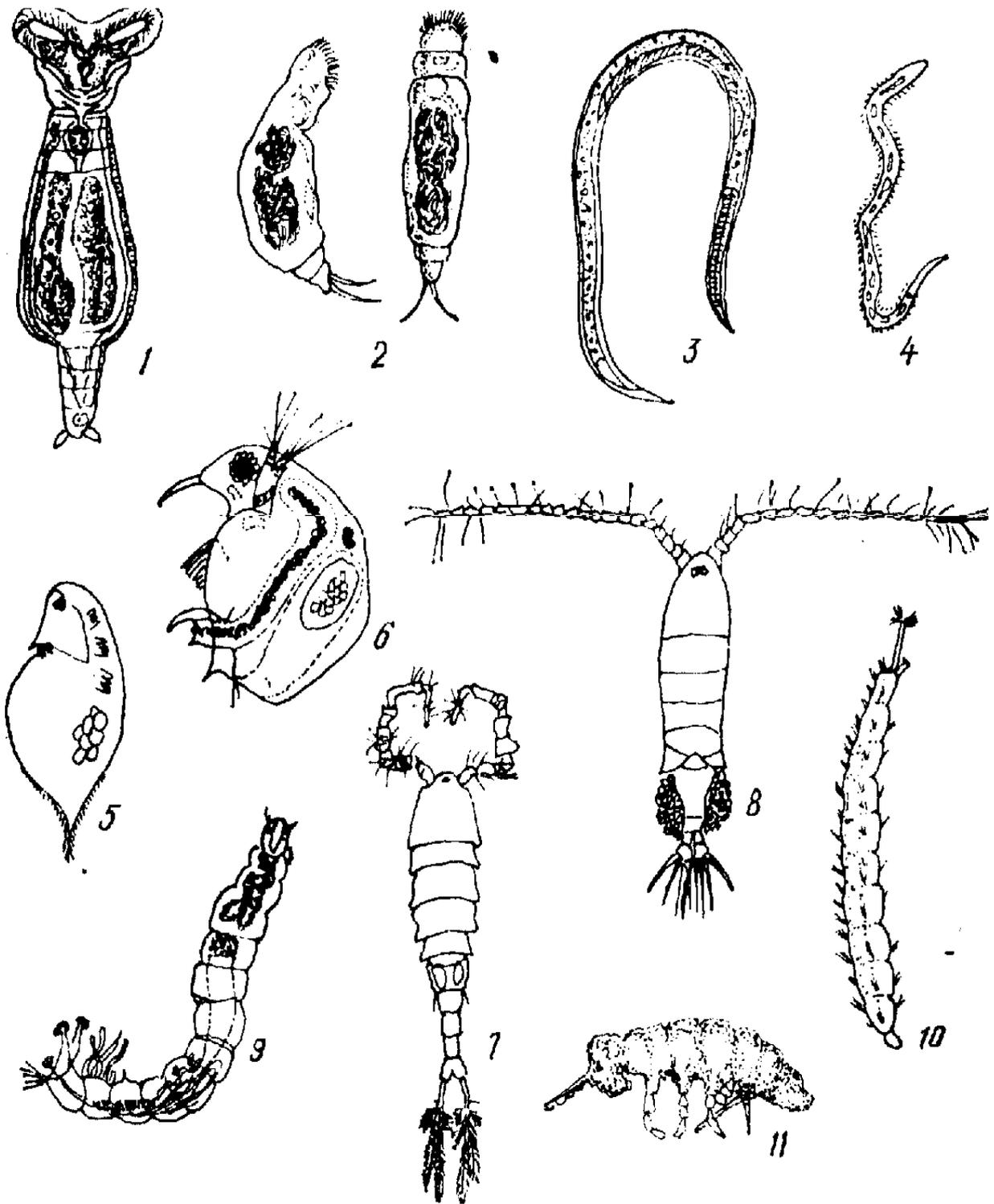


Рис. 2.8. Некоторые организмы природных и сточных вод.

**Коловратки:** 1 — *Callidina vorax*, 2 — *Notommata ansata*. **Черви:** 3 — *Nematoda*, 4 — *Tubifex tubifex*. **Низшие ракообразные:** 5 — *Daphnia longispira*, 6 — *Bosmina longirostris*. 7 — *Cyclop sirenus*, 8 — *Eudiatomus vulgaris*. **Личинки насекомых:** 9 — *Chironomus plumosus*. 10 — *Psychoda* sp.

**Насекомые:** 11 — *Podura*.

Пищей коловраткам служат бактерии, простейшие, водоросли, *органический детрит*. Пища через рот попадает в глотку, имеющую челюстной аппарат. Пищеварительная система состоит из желудка, кишки и выделительных органов.

Коловратки широко распространены в природных водах, некоторые виды обитают в почве. На очистных сооружениях систем водоотведения часто встречаются *Philodina roseola*, *Callidina vorax*, *Notommata ansata* (рис. 2.8).

**Черви (Vermes).** Из червей, обитающих в природных водоемах и развивающихся на очистных сооружениях, наибольшее значение имеют малощетинковые— *олигохеты*, круглые — нематоды (рис. 2.8). К числу самых распространенных олигохет относятся *Limnodrilus* и *Aeolosoma*.

Это черви длиной 0,2—10 мм. Более крупные *Tubifex* (1-4 см) и *Nais* (0,5—2 см) в выборе местообитания непритязательны и хорошо развиваются в водоемах с грязной водой. Живут олигохеты, зарывшись в ил. Пища их состоит из органического детрита. Заглатывая иловые частички, черви частично минерализуют их.

Круглые черви тоже илоеды, живут в водоемах и развиваются на очистных сооружениях в биофильтрах.

**Низшие ракообразные.** Среди обитателей пресных водоемов к этой группе относятся веслоногие и ветвистоусые рачки. Веслоногие рачки, из которых наиболее распространены циклопы и диаптомусы, плавают с помощью нескольких пар грудных ног. Органами движения ветвистоусых рачков служат антенны, снабженные плавательными щетинками (рис. 2.8).

Низшие ракообразные питаются, процеживая воду через специальные органы. Отфильтрованная взвесь сжимается в комочки и поступает в рот. Их пища — бактерии, микроскопические водоросли, органическая взвесь. Сами рачки служат пищей рыбам.

Личинки насекомых. У многих насекомых (комары, мошки, стрекозы и др.) некоторые стадии развития протекают в водной среде. Вследствие этого

личинки и куколки *насекомых* составляют значительную часть населения больших и малых водоемов. В определенные периоды они развиваются и на очистных сооружениях, в частности, в биофильтрах (см. рис. 2.8).

Личинки насекомых населяют илистое дно водоемов, обитают в водной среде, роют ходы в берегах рек. Развиваясь в больших количествах, они служат пищей рыбам, а также играют важную роль в минерализации органических веществ. Одни виды личинок собирают детрит со дна, другие питаются, фильтруя воду через специальные органы либо строя для этой цели ловчие сети — домики, третьи соскребают пищевые частицы с поверхности растений и их остатков.

К числу самых распространенных донных организмов пресных вод относятся личинки *Chironomidae*. Они обитают в лужах, болотах, больших реках и озерах. Большинство их питается детритом, но есть и хищные виды, нападающие на тубифицид, низших рачков и более мелких личинок.

Личинки *Chironomidae*, личинки и куколки мушки *Psychoda* и насекомые *Podura* в большом количестве развиваются в биофильтрах.

### 1.3. MORFOЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗШИХ ПРОТИСТОВ И УЛЬТРАМИКРОБОВ

#### 1.3.1. Строение прокариотической клетки

Клетки низших протистов — бактерий и цианобактерий - имеют в структурной организации ряд принципиальных особенностей по сравнению с клетками высших протистов.

Особенности структурной организации обуславливают и ряд функциональных отличий клеток прокариот от клеток протистов (смотри раздел 1.2). Различное строение ядерного аппарата — не единственный признак, отличающий прокариотическую клетку от эукариотической.

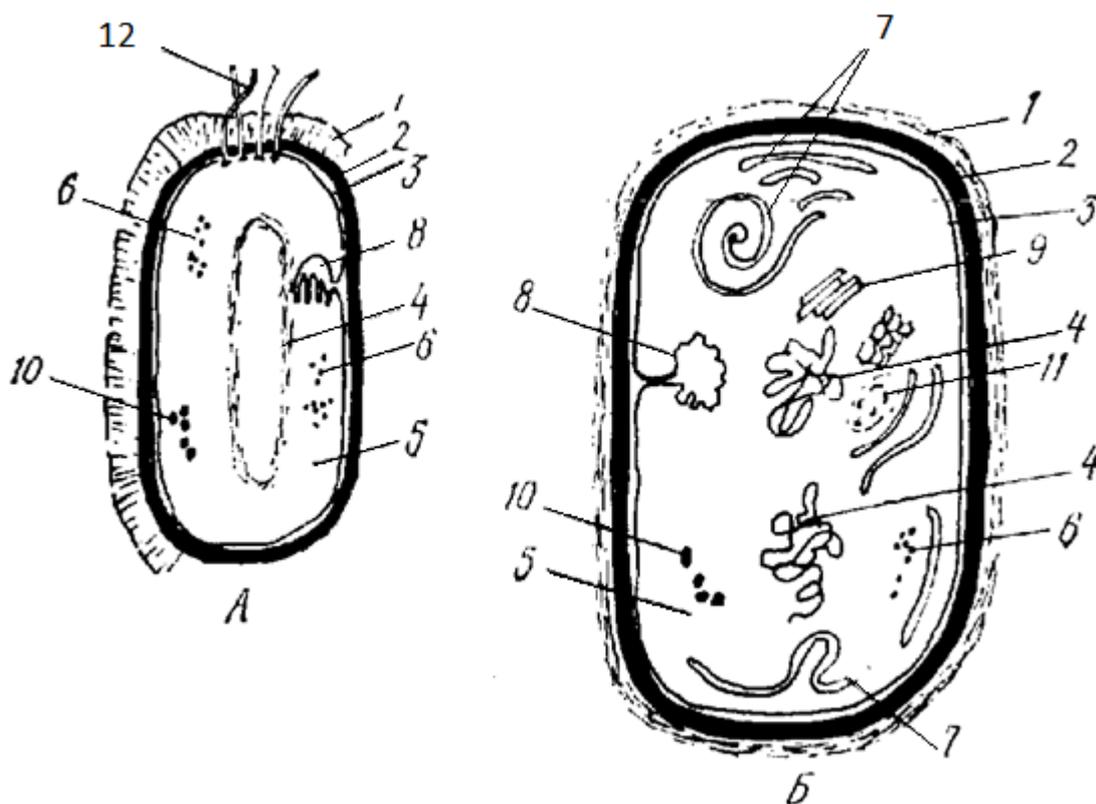


Рис. 3.1. Схема строения прокариотической клетки  
бактерий (А), цианобактерий (Б):

1- слизистая капсула, 2 — клеточная стенка, 3 — цитоплазматическая мембрана, 4 — нуклеоид, 5 — цитоплазма, 6 — рибосомы, 7 — тилакоиды, 8 — мезосома, 9 — газовые вакуоли, 10 — запасные вещества, 11 — вакуоль, 12 — жгутики

Помимо различия в генетической организации клетки важнейшими особенностями прокариот являются: 1) отсутствие системы мембран, формирующих эндоплазматическую сеть; 2) отсутствие структурно оформленных органелл таких, как митохондрии и хлоропласты, комплекс Гольджи, лизосомы.

Прокариотам не свойственны направленное движение цитоплазмы, внутриклеточное пищеварение, явления фагоцитоза и пиноцитоза. Клетки огромного большинства прокариот значительно меньше эукариотических клеток, поэтому для них характерно большее отношение поверхности к объему, а следовательно, и более интенсивный обмен с окружающей средой.

Число форм клеток прокариот невелико. Чаще всего они имеют сферическую форму или вид прямых и изогнутых палочек. Однако физиологические особенности этой группы микробов и процессы, осуществляемые ими, поражают своим чрезвычайным разнообразием. Обширную группу прокариот составляют бактерии.

В клетке бактерий (рис. 3.1, А) различают поверхностные структуры и протопласт. Протопласт состоит из цитоплазмы и нуклеоида, окруженных цитоплазматической мембраной. Хотя нуклеоид бактерий и не отделен от цитоплазмы ядерной мембраной, на электронных микрофотографиях они выглядят как две структурно различающиеся области.

В цитоплазме бактериальной клетки обнаруживается от 5 до 50 тыс. рибосом более мелких, чем рибосомы эукариот. Огромное количество рибосом придает цитоплазме вид зернистой массы.

Цитоплазматическая мембрана имеет трехслойную структуру, при этом наружные слои — белковые, а внутренний состоит из липидов.

Функции цитоплазматической мембраны разнообразны. Обладая избирательной проницаемостью, т. е. способностью пропускать определенные соединения, мембрана играет роль органеллы, концентрирующей необходимые вещества внутри клетки и способствующей выведению наружу продуктов жизнедеятельности. Цитоплазматическая

мембрана служит местом локализации разнообразных ферментов, на ее поверхности происходит синтез веществ внешних структур клетки. Цитоплазматическая мембрана образует многочисленные инвагинации (втягивания внутрь клетки), поэтому цитоплазма пронизана мембранными структурами. Однако эти структуры отличаются от эндоплазматической сети эукариот.

У многих бактерий имеются мезосомы — мембранные образования. Роль их до сих пор окончательно не выяснена. Существуют предположения об участии мезосом в важнейших внутриклеточных процессах деления клетки, синтеза веществ клеточной оболочки, энергетическом обмене. В цитоплазме бактерий обнаружены разнообразные включения. Одни представляют собой запасные вещества, откладываемые клеткой в период обильного питания, другие — продукты жизнедеятельности, клетки, не выделяющиеся наружу. Разные виды бактерий в качестве запасных веществ откладывают полисахариды (гликоген, крахмал, гранулеза), липиды (гранулы и капельки жира), полифосфаты (волютин). У многих серных бактерий в клетках накапливается молекулярная сера.

Один из важнейших структурных элементов бактериальной клетки — клеточная стенка. Она служит как бы скелетом клетки, придавая ей определенную форму, защищает ее от воздействия внешней среды, обеспечивает необходимую механическую прочность, что позволяет противостоять высокому осмотическому давлению протопласта. Строение и химический состав клеточной стенки очень сложны и зависят от вида бактерий. Обязательный компонент клеточной стенки прокариот — полимер муреин. В зависимости от структуры стенки бактерии делят на две большие группы: грамположительные, способные приобретать и удерживать сине-фиолетовый цвет при окраске по Граму (метод окрашивания впервые предложен датским ученым Х. Грамом в 1884 г.), и грамотрицательные, обесцвечивающиеся при последующей промывке спиртом.

У некоторых видов *бактерий* на поверхности клетки образуется

слизистая капсула. Она служит дополнительным осмотическим барьером, предохраняющим клетку от высыхания и механических повреждений. Слизь, выделяемая клеткой, может частично диффундировать в окружающую среду. Выделение слизи у отдельных видов бактерий может быть настолько интенсивным, что капсулы отдельных клеток сливаются, образуя зооглеи — скопления слизистой массы с вкрапленными в нее клетками.

Вторую группу прокариот составляют цианобактерии, или синезеленые водоросли (рис. 3.1, Б). Клетки цианобактерии имеют некоторые отличия от бактериальных клеток. Большинство цианобактерии не имеет компактного нуклеоида. У некоторых крупных организмов обнаруживается несколько нуклеоидов. Светочувствительные пигменты цианобактерии локализируются в тилакоидах — мембранных структурах уплощенной формы. В качестве запасных веществ в клетках откладываются полисахариды, жиры, цианофицин — вещество белковой природы. Помимо запасов веществ в клетках цианобактерии обнаружены включения, имеющие приспособительное назначение. К ним относятся газовые вакуоли, позволяющие клетке регулировать плавучесть в вертикальной плоскости. Клеточная стенка цианобактерии сходна с клеточной стенкой грамотрицательных бактерий, но содержит и пектиновые вещества.

### 1.3.2. Бактерии

У бактерий выделяют три основные *формы* клетки: сферическую, цилиндрическую и извитую.

Сферические, или шаровидные, бактерии называются *кокками* (от греч. «*soccus*» — ягода). У разных видов бактерий закономерность расположения клеток после деления неодинакова. В зависимости от этого различают: 1) *монококки* — одиночные клетки; 2) *диплококки*, группирующиеся попарно, так как деление клетки происходит в одной плоскости, 3) *стрептококки*, клетки которых также делятся в одной плоскости, но особи не отделяются друг от друга и формируют длинные цепочки; 4) *тетракокки*, образующие группы из четырех клеток, что обусловлено

делением клетки в двух взаимно перпендикулярных плоскостях; 5) *сарцины*, имеющие вид скоплений кубической формы в результате деления в трех взаимно перпендикулярных плоскостях; 6) *стафилококки*, делящиеся неправильно в нескольких плоскостях, скопления которых напоминают кисть винограда (рис. 3.2). Диаметр шаровидных бактерий не превышает 1—2 мкм.

Цилиндрические, или палочковидные, бактерии, как и кокки, могут быть одиночными, соединяться попарно или в длинную цепочку по три и более клеток. Средняя длина палочковидных бактерий составляет 2—7 мкм при диаметре 0,5—1 мкм. Однако есть как значительно более крупные формы, так и очень мелкие, величина которых находится на грани видимости в обычные световые микроскопы (0,1—0,2 мкм).

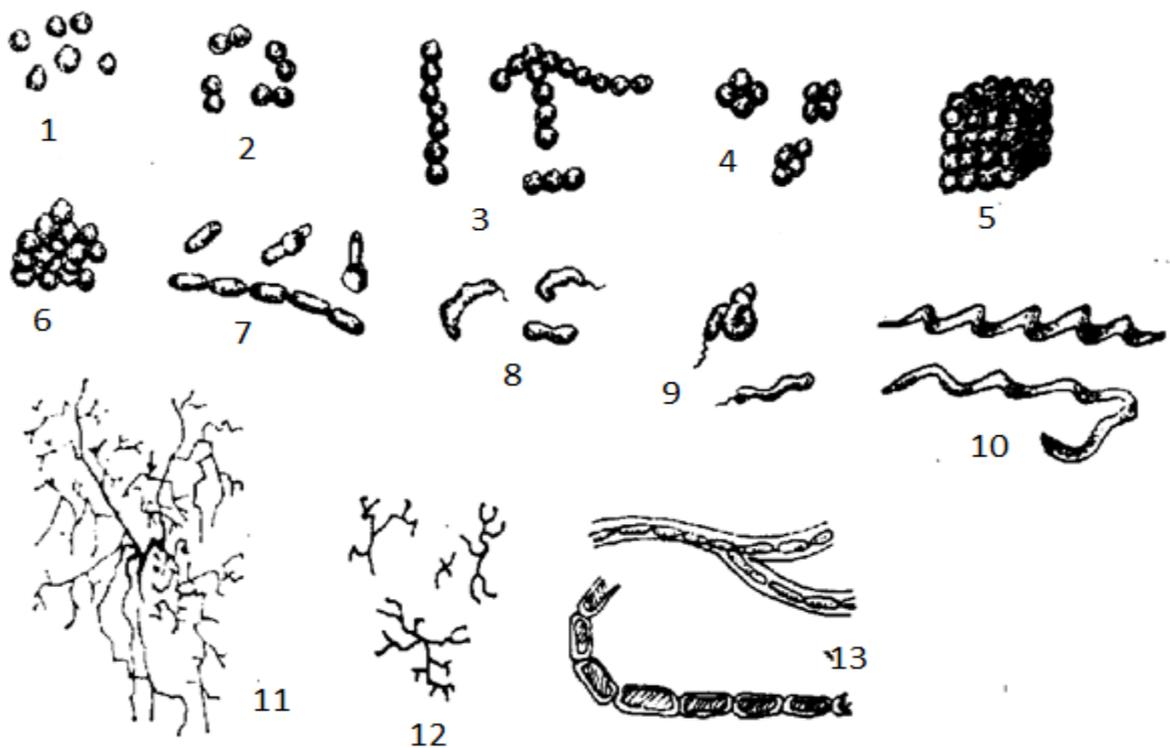


Рис. 3.2. Морфологические типы бактерий:

1- монококки; 2-диплококки; 3 стрептококки; 4 — *тетракокки*; 5 — сарцины; 6 — стафилококки; 7 — палочки; 8 — вибрионы; 9 — спириллы; 10 — спирохеты; 11 — актиномицеты; 12 — микобактерии; 13 — нитчатые бактерии

Извитые формы бактерий в зависимости от степени изогнутости подразделяют на вибрионы, спириллы и спирохеты. Самые мелкие из них — *вибрионы*, имеющие вид запятой. Длина клетки вибрионов не превышает 1—3 мкм. Клетки *спирилл* длиной от 5 до 30 мкм имеют один или несколько завитков. Характерная особенность спирохет — крайне малый диаметр клетки (0,1—0,6 мкм) при относительно большой (5—500 мкм) длине тела. Клетки спирохет имеют вид штопора, покрыты эластичной оболочкой, позволяющей им винтообразно изгибать тело.

Среди бактерий особую группу составляют *актиномицеты*. Клетки актиномицет способны ветвиться. У некоторых видов переплетение нитей образует мицелий, подобный мицелию гриба. Эти актиномицеты, как и грибы, размножаются спорами. Клетки их имеют признаки и бактерий, и грибов, но в отличие от последних лишены структур, свойственных эукариотам. Клетки других видов (микобактерии) похожи на искривленные палочки с боковыми выростами: размножаются делением и перешнуровыванием (рис. 3.2).

Актиномицеты обитают в воде, почве, на растительных и животных остатках. Многие из них, развиваясь в воде, придают ей специфический землистый запах.

Несколько особняком стоят нитчатые бактерии, представляющие собой длинные нити из соединенных вместе палочковидных клеток, покрытых общей тонкой оболочкой — *чехлом*. Нитчатые бактерии — типичные водные организмы. Нити их имеют толщину в среднем 1—7 мкм. Нитчатые бактерии относятся к числу наиболее крупных, некоторые из них видны даже невооруженным глазом (рис. 3.2). Среди нитчатых бактерии наиболее известна *Sphaerotilus natans*, обитающая в сточных водах, в загрязненной проточной воде. Она образует в воде нити и хлопья. Бурное развитие этих бактерий может привести к зарастанию труб.

Каждому виду бактерий присущи определенные форма и размер, на

которые значительное влияние оказывают условия роста.

Бактериальное население сточных вод представлено практически всеми формами, но большинство составляют палочковидные.

**Движение бактерий.** Среди бактерий есть как подвижные, так и неподвижные формы. Большинство подвижных бактерий активно передвигается только в жидкой среде. Исключение составляют микобактерии, способные к скользящему движению по твердому субстрату. Органами движения бактериям служат жгутики — длинные, очень тонкие нити, спиральные, волнистые или изогнутые. Длина их может во много раз превышать длину тела бактерии, достигая 10—30 мкм и более. Поперечный размер жгутиков составляет 0,01—0,03 мкм.

Число и расположение жгутиков — характерный видовой признак. Некоторые виды бактерий имеют один жгутик (монотрихи), у других жгутики располагаются пучками на одном или обоих концах клетки (*лофотрихи*), у третьих покрывают всю поверхность клетки (*перитрихи*).

К неподвижным формам относятся большинство кокков и некоторые палочковидные бактерии. Извитые бактерии все подвижны, из них только спирохеты не имеют жгутиков и передвигаются, изгибая тело.

**Спорообразование.** Некоторые виды бактерий, главным образом палочковидные, способны образовывать споры, по своим функциям аналогичные цистам простейших. Обычно спорообразование индуцируется неблагоприятными условиями среды: понижением содержания влаги, отсутствием питательных веществ, изменением рН и т. д. Спорообразование не является обязательной стадией развития спороносных бактерий.

В клетке всегда образуется только одна спора. Процесс начинается с обезвоживания и уплотнения цитоплазмы в ядерной зоне и обособления этой зоны ДНК с помощью перегородки, образующейся из цитоплазматической мембраны. Затем на отсеченном участке цитоплазмы формируются двухслойная мембрана и *оболочка* споры, выполняющая защитные функции. Оболочка мало проницаема для воды и растворенных веществ и

обеспечивает большую устойчивость спор к внешним воздействиям. Споры многих болезнетворных бактерий сохраняют жизнеспособность в почве в течение нескольких лет. Особенность бактериальных спор — их высокая термостойкость. Например, спора сенной палочки выдерживает трехчасовое кипячение.

Попадая в благоприятные условия, спора прорастает. Процесс *превращения споры* в растущую (*вегетативную*) клетку начинается с поглощения ею воды и набухания споры. При этом происходят глубокие физиологические изменения: усиливается дыхание и активизируются ферменты. В этот же период спора теряет свою термоустойчивость. Затем внешняя оболочка ее разрывается и из образовавшейся структуры формируется вегетативная клетка.

**Систематика бактерий.** Основные морфологические признаки, используемые при классификации бактерий,— форма клетки, особенности ее строения, устройство двигательного аппарата, наличие спор, окрашивание по Граму. Однако простота строения клетки бактерий, ограниченность различий в перечисленных признаках не дают возможности создать на их основе соответствующую классификацию. Поэтому классификация бактерий базируется не только на морфологических, но и на функциональных признаках. Функциональные характеристики бактерий чрезвычайно разнообразны, к тому же далеко не всегда прослеживается корреляция между морфологическими и функциональными признаками. В силу этого создать единую иерархическую классификацию бактерий до сих пор не удалось.

Из всех работ по классификации бактерий наибольшее распространение и авторитет имеет «Руководство Берги по определению бактерий», восьмое издание которого выпущено в 1974 г. Составители определителя преследовали цель создать руководство, позволяющее быстро идентифицировать бактерии по совокупности морфологических и культуральных (строение колоний, характер роста на жидких средах и т.д.) признаков и некоторых физиологических особенностей.

Все бактерии разделены на 19 групп, названия которых включают легко определяемые признаки. Например, группа 3 имеет название «Бактерии, образующие слизистую оболочку»; группа 5 — "Спирохеты"; группа 7 — "Грамотрицательные аэробные палочки и кокки"; группа 17-«Актиномицеты и родственные организмы» и т. д.

В некоторых группах виды объединены в роды, которые описаны в случайной последовательности, в других роды сгруппированы в семейства и порядки.

### 1.3.3. Цианобактерии

Цианобактерии — древнейшие обитатели Земли, представленные одноклеточными, колониальными и нитчатыми формами.

Отличительная особенность цианобактерий — своеобразная сине—зеленая, оливково-зеленая, желто-зеленая или фиолетовая окраска, обусловленная уникальным набором светочувствительных пигментов. В тилакоидах цианобактерий кроме зеленого хлорофилла «а» обнаружены желтые каротиноиды, синий фикоциан и красный фикоэритрин. Количественные соотношения пигментов определяют цвет клетки и зависят от вида и условий обитания.

Колониальные формы цианобактерий образуются путем слияния слизи отдельных клеток. Как правило, колонии не имеют определенной формы.

У нитчатых форм клетки в пределах одной нити могут быть одинаковыми или разными по величине и форме. Сверху клетки нити покрыты общим слизистым чехлом. У некоторых видов нити способны ветвиться. Часто образуются *гетероцисты*, расположенные в нити через определенное число клеток. Гетероцисты происходят из вегетативных клеток, но по размеру значительно больше их. Они имеют плотную оболочку, но через поры сообщаются с соседними клетками. Предполагают, что гетероцисты — специализированные клетки, способные фиксировать азот. Для многих видов характерны *гормогонии* — многоклеточные участки, отделяющиеся от материнской нити и дающие начало новому организму.

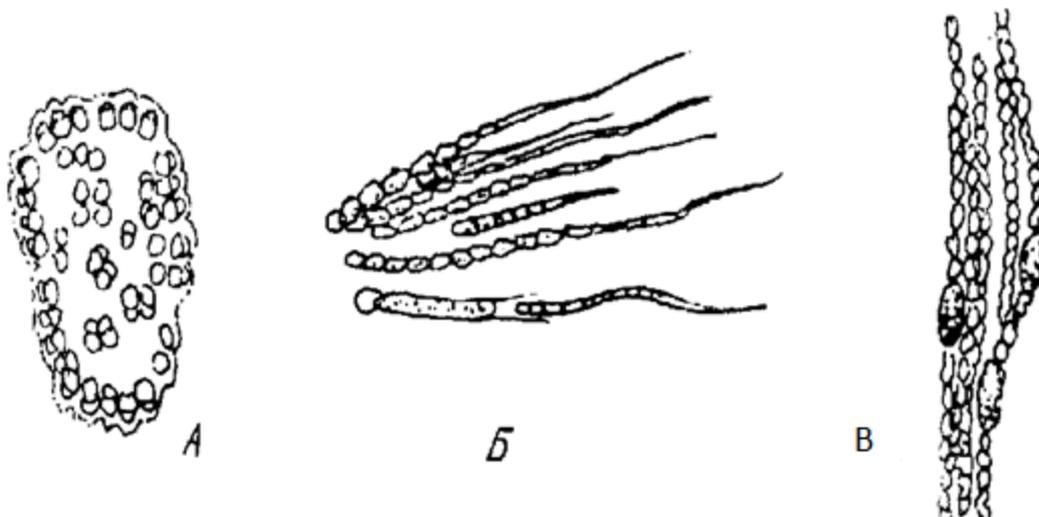


Рис 3.3. Цианобактерии.

*A — Coelosphaerium kutzingianum, B — Gloeotrichia pisum, C — Anabaena affinis*

Цианобактериям свойственно образование спор. У одних видов споры, как у истинных бактерий, являются формой приспособления к неблагоприятным условиям. В этом случае из одной клетки формируется только одна спора. У других цианобактерий споры, как у грибов, служат формой размножения. В этом случае материнские клетки заполняются множеством мелких спор, освобождающихся при разрыве оболочки.

Многие цианобактерии способны передвигаться, хотя обычные органы движения — жгутики — у них отсутствуют. Активное движение осуществляется за счет одностороннего выделения слизи.

Распространены цианобактерии повсеместно. Их находят в больших и малых, соленых и пресных водоемах, в почве, на скалах, в пустыне и в Арктике. Такое широкое распространение связано прежде всего, с их чрезвычайной устойчивостью к действию неблагоприятных условий и удивительной нетребовательностью к питательным веществам. Некоторые представители цианобактерии показаны на рис. 3.3.

### 1.3.4. Ультрамикробы

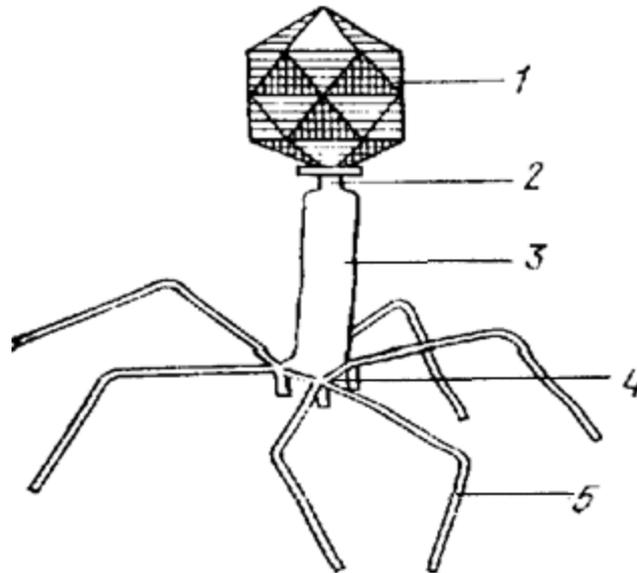


Рис. 3.4. Схема строения бактериофага Т-2. Объяснение в тексте

Ультрамикробы — единственные представители живого мира, не имеющие клеточного строения. К ним относятся вирусы - внутриклеточные паразиты, поражающие клетки животных, растений и микроорганизмов. Особенность паразитизма вирусов заключается в том, что они действуют на генетическом уровне. Не обладая свойственной любой клетке способностью к синтезу белка, они внедряют в клетку свой генетический материал, в результате чего клетка начинает синтезировать вирусные частицы.

Вне клетки вирусы существуют в виде *вирионов* — вирусных частиц, находящихся в покоем состоянии. Вирионы обнаруживаются в воздухе, почве, природной и сточной воде. Размер, форма и химический состав вирионов очень разнообразны. В вирусной частице различают две основные структуры: белковую оболочку — *капсид* и генетический материал вируса, представленный одной молекулой ДНК или РНК.

Вирусы, поражающие микроорганизмы, называются *фагами* (буквально фаг — пожиратель). Бактериофаги паразитируют в клетках бактерий.

На рис. 3.4 показана схема строения бактериофага. Фаг имеет головку 1, внутри которой заключена ДНК, полый стержень 2, покрытый чехлом 3, внутри которой заключена ДНК, полый стержень 2, покрытый чехлом 3,

базальную пластинку 4 и отростки 5. Отростки способствуют адсорбции фаговой частицы на поверхности клетки. У бактериофагов с таким строением чехол способен сокращаться. При его сокращении стержень проходит через клеточную стенку и мембрану, и фаг, действуя как шприц, впрыскивает свою ДНК внутрь клетки. Фаговая ДНК так перестраивает механизм обмена бактерии, что в ней начинают синтезироваться частицы фага. Через определенное время все содержимое клетки превращается в зрелые фаговые частицы, оболочка клетки растворяется и фаги выходят наружу.

## 1.4. ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ КЛЕТКИ

### 1.4.1. Элементный состав клетки

На всех уровнях строения живых организмов в их состав обязательно входят 16 важнейших элементов: С, О, N, H, P, S, Fe, Cu, Na, K, Ca, Mg, Co, Cl, I, Mn. Их называют элементами жизни. В клетках некоторых организмов обнаружены и другие элементы такие, как Zn, Al, Mo, Si.

Ниже показан элементный состав сухого вещества клетки, (%) у широко распространенного и хорошо изученного вида бактерий *Escherichia coli*:

Углерод	50	Натрий	1
Кислород	20	Кальций	0,5
Азот	14	Магний	0,5
Водород	18	Хлор	0,5

Количественные соотношения элементов в клетках различных микроорганизмов колеблются в достаточно широких пределах, особенно для элементов, следующих за водородом. Например, некоторые виды бактерий способны накапливать внутри клеток железо или серу, у других наблюдается повышенное содержание фосфора и т.д.

Углерод, кислород, азот и водород — основные органогены, доля

которых в общей массе клетки может достигать 92—98%. Все четыре элемента обладают рядом общих свойств, из которых важнейшее — их способность образовывать ковалентные связи. Среди элементов, обладающих этим свойством, С, Н, О и N- самые легкие, что обуславливает самые прочные ковалентные связи. Посредством стабильных ковалентных связей С—С создаются каркасы различных органических веществ.

Бесчисленное множество разнообразных химических соединений возникает благодаря способности атомов С, Н, О и N легко реагировать друг с другом, образовывать одинарные и двойные связи между углеродом, кислородом и азотом, ковалентные связи углерода с серой, вследствие чего в органические молекулы включаются различные функциональные группы.

Наконец, важнейшая особенность углерода — его способность создавать стабильные молекулы с трехмерной структурой разнообразной пространственной конфигурации.

Среди зольных элементов клетки *важная* роль принадлежит фосфору. Он входит в состав нуклеиновых кислот, целого ряда ферментов, участвует в реакциях энергетического обмена. С другими атомами фосфор соединяется эфирной связью через кислородный мостик—О—. В некоторых соединениях (АДФ, АТФ) по месту локализации атомов фосфора возникают связи, богатые энергией.

Сера входит в состав белков в виде групп — SH,— S —, —S—S—. Сульфгидрильные группы обладают высокой реакционной способностью, их переход в дисульфидные группы и обратно, сопровождающийся переносом атомов водорода, имеет большое значение в окислительно-восстановительных процессах в клетке.

Содержание металлов в клетке относительно невелико, но функции их чрезвычайно важны. В цитоплазме металлы присутствуют в виде комплексов с органическими молекулами. Основная функция большинства металлов — усиление каталитической активности ферментов.

## 1.4.2. Вода

Вода играет важную роль в жизни любого организма. На ее долю приходится основная часть массы клетки.

Бактериальные клетки содержат 75—90% воды. На одну белковую молекулу в них приходится около 10 тыс. молекул воды. В клетках плесневых грибов 85—88% воды, у некоторых простейших эта величина достигает 95%. Чем моложе клетка, тем больше она содержит воды. В спорах бактерий и цистах простейших воды значительно меньше, чем в растущих (вегетативных) клетках. Часть воды в клетке связана с коллоидами и входит в состав внутриклеточных органелл (рибосомы, митохондрии и т. л.), являясь, таким образом, структурным элементом клетки.

Полярная природа молекул воды обуславливает ее способность растворять и диспергировать самые разнообразные вещества. Вода — дисперсионная среда для коллоидов цитоплазмы и растворитель ряда органических и минеральных веществ. Она служит не только средой для многочисленных и разнообразных биохимических процессов, но и сама принимает участие в таких реакциях, как гидролиз, окисление и т. д.

При низкой вязкости и способности растворять различные вещества вода выполняет и транспортные функции: обеспечивает поступление питательных веществ внутрь клетки и вывод продуктов жизнедеятельности из нее.

Вследствие высокой теплоемкости клеточная вода способна до некоторой степени поддерживать постоянство температуры клетки при изменении температуры окружающей среды.

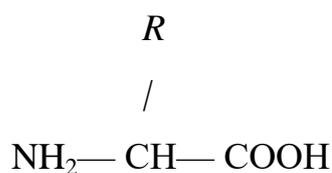
## 1.4.3. Органические компоненты клетки

Сухое вещество клетки на 85—97% состоит из органических веществ, остальные 3—15% приходятся на долю зольных элементов.

Органическое, или беззольное, вещество клетки состоит из четырех основных компонентов: белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов. Молекулярная масса этих соединений достигает  $10^3$ — $10^9$ . Исключение

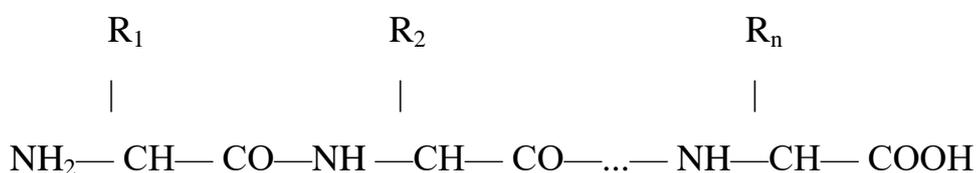
составляют липиды, однако и они способны образовывать структуры с высокой молекулярной массой.

**Белки.** Белки — основной компонент всех клеточных *структур*, основа жизни. Содержание белков в клетке составляет 50—80% от сухого вещества. Белковые соединения в клетке представлены простыми белками — протеинами и сложными — протеидами. Структурными элементами, или «строительными блоками», из которых образуются протеины, являются 20 аминокислот с общей формулой:



Они отличаются друг от друга только структурой боковых цепей (**R**)

Первичная структура белка образуется в результате последовательного соединения аминогруппы одной кислоты и карбоксильной группы другой с выделением воды. Так формируются длинные цепочки полипептидов, состоящие из десятков и сотен аминокислотных остатков:



Каждому типу белка соответствует определенная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Связь CO — NH называют пептидной. Полипептидные цепи имеют спиральную структуру, стабилизированную водородными связями, образующимися между атомами водорода и кислорода. Белковые молекулы имеют трехмерную структуру, в которой пространственное взаиморасположение участков полипептидной спирали фиксируется связями типа —S—S—.

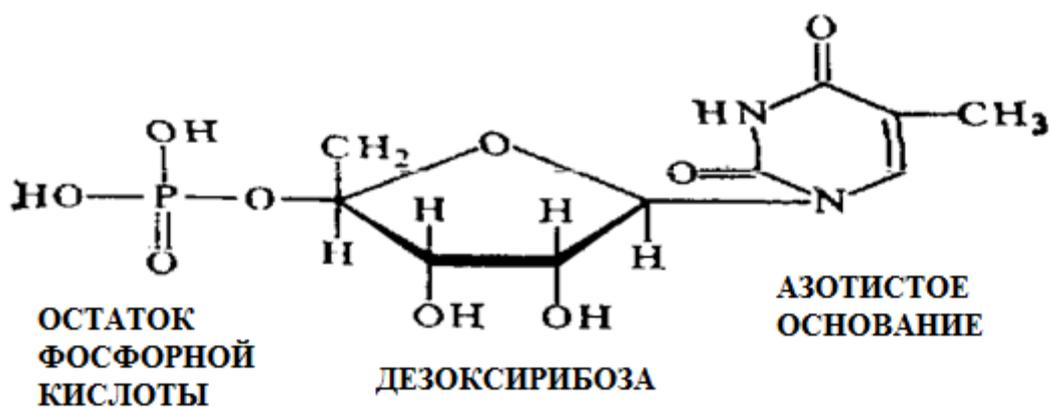
Сложные белки — протеиды — имеют в своем составе небелковый компонент. В зависимости от его природы различают: нуклеопротеиды (небелковая часть — нуклеиновая кислота), липопротеиды (небелковая часть — липиды), глюкопротеиды (небелковая часть — углевод), металлопротеиды

(небелковая часть — металл).

Благодаря присутствию в полипептидах кислых и основных групп, белки обладают амфотерными свойствами. К числу функциональных групп кислого характера относятся концевая карбоксильная группа —COOH пептидной цепи и группы —SH, —OH, —COOH, присущие радикалам. Основной характер имеют концевая аминогруппа —NH<sub>2</sub>, амино- и некоторые другие группы радикалов. В водных растворах эти группы ионизированы, в результате чего молекула белка приобретает отрицательный или положительный заряд. Степень ионизации зависит от значения pH. При изменении величины pH пептиды могут действовать либо как доноры, либо как акцепторы иона -водорода, обеспечивая таким образом буферность системы. Значение pH, при котором степень ионизации кислых и основных групп одинакова и заряд белковой молекулы равен нулю, называется *изоэлектрической точкой*. Каждому белку присуще определенное значение pH, при котором наступает изоэлектрическое состояние. В изоэлектрической точке белки наиболее легко осаждаются.

Под влиянием высокой температуры, экстремальных значений pH и других факторов полипептидная цепь может раскручиваться без нарушения пептидных связей. Такой процесс называют *денатурацией*. Денатурированный белок теряет свою *биологическую* активность.

Нуклеиновые кислоты. *На* долю *нуклеиновых кислот*, ДНК и РНК, в клетках различных микроорганизмов приходится 5—30% массы сухого вещества. «Строительными блоками» нуклеиновых кислот служат мононуклеотиды. Мононуклеотиды ДНК имеют в составе одно из пуриновых (аденин, гуанин) или пиримидиновых (тимин, цитозин) оснований, сахар, дезоксирибозу и остаток фосфорной кислоты:



Молекула ДНК представляет собой полимер, построенный из сотен и тысяч мононуклеотидов четырех типов, связанных в различной последовательности. Именно этой последовательностью определяется смысл генетической информации, которую несет молекула ДНК.

Молекула ДНК состоит из двух нитей полинуклеотидов, закрученных в виде спирали одна вокруг другой. Азотистые основания расположены внутри спирали, и нити связаны между собой водородными мостиками, образованными между азотистыми основаниями, обращенными друг к другу. При этом против аденинового нуклеотида одной нити всегда встает тиминный нуклеотид другой нити, а гуанин соединяется только с цитозином. Это объясняется геометрическим соответствием их молекул и возможностью образования вследствие этого водородных связей. Такие основания называются *комплементарными*.

В процессе репликации (удвоения) молекулы ДНК спираль расплетается и на обеих нитях разошедшейся спирали синтезируются дочерние нити в полном соответствии с информацией, заложенной в нитях исходной молекулы ДНК.

Клетки прокариот имеют только одну молекулу ДНК, молекулярная масса ее более  $2 \cdot 10^9$ , а длина может превышать 1 мм. Так, у *Escherichia coli* длина молекулы ДНК составляет 1,53 мм.

РНК отличается от ДНК прежде всего структурой молекулы, представляющей собой не двойную, а одинарную спираль нуклеотидов. Кроме того, вместо дезоксирибозы РНК содержит похожую на нее

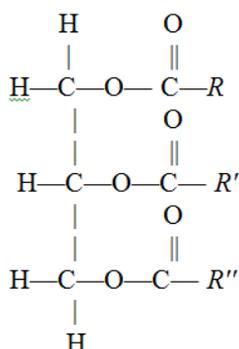
сахарорибозу, а вместо тимина — похожее на него азотистое основание урацил. По сравнению с ДНК молекулярная масса РНК существенно ниже и колеблется в пределах от десятков тысяч до миллионов.

Клетки содержат три вида рибонуклеиновой кислоты: информационную (иРНК), транспортную (тРНК) и рибосомную (рРНК). иРНК синтезируется на нитях ДНК. При этом информация, заложенная в ДНК, как бы «переписывается» на молекулы иРНК, синтезирующиеся по принципу комплементарности. иРНК поступают в рибосомы, т. е. к месту синтеза белка, и прикрепляются к ним. Туда же с помощью тРНК поступают аминокислоты. В результате контакта иРНК и тРНК с захваченной аминокислотой в рибосоме синтезируются молекулы белка. Рибосомы и **рРНК**, по-видимому, обеспечивают правильность взаимного расположения компонентов синтеза.

Липиды. Липиды (жиры и жироподобные вещества) — органические соединения нерастворимые в воде, но растворимые в органических неполярных растворителях таких, как эфир, бензол, хлороформ.

Липиды в клетках большинства микроорганизмов составляют 2-15% сухой массы. Лишь у кислотоустойчивых бактерий и у некоторых видов грибов и дрожжей количество жиров может достигать 40%. В связанном состоянии жиры находятся в цитоплазматической мембране. В свободном состоянии жиры играют роль запасных веществ и служат источниками энергии.

Истинные жиры представляют собой сложные эфиры глицерина и высших жирных кислот с общей формулой:



Остатки жирных кислот, входящие в состав жиров, содержат четное число атомов углерода (12—22) и могут быть насыщенными или ненасыщенными, относиться к одному или разным типам кислот. В общей молекулярной массе жиров основную долю составляют остатки жирных кислот вследствие чего свойства этих жиров в первую очередь определяются *свойствами жирных кислот*. Именно они придают жирам гидрофобность.

Важнейшими жироподобными веществами являются фосфо- и гликолипиды. Фосфолипиды или глицерофосфаты, обладающие большой физиологической активностью, отличаются от истинных жиров тем, что один из остатков жирных кислот заменен и в них фосфорной кислотой, соединенной эфирной связью с каким-либо спиртом. Гликолипиды содержат в своем составе углеводы.

К числу неомыляемых жиров, содержащихся в клетках микроорганизмов, относятся стероиды, жирорастворимые витамины и некоторые пигменты, например, каротиноиды.

**Углеводы.** В клетках бактерий на долю углеводов приходится 12—30% сухого вещества, в клетках грибов—до 40--60%. Углеводы принимают участие в синтезе белков и жиров, входят в состав структурных компонентов клетки и служат источником энергии в клетке.

Эмпирическая формула углеводов  $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_n)$ . Углеводы делятся на простые сахара, олигосахариды и полисахариды. Из простых сахаров наибольшее значение для живых организмов имеют гексозы (в частности, глюкоза) и пентозы (*например, рибоза и дезоксирибоза*). Среди *олигосахаридов* наиболее важны дисахариды (состоящие из двух молекул простых сахаров): сахароза, мальтоза, целлобиоза, лактоза.

Большинство углеводов, встречающихся в природе, существует в форме высокомолекулярных полисахаридов. По химическому составу полисахариды подразделяют на пептозаны (мономер пентоза), гексозаны (мономер гексоза) и смешанные полисахариды, имеющие в своем составе различные сахара. К пентозанам относятся гемицеллюлозы: к гексозанам —

декстраны, состоящие из остатков глюкозы и часто встречающиеся в клетках дрожжей и бактерий, а также целлюлоза, крахмал и гликоген.

По функциональному назначению различают структурные и резервные полисахариды. Важнейший структурный компонент зеленых водорослей — целлюлоза. У бактерий жесткий каркас клеточной стенки образуется в результате ковалентного связывания параллельных полисахаридных цепей короткими поперечными пептидными цепями. Полисахариды входят в состав капсул бактерий и выделяются микроорганизмами в виде слизи.

К числу основных резервных полисахаридов относятся крахмал, гликоген и декстрины.

## 1.5. ФЕРМЕНТЫ

### 1.5.1. Природа ферментов и особенности ферментативного катализа

Ферменты, или энзимы, составляют самый крупный и наиболее высокоспециализированный класс белковых молекул. Ферменты синтезируются самой клеткой и выполняют в ней функции катализаторов биохимических реакций.

Катализаторами называются вещества, которые, участвуя в реакции, изменяют ее скорость, но сами к концу реакции остаются химически неизменными. На рис. 5.1 представлена Энергетическая схема некатализируемой и катализируемой реакций. Химическое взаимодействие молекул происходит только в результате их столкновения при условии, что в этот момент они обладают некоторым избытком свободной энергии  $G$ , достаточным для перехода их в активированное (переходное) состояние. Скорость реакции пропорциональна концентрации активированных молекул. Сущность действия катализатора состоит в том, что он, связывая реагирующие вещества, приводит к появлению нового переходного состояния, для которого свободная энергия активации  $G$  существенно ниже, чем в некатализируемой реакции. Следует отметить, что введение катализатора не отражается на суммарном энергетическом эффекте реакции  $\Delta G$  и не изменяет состояния равновесия в реагирующей системе.

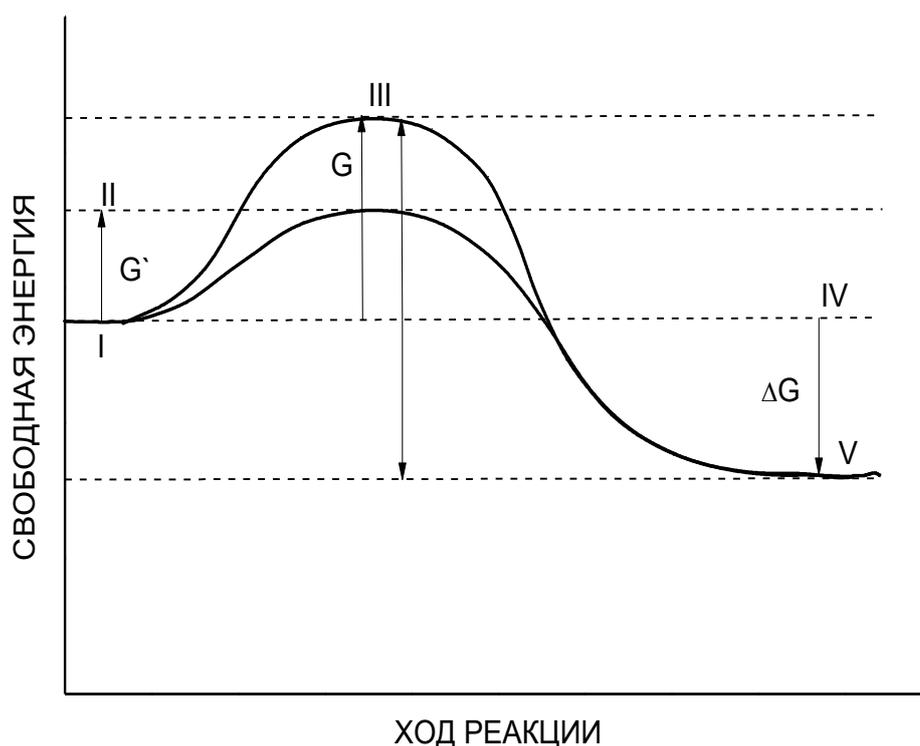


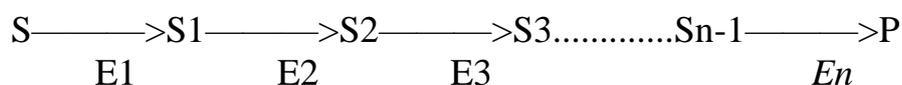
Рис. 5.1. Энергетическая схема некатализуемой и катализуемой реакций: I — начальное состояние; II — свободная энергия активации катализуемой реакции, III — то же, некатализуемой реакции; IV — полное изменение свободной энергии в ходе реакции; V — конечное состояние.

Катализ называют *гомогенным*, если катализатор и реагирующие вещества находятся в одной фазе, и *гетерогенным*, если они образуют две фазы.

Ферментативный катализ обычно рассматривают как катализ гетерогенный, происходящий на поверхности гигантских белковых молекул ферментов. Подчиняясь общим закономерностям каталитических процессов, ферментативный катализ имеет ряд существенных отличий от химического катализа. Прежде всего, ферментативный катализ протекает в живой клетке в ограниченном диапазоне температур, значений pH и давления. В большинстве случаев условия, в которых ферменты осуществляют катализ, оказываются достаточно «мягкими». Одна из важнейших особенностей

ферментов как катализаторов — строгая специфичность их действия. Под специфичностью понимают способность фермента реагировать только с одним веществом (**абсолютная специфичность**); с группой веществ, обладающих общими структурными признаками (**групповая специфичность**); действовать на определенную химическую связь (**относительная специфичность**) или определенный стереоизомер (**стереохимическая специфичность**).

*Многие* ферменты образуют в клетке так называемые мультиферментные системы, различающиеся по сложности молекулярной организации. Процесс превращения вещества с участием системы ферментов представляет собой серию последовательных реакций, каждую из которых катализирует определенный фермент. При этом продукт первой реакции служит субстратом для второй, продукт второй реакции — субстратом для третьей и т. д. Превращение субстрата *S* в продукт *P* в простейшей мультиферментной системе ( $E_1—E_n$ ) иллюстрируется следующей схемой:



Такая кооперативность и строгая последовательность в действии ферментов определяют их самое существенное отличие от катализаторов иной природы.

Каждая клетка имеет регуляторные механизмы, позволяющие ей в зависимости от потребностей изменять скорость отдельных биохимических реакций в результате регуляции синтеза определенных ферментов или их активности. Способность подчиняться такой регуляции — крайне важная особенность ферментов как катализаторов.

Каталитическая активность ферментов чрезвычайно высока. Химическая реакция разложения пероксида водорода катализируется ионами железа. В живой клетке под воздействием фермента каталазы, содержащего железо, эта реакция протекает в  $10^{10}$  раз быстрее, чем с неорганическим катализатором.

### 1.5.2. Структура, механизм действия и свойства ферментов

Ферменты делятся на одно- и двухкомпонентные. Первые представляют собой простые белки, вторые — сложные белки.

Каталитическая активность однокомпонентных ферментов обусловлена определенным пространственным расположением остатков аминокислот на отдельных участках молекулы фермента — активных центрах. Именно на них и протекают каталитические реакции. *Активные* центры реагируют только с тем субстратом, пространственная конфигурация которого совпадает со структурой активного центра.

Большинство ферментов относится к двухкомпонентным. *Их* молекула состоит из белковой части — *апофермента* и небелкового компонента — *кофактора*. В зависимости от прочности связи с апоферментом кофактор называют *простетической группой*, если он прочно связан с белком, или *коферментом*, если эта связь слабая. Каталитической активностью обладает только кофактор, роль которого часто выполняют сложные органические комплексы, например, некоторые витамины. Апофермент усиливает каталитическую активность кофакторов и определяет специфичность действия ферментов. Один и тот же кофактор, связываясь с разными белками, может катализировать определенную реакцию, например, отщепление водорода, с десятками различных субстратов.

Ферментативная реакция проходит через ряд последовательных стадий. В начальный момент фермент  $E$  образует с молекулой субстрата  $S$  промежуточное соединение — фермент-субстратный комплекс  $ES$ . На последующих стадиях фермент активизирует субстрат, т. е. изменяет его таким образом, что субстрат может вступить в соответствующую химическую реакцию. Этому моменту соответствует образование каталитически активного комплекса  $ES'$ . Далее происходит собственно реакция на молекуле фермента, в результате которой получается фермент-продуктный комплекс  $EP$ . Процесс заканчивается выделением продукта реакции  $P$  и регенерацией фермента:



Такой механизм действия ферментов подтвержден экспериментально.

Белковая природа ферментов обуславливает их лабильность, которая выражается в том, что ферменты теряют активность под влиянием некоторых факторов. Важнейшие из них — температура и реакция среды. Зависимость активности ферментов от температуры носит сложный характер (рис. 5.2). С повышением температуры активность увеличивается, но в довольно узких пределах. Максимальная активность достигается в области оптимальной температуры, после чего начинается падение активности, связанное с денатурацией белковой части фермента при повышенных температурах и потерей в результате этого каталитической активности. Оптимальная температура, как и температура, вызывающая инактивацию, для разных ферментов неодинакова. Одни ферменты начинают терять активность уже при 40°C, другие — только при 70°C. Почти все ферменты необратимо разрушаются при 80°C.

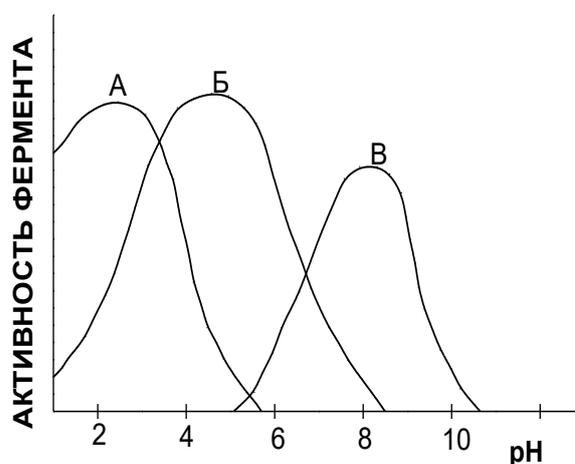
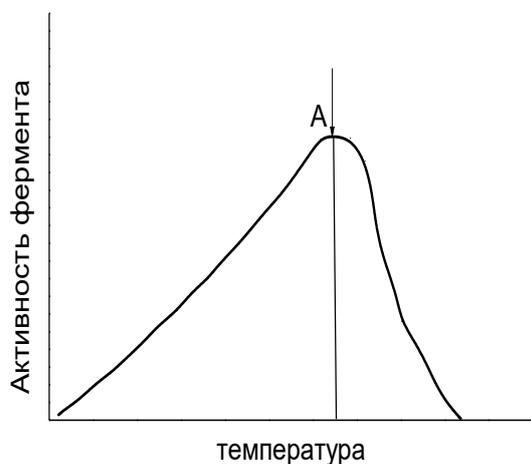


Рис. 5.2. Влияние температуры на активность ферментов (точка А — оптимальная температура)  
 Рис. 5.3. Влияние pH на активность ферментов: А- пепсин; Б- сахароза; В- трипсин

Большинство ферментов имеют максимальную активность в нейтральной среде, но для некоторых оптимум pH может находиться и

кислой или щелочной области значений. Для каждого фермента характер зависимости активности от рН определяется степенью влияния концентрации водородных и гидроксильных ионов на ионизацию функциональных групп фермента и субстрата и структуру апофермента (рис. 5.3).

Активность ферментов зависит и от присутствия в среде некоторых химических соединений. Одни повышают активность ферментов и называются *активаторами*, другие — *ингибиторы* — снижают активность фермента. Различают обратимое и необратимое ингибирование. При необратимом ингибировании фермент полностью или частично теряет активность в результате необратимого разрушения или модификации его функциональных групп.

Обратимое ингибирование может быть конкурентным и неконкурентным. В первом случае ингибитор (I) по структуре молекулы напоминает субстрат и может взаимодействовать с активным центром фермента, т. е. конкурировать за него с субстратом. При этом степень ингибирования зависит от соотношения концентраций субстрата и ингибитора, и поэтому действие ингибитора может быть снижено или устранено повышением концентрации субстрата. Схема действия конкурентного ингибитора показана на рис. 5.4. Классическим примером конкурентного ингибирования служит конкуренция между янтарной (субстрат) и малоновой

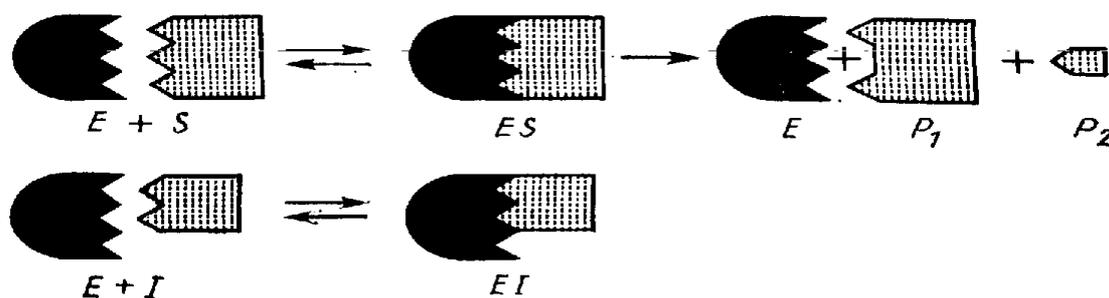


Рис. 5.4. Схема действия конкурентного ингибитора (ингибитор) кислотами, между *n*-аминобензойной кислотой (субстрат) и стрептоцидом (ингибитор):



В основе неконкурентного ингибирования лежит способность ингибитора взаимодействовать с какой-либо группой молекулы фермента, существенно влияющей на его активность, но не входящей в активный центр.

Кроме упомянутых видов ингибирования возможно торможение ферментативной реакции, наблюдаемое при избыточной концентрации субстрата (субстратное ингибирование). В этом случае в результате реакции фермента одновременно с двумя молекулами субстрата образуется неактивный фермент-субстратный комплекс.

Ингибирование конечным продуктом осуществляется регуляторным механизмом клетки по типу обратной связи, заключается в подавлении синтеза ферментов, катализирующих реакцию, продукт которой оказывается в клетке в избытке.

Каждому виду микроорганизмов свойствен определенный набор ферментов, постоянно присутствующих в клетке (*конститутивные ферменты*). В то же время некоторые ферменты синтезируются клеткой только тогда, когда в среде появляется соответствующий субстрат. Такие ферменты называются *индуктивными*. По месту действия ферменты подразделяют на внутриклеточные (*эндоферменты*) и ферменты, которые клетка выделяет во внешнюю среду (*экзоферменты*). Экзоферменты необходимы большинству прокариот.

### 1.5.3. Классификация ферментов

В период открытия первых ферментов названия им давались по случайным признакам. Например, пепсин, обнаруженный в желудочном соке, получил свое название от греческого слова «пепсис» — пищеварение. Позднее Дюкло предложил ввести рациональную номенклатуру, где ферменты назывались по субстрату, на который они действуют, с прибавлением суффикса «аза». Так, фермент, разлагающий сахарозу, назывался сахараза, фермент, разлагающий мочевины (urea), — уреазы и т. д. Однако расширение знаний о ферментах показало, что такая номенклатура зачастую оказывается неоднозначной, так как различные реакции с одним и тем же субстратом могут катализировать разные *ферменты*. В настоящее время известно около 1000 ферментов.

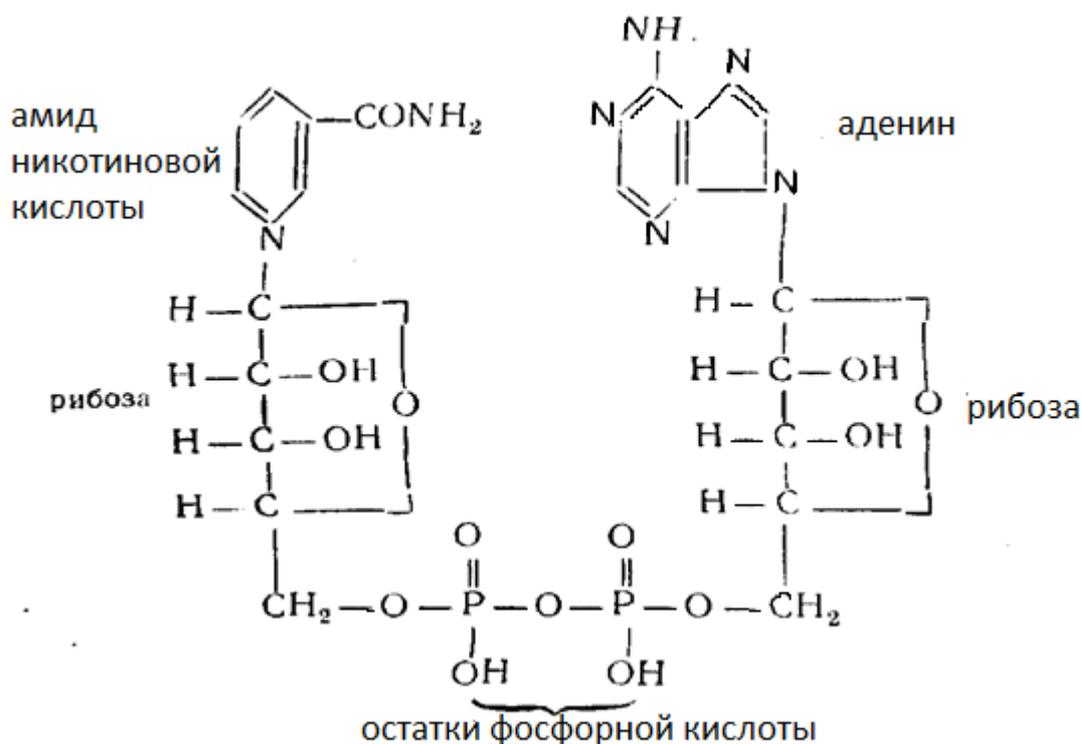
В 1961 г. Международный биохимический конгресс принял новые классификацию и номенклатуру ферментов, построенные строго на научных принципах. Согласно этой классификации все ферменты по типу катализируемой реакции делятся на шесть классов. Классы, в свою очередь, подразделяют на подклассы и подклассы с порядковой нумерацией. Каждый фермент имеет четырехзначный шифр с номерами класса, подкласса, подподкласса; последняя цифра соответствует номеру фермента в соответствующем подподклассе. Систематическое название фермента несет химическую информацию, однако часто оказывается чересчур громоздким, поэтому в повседневной практике чаще используют тривиальные названия ферментов.

В приведенной ниже характеристике классов наибольшее внимание уделено ферментам, ознакомление с которыми необходимо для понимания сущности процессов разложения органических веществ микроорганизмами.

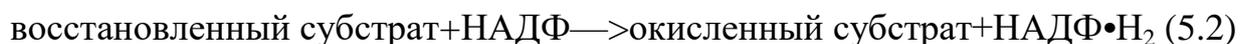
1. **Оксиредуктазы** ускоряют окислительно-восстановительные реакции, осуществляя перенос электронов или атомов водорода ( $e^- + H^+$ ) от окисляемого субстрата (донора электрона) к акцептору, который при этом восстанавливается.

В переносе электронов от субстрата к конечному акцептору принимают участие четыре главные группы оксиредуктаз: *первичные дегидрогеназы, вторичные дегидрогеназы, цитохромы, хиноны.*

Биологическое окисление органических веществ в клетке — процесс сложный и многостадийный, в котором участвует комплекс ферментов. Окисление осуществляется путем дегидрирования органического соединения. Процесс катализируют ферменты, носящие название дегидрогеназ. Коферментом для первичных дегидрогеназ служат никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ):



Соединяясь с различными белковыми носителями, НАД и НАДФ образуют множество ферментов, катализирующих реакцию дегидрирования разнообразных веществ. В общем виде окислительно-восстановительные реакции с участием первичных дегидрогеназ можно представить следующими уравнениями:



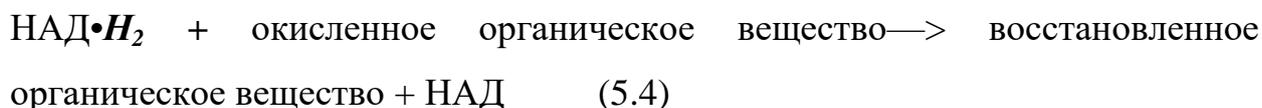
Первичные дегидрогеназы называют анаэробными, так как они не

могут передавать отнятый от субстрата водород непосредственно кислороду.

Вторичные дегидрогеназы в качестве кофермента содержат флавинадениндинуклеотид (ФАД) или флавинаденин-моноклеотид (ФМН). Активной частью ФАД и ФМН является рибофлавин (витамин В2), непосредственно участвующий в окислительно-восстановительных реакциях. Вторичные дегидрогеназы катализируют дегидрирование жирных кислот, аминокислот. Донором водорода для них, т. е. восстановленным субстратом, могут служить и восстановленные первичные дегидрогеназы. В этом случае окислительно-восстановительная реакция имеет вид



и представляет собой один из вариантов регенерации первичной дегидрогеназы. Кроме реакции (5.3) регенерация первичных дегидрогеназ может происходить при их взаимодействии с окисленным органическим веществом по схеме:



Таким образом, конечным акцептором водорода для первичных дегидрогеназ служат либо ФАД и ФМН, либо окисленные органические вещества.

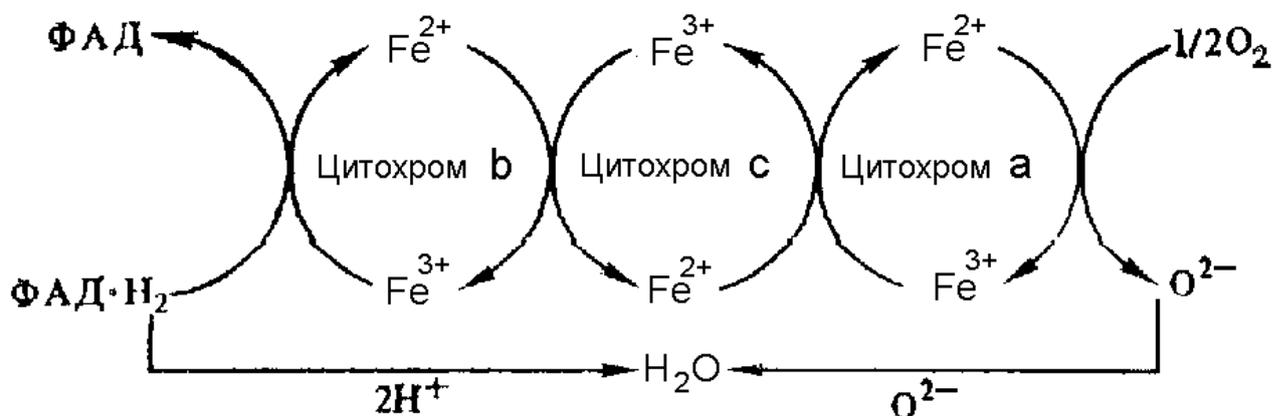


Рис. 5.5. Схема передачи электронов по цитохромной системе

Вторичные дегидрогеназы могут передавать водород непосредственно кислороду, поэтому носят название аэробных. Однако в большинстве случаев

восстановленные формы флавиновых дегидрогеназ в качестве конечного акцептора используют группу окислительно-восстановительных ферментов, составляющих *цитохромную систему*. Цитохромы содержат железопорфириновые простетические группы и способны переносить электроны от ФАД•Н<sub>2</sub> к молекулярному кислороду за счет обратимого изменения валентности атома железа. Непосредственно с кислородом может реагировать только последний в цепи цитохром, называемый *цитохромоксидазой*. Схема передачи электронов по цепи цитохромов показана на рис. 5.5. Одновременно через раствор кислороду передается ионизированный атом водорода.

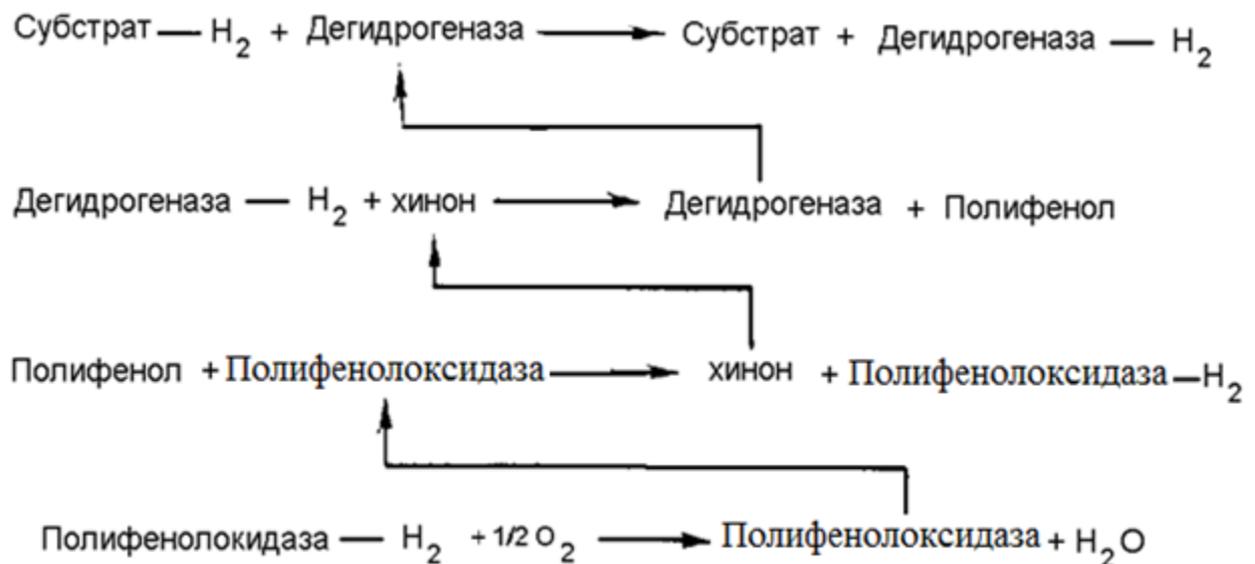


Рис. 5.6. Схема передачи водорода в полифенольной системе

Хиноны, способные к обратимому окислительно-восстановительному процессу в результате присоединения и отдачи атомов водорода, могут участвовать в передаче электронов от флавиновых дегидрогеназ на цитохромную систему и функционировать в полифенольной системе (рис. 5.6). Совокупность оксиредуктаз, участвующих в транспорте водорода (электрона) от исходного субстрата к конечному акцептору, составляет дыхательную цепь ферментов, длина которой зависит от вида микроорганизмов. Важнейшее значение имеет структурная организация системы окислительно-восстановительных ферментов. В клетках эукариот

она локализована на внутренней мембране митохондрий. Системы оксиредуктаз прокариот обнаруживаются в цитоплазматической мембране и на внутриклеточных мембранных образованиях.

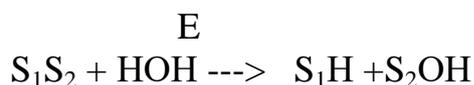
Помимо описанных ферментов к классу оксиредуктаз относятся *каталаза*, расщепляющая токсичный для клетки пероксид водорода по схеме:



и *пероксидаза*, катализирующая реакции окисления органических веществ пероксидами.

**2. Трансферазы** катализируют перенос функциональных групп, ферменты этого класса подразделяют в зависимости от характера переносимой группы. К трансферазам относят очень распространенные и важные для клетки ферменты — *фосфоферазы*, катализирующие перенос остатка фосфорной кислоты. Благодаря этой реакции в клетке целый ряд органических соединений превращается в фосфорные эфиры с повышенной химической активностью и поэтому легко вступает в последующие реакции.

**3. Гидролазы** катализируют реакции гидролитического расщепления сложных органических субстратов:



В зависимости от химической природы связи, на которую действуют гидролазы, различают *эстеразы*, осуществляющие гидролиз сложных эфиров; *гликозидазы*, действующие на гликозидные связи углеводов; *пептидазы*, катализирующие гидролиз белков по пептидным *связям*, и т. д.

У прокариот многие гидролазы относятся к внеклеточным ферментам.

**4. Лиазы** катализируют негидролитическое отщепление атомных группировок с образованием двойных связей или присоединение по месту этих связей. Действуют на связи типа C-C, C=N, C-O и т.д.

**5. Изомеразы** катализируют внутримолекулярные превращения, например, превращение одного изомера в другой.

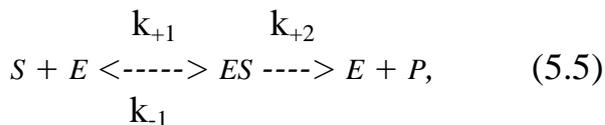
**6. Лигазы** (синтетазы) катализируют синтез сложных органических

соединений.

#### 1.5.4. Кинетика ферментативных реакций

Под ферментативной кинетикой понимают зависимость скорости реакции от концентрации фермента и субстрата и условий их взаимодействия таких, как температура, реакция среды, наличие активаторов и ингибиторов и т. д.

В упрощенном виде реакция превращения субстрата  $S$  в продукт  $P$  при участии фермента  $E$  записывается следующим образом:



где  $k_{+1}$ ,  $k_{-1}$  — константы скоростей прямой реакции образования комплекса  $ES$  и обратной реакции его диссоциации;  $k_{+2}$  — константа скорости образования конечного продукта.

Живая клетка—это открытая система с непрерывным поступлением и удалением веществ, характеризующаяся постоянством скоростей биохимических изменений. Такое состояние системы называется стационарным. Организм в целом или отдельные его части всегда находятся в стационарном состоянии или в периоде перехода от одного стационарного состояния к другому.

Применительно к рассматриваемой реакции условием стационарности процесса служит постоянство концентрации фермент-субстратного комплекса.

Принимая во внимание скорости образования, диссоциации и распада комплекса  $ES$ , представим это условие в следующем виде:

$$\Sigma d[ES]/dt = k_{+1}[E][S] - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES] = 0. \quad (5.6)$$

Обозначим общую концентрацию фермента в системе  $E_0$  и выразим концентрацию его  $[E]$  в любой момент времени  $[E] = [E_0] - [ES]$ . Подставив значение  $[E]$  в выражение (5.6), получим

$$k_{+1}[E_0][S] - k_{+1}[ES][S] - k_{-1}[ES] - k_{+2}[ES] = 0,$$

откуда

$$[ES] = \frac{[E_0] \cdot [S]}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + [S]}. \quad (5.7)$$

Обозначив  $((k_{-1})+(k_{+2}))/k_{+1} = K_m$ ,

получим следующее выражение для концентрации комплекса [ES]:

$$[ES] = \frac{[E_0] \cdot [S]}{K_m + [S]}. \quad (5.8)$$

Скорость  $v$  образования конечного продукта определяется скоростью распада фермент-субстратного комплекса:

$$v = k_{+2} [ES]. \quad (5.9)$$

Подставляя в уравнение (5.9) значение [ES] для уравнения (5.8), получим уравнение (5.10):

$$v = \frac{k_{+2} \cdot [E_0] \cdot [S]}{K_m + [S]}. \quad (5.10)$$

Уравнение (5.10) является основным уравнением стационарной кинетики ферментативных реакций и называется уравнением Михаэлиса — Ментен, экспериментально доказавшим применимость его ко многим ферментативным процессам. Соотношение констант (5.7), обозначаемое  $K_m$ , называется константой Михаэлиса — Ментен.

Максимальная скорость реакции  $v_{max}$  достигается при такой концентрации субстрата, когда весь фермент связан в фермент-субстратный комплекс, т. е.  $[E_0]=[ES]$  и  $V_{max} = k_{+2} [ES] = k_{+2}[E_0]$ . Тогда уравнение (5.10) можно выразить:

$$v = \frac{v_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}. \quad (5.11)$$

В частном случае  $v = v_{max} / 2$ . При этом условии  $K_m = [S]$ . Таким образом, константа Михаэлиса численно равна такой концентрации субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимального значения.  $K_m$  имеет размерность в молях на литр (моль/л) и не имеет определенного

значения для каждого фермента, так как зависит и от структуры субстрата. На величину  $K_m$  влияют температура и значение pH.

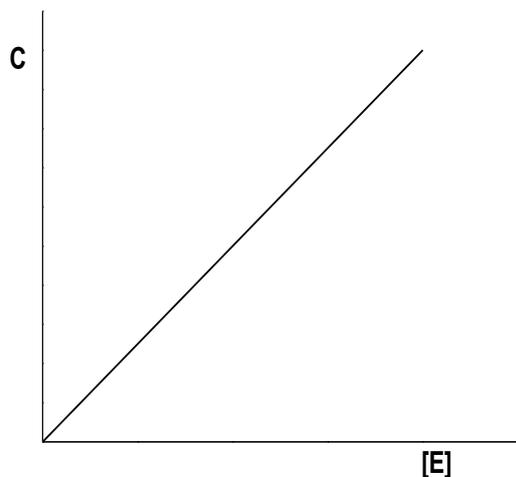


Рис. 5.7. Зависимость скорости ферментативной реакции  $v$  от концентрации фермента  $[E]$

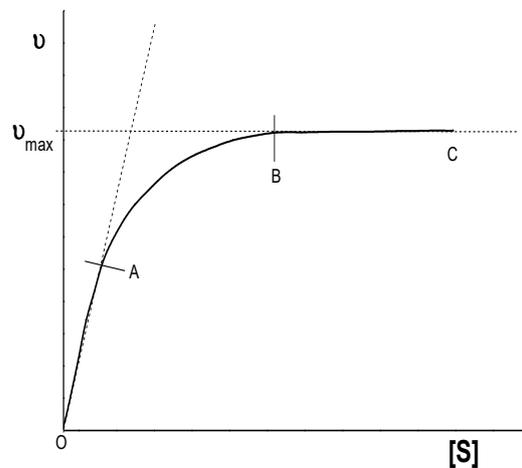


Рис. 5.8 Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата  $[S]$ ; OA— реакция первого порядка BC - реакция нулевого порядка

Анализ уравнения (5.10) показывает, что при условии  $[S] \gg [E_0]$  скорость ферментативной реакции линейно возрастает с увеличением концентрации фермента (рис. 5.7). Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата имеет гиперболический характер (рис. 5.8). При низких концентрациях субстрата, когда соблюдается условие  $[S] \ll K_m$ , можно принять, что  $K_m + [S] = K_m$ . Поэтому

$$v = \frac{k_{+2} \cdot [E_0] \cdot [S]}{K_m}, \quad (5.12)$$

т. е. скорость реакции пропорциональна концентрации субстрата (реакция первого порядка). Когда  $[S] \gg K_m$ , то  $K_m + [S] = [S]$  и  $v = k_{+2}[E_0] = v_{max}$ .

Таким образом, при некоторой концентрации субстрата скорость реакции достигает постоянного максимального значения и становится не зависящей от концентрации субстрата (реакция нулевого порядка). В переходной зоне от момента нарушения линейной зависимости  $v$  от  $[S]$  до достижения максимальной скорости реакция имеет смешанный порядок.

Так как зависимость скорости реакции от концентрации субстрата выражается гиперболической функцией, практическое определение величин  $K_m$  и  $v_{max}$  затруднительно. Лайнуивером и Берком предложен один из способов определения этих величин путем линеаризации уравнения (5.11) и приведения его к виду:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}} \quad (5.13)$$

При использовании уравнения (5.13) по экспериментальным данным строят график в координатах  $1/v - 1/[S]$ . Прямая линия, выражающая эту зависимость, отсекает на оси ординат отрезок, равный  $1/v_{max}$ , и имеет наклон, равный отношению  $K_m/v_{max}$ .

Присутствие в среде ингибитора I существенно влияет на кинетику ферментативной реакции. В случае обратимого конкурентного ингибирования, помимо комплекса ES, образуется комплекс IS и скорость реакции  $v$  описывается уравнением:

$$v_i = \frac{k_{+2} \cdot [E_0] \cdot [S]}{K_m + [S] + K_m \cdot \frac{[I]}{K_i}} \quad (5.14)$$

где  $K_i = [E][I] / [EI]$  — константа равновесия реакции фермента и ингибитора.

Таким образом, степень снижения скорости ферментативной реакции при конкурентном ингибировании определяется величиной  $K_m [I]/K_i$ .

При обратимом неконкурентном ингибировании ингибитор способен реагировать как с ферментом, так и с фермент-субстратным комплексом. Кинетика такой реакции подчиняется уравнению, полученному Холденом:

$$v_i = \frac{k_{+2} \cdot [E_0] \cdot [S]}{K_m + [S] \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})} \quad (5.15)$$

Величина  $(1+[I]/K_i)$  отражает снижение скорости реакции при увеличении концентрации ингибитора.

Наиболее наглядно процесс ингибирования и его характер

демонстрируются графиками Лайнуивера — Берка (рис. 5.9). При конкурентном ингибировании с повышением концентрации ингибитора увеличивается угол наклона прямой к оси абсцисс, но величина максимальной скорости остается постоянной.

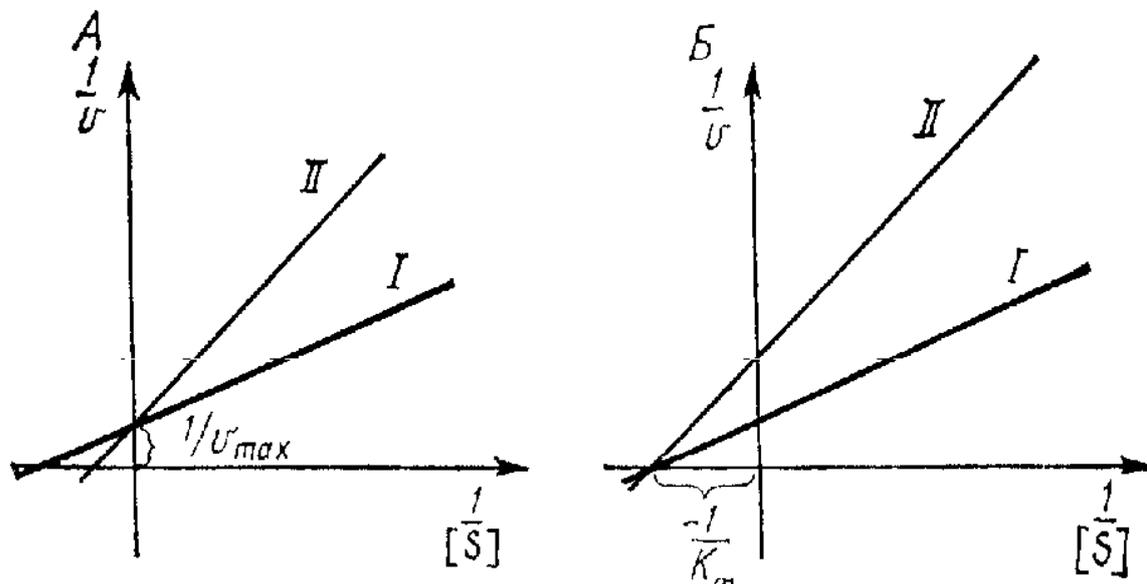


Рис. 5.9. Графики Лайнуивера — Берка

А — конкурентное ингибирование:

I — в отсутствие ингибитора наклон графика =  $K_m/V_{max}$ ; отсекаемый на оси абсцисс отрезок =  $-1/K_m$ ;

II — в присутствии ингибитора наклон графика =  $(1 + [I]/K_i)(K_m/V_{max})$ ; отсекаемый на оси абсцисс отрезок =  $-1/[K_m(1 + [I]/K_i)]$ ;

Б — неконкурентное ингибирование:

I — в отсутствие ингибитора отсекаемый на оси ординат отрезок =  $1/V_{max}$ ;

II — в присутствии ингибитора отсекаемый на оси координат отрезок =  $(1/V_{max})(1 + [I]/K_i)$

Аналогичный график для случая неконкурентного ингибирования отличается от графика неингибированной реакции не только наклоном прямой, но и отрезком, отсекаемым на оси ординат. Это показывает, что в присутствии неконкурентного ингибитора максимальная скорость реакции понижается и тем больше, чем выше концентрация ингибитора.

Основные положения ферментативной кинетики применяют и для

описания процессов биохимической очистки, хотя это *значительно более* сложный процесс, в котором участвует множество ферментов *и* субстратов.

## **1.6. МЕТАБОЛИЗМ МИКРООРГАНИЗМОВ**

### **1.6.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии**

Совокупность процессов превращения материи в живом организме, сопровождающихся постоянным ее обновлением, называется *обменом веществ* или *метаболизмом*.

Важнейшими свойствами живых организмов являются способность к самовоспроизведению и теснейшая взаимосвязь их с окружающей средой. Любой организм может существовать только при условии постоянного притока питательных веществ из внешней среды и выделения в *нее* продуктов жизнедеятельности (рис. 6.1).

Питательные вещества, поглощаемые клеткой, в результате сложных биохимических реакций превращаются в специфические клеточные компоненты. Совокупность биохимических процессов поглощения, усвоения питательных веществ и создания за их счет структурных элементов клетки называется *конструктивным обменом* или *анаболизмом*. Конструктивные процессы идут с поглощением энергии.

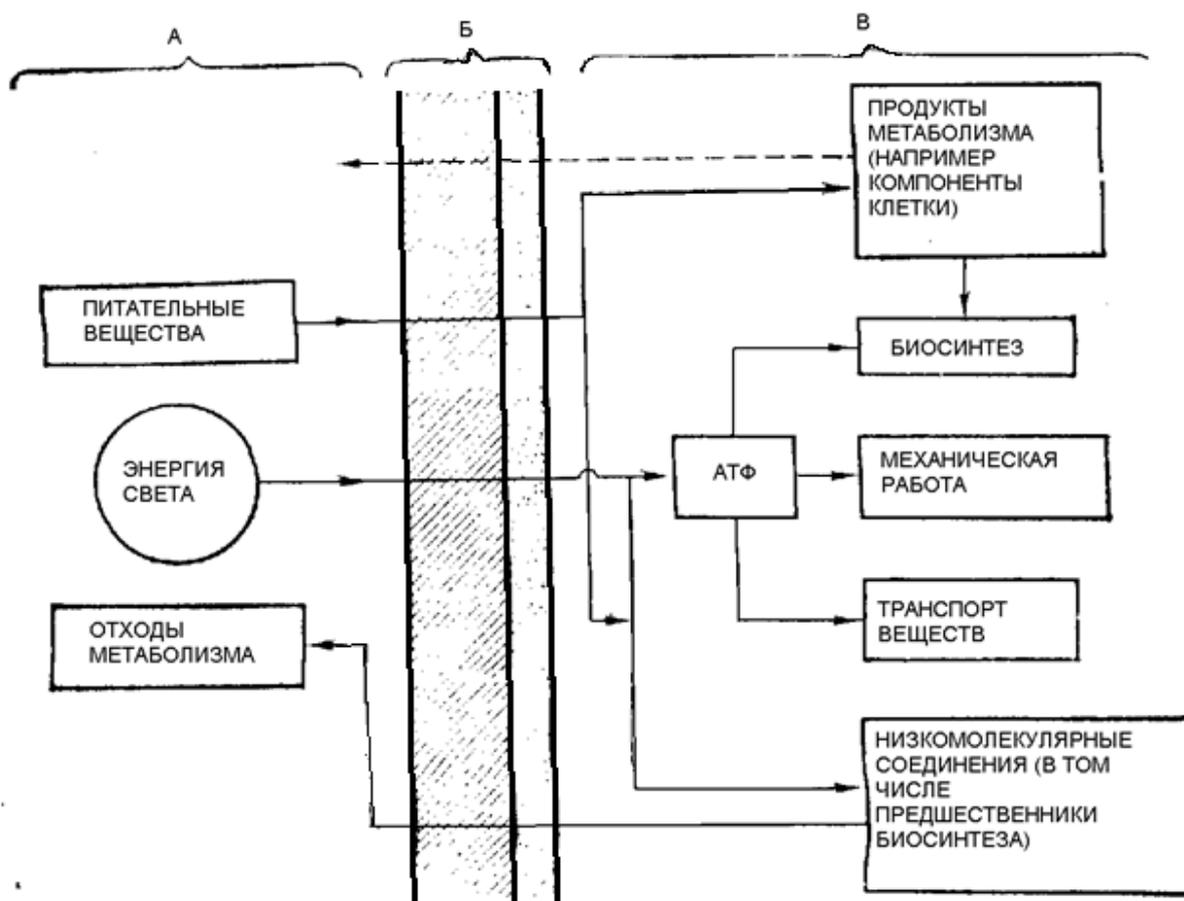


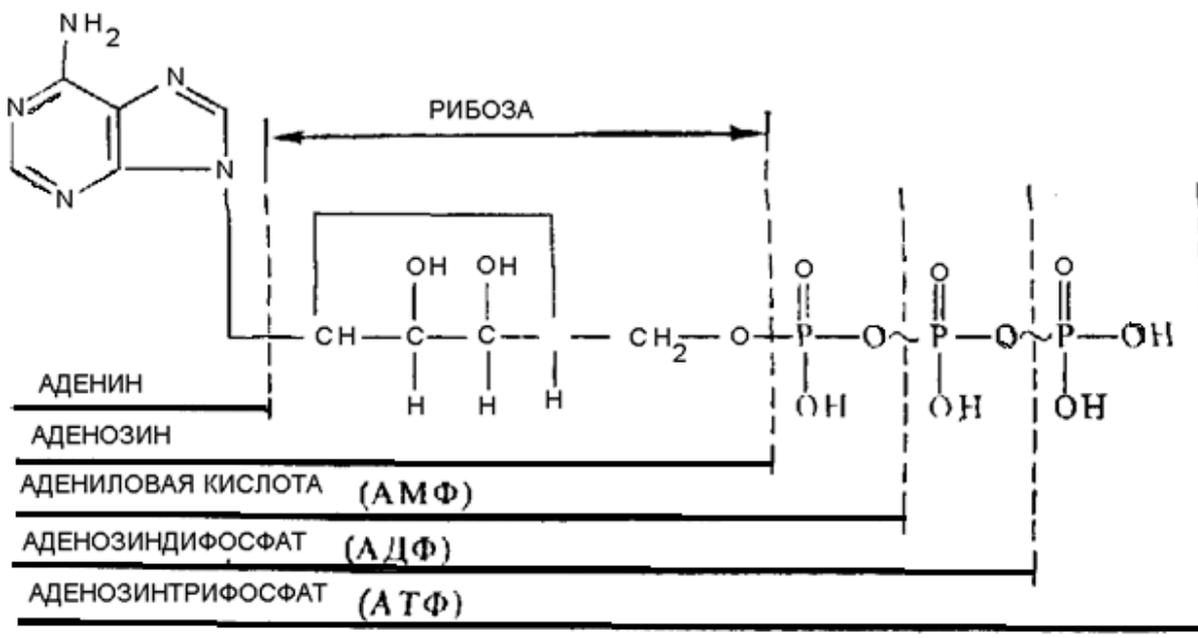
Рис. 6.1. Схема основных путей метаболизма у микроорганизмов  
 А — окружающая среда, Б — клеточная стенка и цитоплазматическая мембрана; В — цитоплазма

Энергию, необходимую для процессов биосинтеза и других клеточных функций таких, как движение, осморегуляция и т.д., клетка получает за счет потока окислительных реакций, совокупность которых представляет собой *энергетический обмен*, или *катаболизм* (рис. 6.1). Все живые организмы могут использовать только химически связанную энергию. Каждое вещество обладает определенным запасом потенциальной энергии. Главные материальные носители ее - химические связи, разрыв или преобразование которых приводит к освобождению энергии.

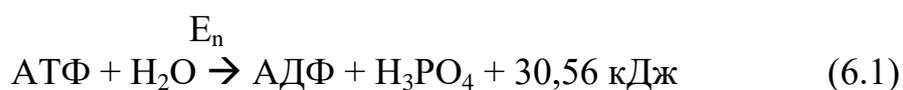
Энергетический уровень химических связей неодинаков. Для одних он имеет величину порядка 8—10 кДж. Такие связи называют нормальными. В других связях заключена значительно большая энергия - 25—40 кДж. Это так называемые *макроэргические* связи. Почти все известные соединения,

обладающие такими связями, включают атомы фосфора или серы, участвующие в образовании этих связей.

Важнейшую роль в жизнедеятельности клетки играет аденозинтрифосфорная кислота (АТФ). В состав ее молекулы входят аденин, рибоза и три остатка фосфорной кислоты:

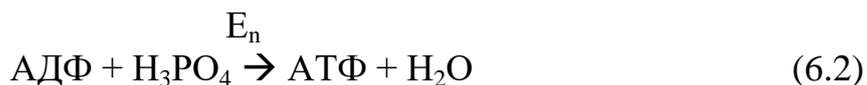


АТФ занимает центральное место в энергетическом обмене клетки. Макроэргические связи в молекуле АТФ (обозначены волнистой линией) очень непрочны. Гидролиз этих связей приводит к освобождению значительного количества свободной энергии:



Гидролиз протекает с участием специфических ферментов, обеспечивая энергией биохимические процессы, идущие с поглощением энергии. В этом случае АТФ играет роль поставщика энергии. Имея малый размер, молекула АТФ легко диффундирует в различные участки клетки.

Запас АТФ в клетках непрерывно возобновляется за счет реакций присоединения остатка фосфорной кислоты к молекуле аденозиндифосфорной кислоты (АДФ):



Синтез АТФ, как и гидролиз, идет при участии ферментов, но сопровождается поглощением энергии, способы получения которой у микроорганизмов хотя и разнообразны, но могут быть сведены к двум типам:

- 1) использование энергии света;
- 2) использование энергии химических реакций.

При этом тот и другой виды энергии трансформируются в энергию химических связей АТФ. Таким образом, АТФ выполняет *в клетке* роль трансформатора.

Анаболизм и катаболизм неразрывно связаны, составляя единое целое, поскольку продукты энергетического обмена (АТФ и некоторые низкомолекулярные соединения) непосредственно используются в конструктивном обмене клетки (рис. 6.1).

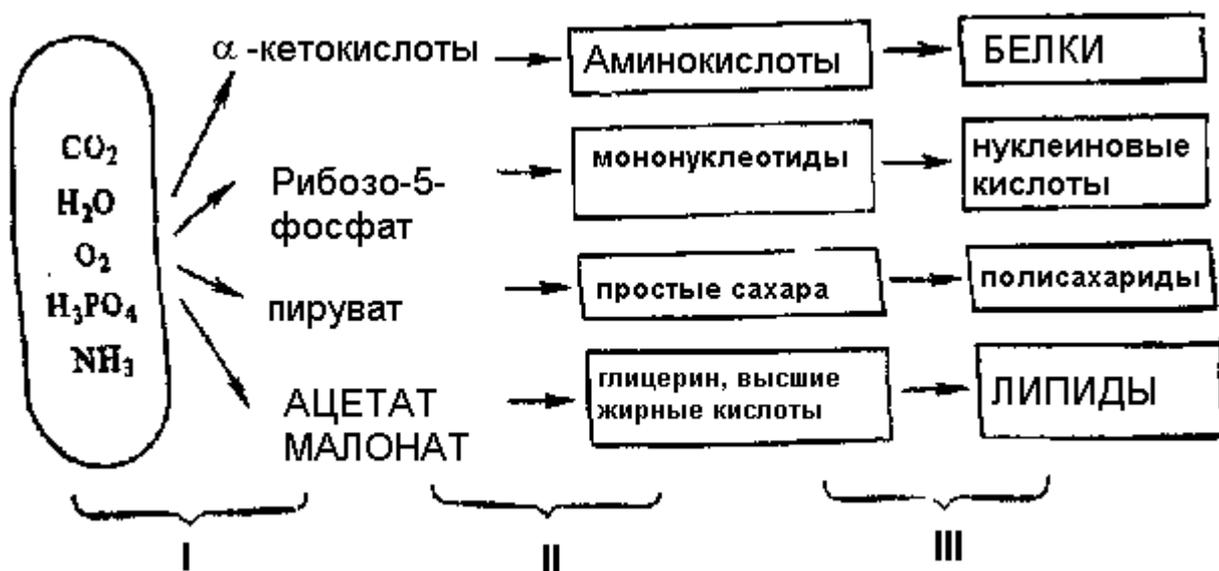
В клетках микроорганизмов соотношение между энергетическими и конструктивными процессами зависит от ряда конкретных условий, в частности, от характера питательных веществ. Тем не менее по объему катаболические реакции обычно превосходят биосинтетические процессы. Взаимосвязь и сопряженность этих двух видов метаболизма проявляется прежде всего в том, что суммарный объём конструктивных процессов полностью зависит от количества доступной энергии, получаемой в ходе энергетического обмена.

### **1.6.2. Конструктивный метаболизм**

Конструктивный метаболизм направлен на синтез четырех основных типов биополимеров: белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и липидов.

Ниже показана обобщенная условная схема биосинтеза сложных органических соединений, где выделены следующие основные этапы: образование из простейших неорганических веществ органических

предшественников (I), из которых на следующем этапе синтезируются «строительные блоки» (II). В дальнейшем строительные блоки, связываясь друг с другом ковалентными связями, образуют биополимеры (III):



Представленная схема биосинтетических процессов не отражает всей сложности превращения низкомолекулярных предшественников в строительные блоки с большой молекулярной массой. На самом деле синтез протекает как серия последовательных реакций с образованием разнообразных промежуточных продуктов метаболизма. Кроме того, уровни развития биосинтетических способностей микроорганизмов очень различны. У одних микробов конструктивный метаболизм включает все показанные на схеме этапы, у других ограничен вторым и третьим или только третьим этапом. Именно поэтому микроорганизмы резко отличаются друг от друга по своим пищевым потребностям. Однако элементный состав пищи одинаков для всех живых организмов и должен включать все компоненты, входящие в клеточное вещество (смотри раздел 1.4): углерод, азот, водород, кислород и др.

В зависимости от используемых в конструктивном обмене источников углерода микроорганизмы делятся на две группы: автотрофы и гетеротрофы.

**Автотрофы** (от греч. «autos» - сам, «trophe» — пища) в качестве единственного источника углерода используют диоксид углерода и из этого

простого неорганического соединения-предшественника синтезируют все необходимые биополимеры. Способность к биосинтезу у автотрофов самая высокая.

**Гетеротрофы** (от греч. «heteros» — другой) нуждаются в органических источниках углерода. Их пищевые *потребности* чрезвычайно разнообразны. Одни из них питаются продуктами жизнедеятельности других организмов или используют отмершие растительные и животные ткани. Такие микроорганизмы называются **сапрофитами** (от греч. «sapos» — гнилой и «phyton» — растение). Число органических соединений, используемых ими в качестве источников углерода, чрезвычайно велико — это углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты и т. д. Практически любое природное соединение может быть использовано тем *или* иным видом микроорганизмов в качестве источника питания или энергии.

Вторую группу *гетеротрофных организмов составляют паразиты*, развивающиеся в живых клетках. Паразиты, нарушая равновесие биохимических процессов в организме, вызывают его заболевание. Некоторые микроорганизмы в зависимости от условий могут существовать либо как паразиты, либо как сапрофиты. Их называют условными или факультативными паразитами. К их числу относятся возбудители многих кишечных инфекций. Другие *могут* развиваться только в живых клетках — это строгие, или облигатные, паразиты. Способность к биосинтезу у **них** самая низкая.

Для синтеза клеточных белков микроорганизмам необходим азот. По отношению к источникам азотного питания среди микроорганизмов можно выделить **автоаминотрофов** и **гетероаминотрофов**. Первые способны использовать азот неорганический (аммонийный, нитратный, молекулярный) или простейшие формы органического (мочевина) и из этих соединений строить разнообразные белки своего тела. При этом все формы азота сначала переводятся в аммонийную форму. Эта наиболее восстановленная форма азота легко трансформируется в аминокруппу. Гетероаминотрофы

нуждаются в органических формах азота — белках и аминокислотах. Некоторым из них требуется полный набор аминокислот, другие создают необходимые белковые соединения из одной-двух аминокислот путем их преобразования.

Многие гетеротрофные по отношению к углероду микроорганизмы являются автоаминотрофами. К ним относятся бактерии, участвующие в очистке сточных вод.

Потребность в кислороде и водороде для конструктивного обмена микроорганизмы удовлетворяют за счет воды и органических питательных веществ. Источниками зольных элементов (P, S, K, Mg, Mn, Fe) служат соответствующие минеральные соли. Потребность в этих элементах невелика, но присутствие в среде обязательно. Помимо того, для нормальной жизнедеятельности микробов необходимы микроэлементы— Zn, Co, Cu, Ni и др. Часть их входит в состав естественного питания микробов, часть усваивается ими из минеральных солей.

Способы получения пищи, т. е. способы питания микроорганизмов, отличаются большим разнообразием. Различают три основных способа питания: голофитное, сапрозойное, голозойное.

**Голофитное** питание (от греч. «голо» — целиком, «фит» — растение) совершается по типу фотосинтеза растений. Такое питание присуще только автотрофам. Среди микроорганизмов этот способ свойствен водорослям, окрашенным формам жгутиковых и некоторым бактериям.

Гетеротрофные микроорганизмы питаются либо твердыми пищевыми частицами, либо поглощают растворенные органические вещества.

**Голозойный** способ питания (от греч. «голо» — целиком, «зоик» — подобно животному) предопределяет развитие у микроорганизмов специальных органоидов для переваривания пищи, а у некоторых — и для ее захвата. Например, неокрашенные жгутиковые и ресничные инфузории имеют ротовое отверстие, к которому пища подгоняется соответственно жгутиками или ресничками. Наиболее высокоорганизованные инфузории

образуют околоротовыми ресничками ток воды в виде воронки, направленной узким концом в рот. Пищевые частицы осаждаются на дне воронки и заглатываются инфузорией. Такие инфузории называют *седиментаторами*. Амебы питаются путем фагоцитоза.

Микроорганизмы с голозойным способом питания для конструктивного метаболизма используют главным образом цитоплазму других организмов — бактерий, водорослей и т. д. и имеют специальные органоиды для пищеварения. Пищеварительный процесс у простейших осуществляется в пищеварительных вакуолях.

Переваривание заключается в гидролитическом расщеплении сложных органических веществ до более простых соединений. При этом углеводы гидролизуются до простых сахаров, белки — до аминокислот, а при гидролизе липидов образуются глицерин и высшие жирные кислоты. Продукты пищеварения всасываются в цитоплазму и подвергаются дальнейшему преобразованию.

Бактерии, микроскопические грибы, дрожжи не имеют специальных органоидов для захвата пищи, и она поступает в клетку через всю поверхность. Такой способ питания называется *сапротрофным*.

Чтобы проникнуть в клетку, питательные вещества должны находиться в растворенном состоянии и иметь соответствующий размер молекул. Для многих высокомолекулярных соединений цитоплазматическая мембрана непроницаема, а некоторые из них не могут проникнуть даже через клеточную оболочку. Однако это не означает, что высокомолекулярные соединения не используются микроорганизмами как питательные вещества. Микроорганизмы синтезируют внеклеточные пищеварительные ферменты, гидролизующие сложные соединения. Таким образом, процесс пищеварения, протекающий у простейших в вакуолях, у бактерий осуществляется вне клетки (рис. 6.2).

Размер молекул — не единственный фактор, обуславливающий проникновение питательных веществ в клетку.

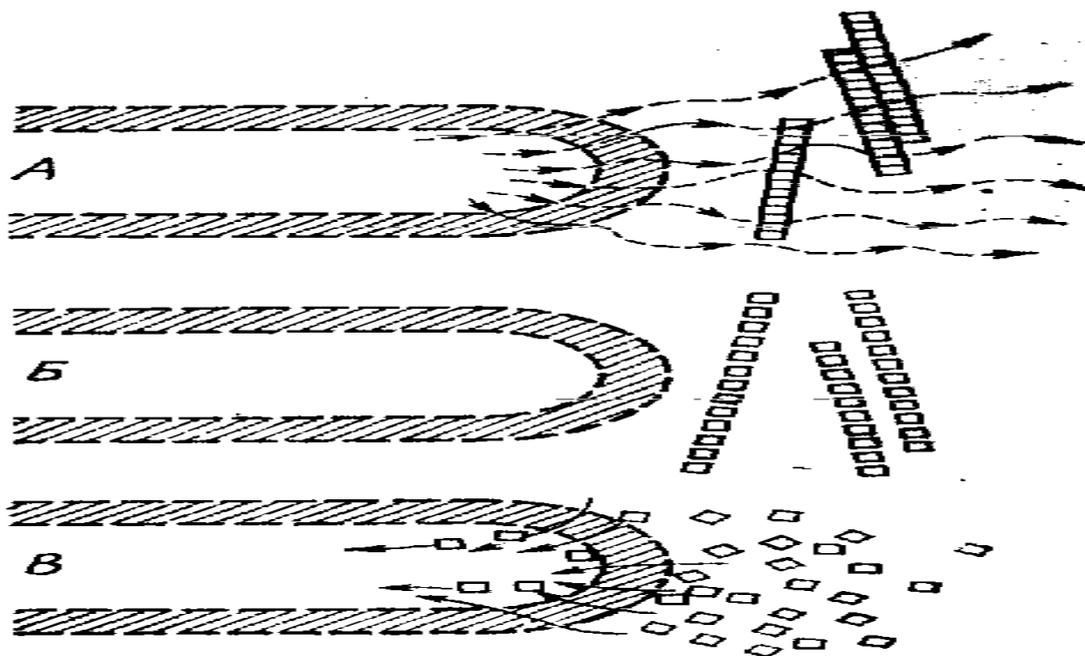


Рис. 6.2, Схема внеклеточного пищеварения:

*A* — выделение клеткой гидролитических экзоферментов; *B* — ферментативный гидролиз сложных веществ; *C* — проникновение продуктов гидролиза внутрь клетки

Цитоплазматическая мембрана способна пропускать одни соединения и задерживать другие.

Известно несколько механизмов переноса веществ через мембрану клетки: простая диффузия, облегченная диффузия и активный перенос (рис. 6.3).

Простая диффузия—это проникновение молекул вещества в клетку без помощи каких-либо переносчиков.

В снабжении клетки питательными веществами простая диффузия большого значения не имеет. Однако именно таким путем в клетку поступают молекулы воды. Немаловажную роль в этом процессе играет осмос — диффузия молекул растворителя через полупроницаемую перепонку в направлении более концентрированного раствора.

Роль полупроницаемой перепонки в клетке выполняет цитоплазматическая мембрана. В клеточном соке растворено огромное количество молекул разнообразных веществ, поэтому клетки

микроорганизмов обладают довольно высоким осмотическим давлением. Величина его у многих микробов достигает 0,5—0,8 МПа. В окружающей среде осмотическое давление обычно ниже. Это вызывает приток воды внутрь клетки и создает в ней определенное напряжение, называемое *тургором*.

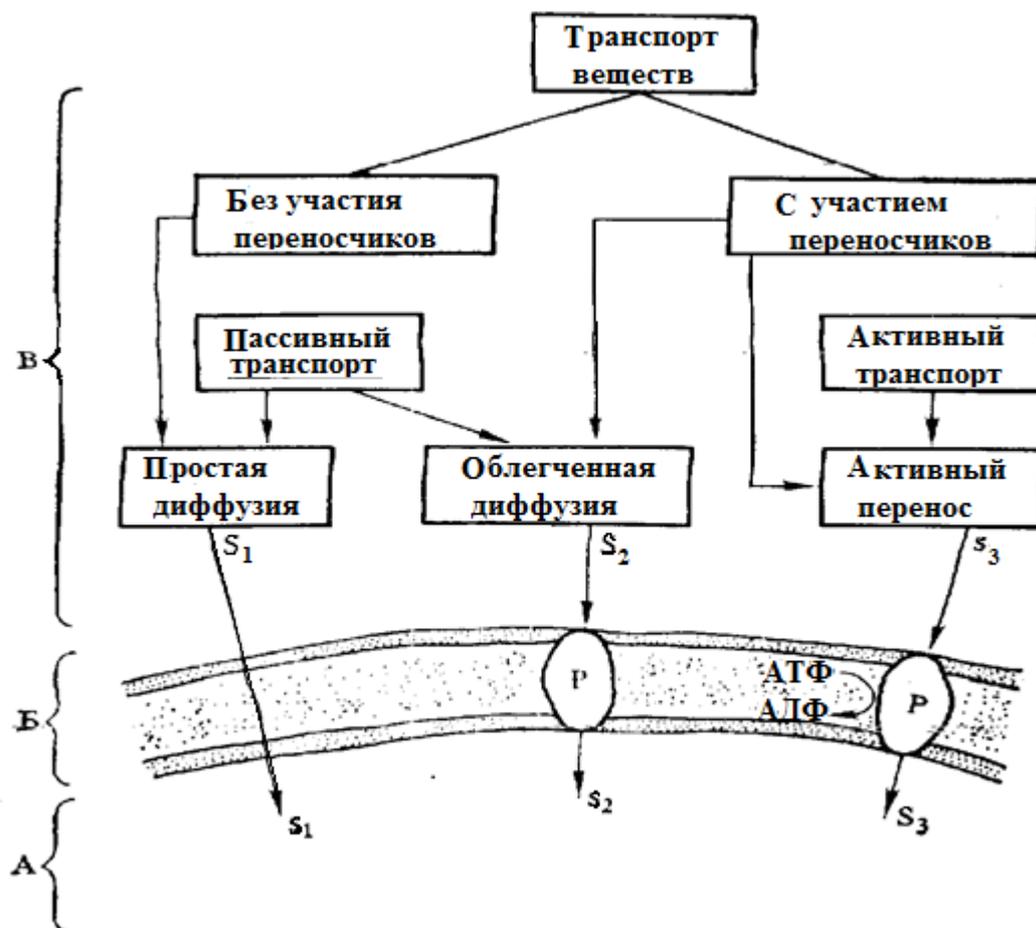


Рис. 6.3. Транспорт веществ через цитоплазматическую мембрану.

А—цитоплазма; Б—мембрана, В—окружающая среда:

$s, S$  — субстрат,  $P$  — переносчик

При облегченной диффузии растворенные вещества поступают в клетку с участием специальных ферментов-переносчиков, носящих название *пермеаз*. Они как бы захватывают молекулы растворенных веществ и переносят их к *внутренней* поверхности мембраны.

Простая и облегченная диффузия представляет собой варианты пассивного транспорта веществ. Движущей силой переноса веществ в клетку в этом случае служит градиент концентраций по обе стороны мембраны.

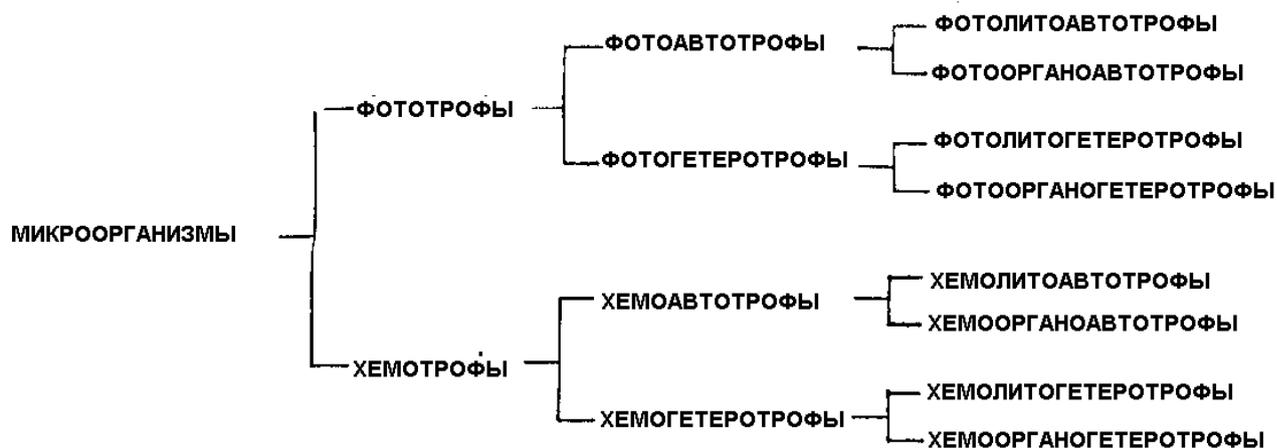
Однако большинство веществ поступает в клетку против градиента концентраций. В этом случае на такой перенос затрачивается энергия и перенос называется активным. Активный перенос протекает с участием специфических белков, сопряжен с энергетическим обменом клетки и позволяет накапливать в *клетке* питательные вещества в концентрации во много раз большей, чем концентрация их во внешней среде. Активный перенос — основной механизм поступления питательных веществ в клетки с сапротрофным питанием.

### 1.6.3. Типы метаболизма микроорганизмов

Для полной характеристики микроорганизмов используют понятие тип метаболизма. Различия в типах метаболизма определенных групп микроорганизмов обусловлены особенностями конструктивного и спецификой энергетического обменов. В зависимости от используемого источника энергии для получения АТФ микроорганизмы делят на *фототрофов* (используют энергию света) и *хемотрофов* (используют энергию химических реакций).

Процесс образования АТФ называется *фосфорилированием*-, он осуществляется в митохондриях (у эукариот) или в ферментных системах, локализованных на цитоплазматической мембране (у прокариот). Механизм образования АТФ у разных групп микроорганизмов неодинаков. Различают субстратное, окислительное и фотофосфорилирование (подробно рассмотрены в разделах 1.6.4.-1.6.6.). Любой тип фосфорилирования обязательно сопряжен с переносом электронов в ходе окислительно-восстановительных реакций энергетического обмена. При этом одни микроорганизмы в качестве доноров электронов (водорода) используют неорганические, другие — органические соединения. Соответственно первые называются *литотрофами*, вторые — *органотрофами*. Таким образом, принимая во внимание тип питания (авто- или гетеротрофное), природу донора электрона и источник энергии (свет или химическая реакция), возможные сочетания вариантов конструктивного и энергетического обменов

можно представить в виде следующей схемы:



Каждый из представленных вариантов характеризует определенный тип метаболизма. В табл. 6.1 приведены представители микроорганизмов каждого типа метаболизма. Большинство микроорганизмов, обитающих в природных и сточных водах и играющих важную роль в формировании качества воды и ее очистке, относятся к восьмому и первому типам метаболизма. В связи с этим при дальнейшем изложении материала именно им уделено основное внимание

#### 1.6.4. Энергетический метаболизм фототрофов

Все указанные в табл. 6.1 фотосинтезирующие микроорганизмы приспособлены к использованию света видимого (длина волны 400—700 нм) и ближней инфракрасной части спектра (700—1100 нм). Эта способность существовать за счет энергии света обусловлена присутствующими в клетках фототрофов специфическими светочувствительными пигментами. Каждому виду микроорганизмов свойствен характерный и постоянный набор пигментов (смотри раздел 1.2 и 1.3). Световая энергия улавливается системой поглощающих свет пигментов и передается в реакционный центр, который содержит молекулы хлорофилла. В темноте молекула хлорофилла находится в стабильном невозбужденном состоянии. Когда свет падает на эту молекулу, она возбуждается вследствие перехода одного из электронов на более высокий энергетический уровень. Молекулы хлорофилла тесно сопряжены с системой транспорта электронов. Каждый квант поглощенного света

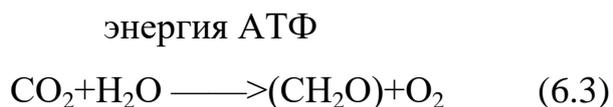
обеспечивает отрыв от молекулы хлорофилла одного электрона, которым, проходя по цепи переноса электронов, отдает свою энергию системе АДФ—АТФ, в результате чего энергия света трансформируется в энергию макроэргической связи молекулы ЛТФ. Такой процесс образования АТФ называется фотосинтетическим фосфорилированием.

Таблица 6.1

Типы метаболизма микроорганизмов

Тип метаболизма	Представители
1. Фотолитоавтотрофия	Водоросли, цианобактерии, большинство пурпурных и зеленых серобактерий
2. Фотолитогетеротрофия	Частично цианобактерии, пурпурные и зеленые серобактерии
3. Фотоорганавтотрофия	Некоторые пурпурные бактерии
4. Фотоорганогетеротрофия	Большинство несерных пурпурных бактерий
5. Хемолитоавтотрофия	Нитрифицирующие, тионовые, некоторые железобактерии
6. Хемолитогетеротрофия	Бесцветные серобактерии
7. Хемоорганавтотрофия	Некоторые бактерии, окисляющие муравьиную кислоту
8. Хемоорганогетеротрофия	Простейшие, грибы, большинство бактерий

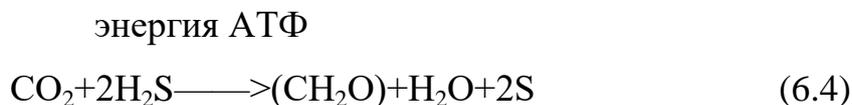
Однако для осуществления биосинтетических процессов конструктивного обмена микроорганизмам кроме энергии, необходим восстановитель — донор водорода (электронов). Для водорослей и цианобактерии таким экзогенным донором водорода служит вода. Восстановление диоксида углерода в процессе фотосинтеза и превращение его в структурные компоненты клетки у этих видов микроорганизмов протекает аналогично фотосинтезу высших растений:



Формула  $\text{CH}_2\text{O}$  символизирует образование органического соединения, в котором уровень окисленности углерода примерно соответствует окисленности углерода в органических веществах клетки.

У фотосинтезирующих бактерий донорами водорода для реакций

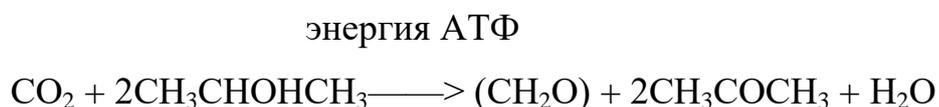
синтеза могут быть как неорганические, так и органические вещества. Большинство пурпурных и зеленых серобактерий, относящихся к группе фотолитоавтотрофов, восстанавливает  $\text{CO}_2$ , используя  $\text{H}_2\text{S}$  как донор водорода:



Такой тип фотосинтеза получил название *фоторедукции*. Основное отличие бактериальной фоторедукции от фотосинтеза зеленых растений и водорослей заключается в том, что донором водорода служит не вода, а другие соединения и что фоторедукция не сопровождается выделением кислорода.

В отличие от неорганических восстановителей, которые выполняют роль только доноров водорода, экзогенные органические восстановители могут одновременно служить и источниками углерода (фотоорганогетеротрофия).

Способность использовать органические соединения в той или иной степени присуща всем фотосинтезирующим бактериям. Для фотолитогетеротрофов они служат только источниками углеродного питания, для фотоорганавтотрофов — только донорами водорода. Например, несерные пурпурные бактерии рода *Rhodospseudomonas* sp. могут осуществлять фотосинтез, используя в качестве донора водорода изопропанол, восстанавливая при этом диоксид углерода и продуцируя ацетон.



### **1.6.5. Энергетический метаболизм хемотрофов, использующих процессы брожения**

Из трех путей образования АТФ (см. раздел 1.6.3.) субстратное фосфорилирование — наиболее простой. Такой тип энергетического метаболизма характерен для многих бактерий и дрожжей, осуществляющих различные виды брожения.

Брожение идет в анаэробных условиях и может быть определено как процесс биологического окисления сложных органических субстратов для получения энергии, при котором конечный акцептор водорода (также органическое вещество) образуется в ходе распада исходного субстрата. При этом одни органические вещества служат донорами водорода и окисляются, другие — акцепторами водорода и в результате восстанавливаются. Перенос водорода от доноров к акцепторам осуществляется с помощью окислительно-восстановительных ферментов и схематически может быть представлен реакциями (5.1), (5.2) и (5.4).

Кроме углеводов, многие бактерии способны сбраживать самые разнообразные соединения: органические кислоты, аминокислоты, пурины и т.д. Условие, определяющее способность вещества к сбраживанию,— наличие в его структуре не полностью окисленных (восстановленных) атомов углерода. Только в этом случае возможна внутри и межмолекулярная перестройка субстрата за счет сопряжения окислительных и восстановительных реакций без участия кислорода.

В результате процессов брожения в среде накапливаются вещества, в которых степень окисления углерода может быть как выше, так и ниже, чем в исходном субстрате. Однако строгое равновесие окислительных и восстановительных процессов при брожении приводит к тому, что средняя степень окисления углерода остается такой же, как у субстрата. Например, при спиртовом брожении глюкозы:



образуются две молекулы  $\text{CO}_2$  (степень окисления углерода +4) и две молекулы спирта со степенью окисления углерода —2. Средняя степень окисления углерода в процессах брожения составляет:  $2(+4) + 2[2(-2)] = 0$ , т. е. равна степени окисления атомов углерода в исходной молекуле глюкозы.

Существует несколько типов брожений, названия которым даются по конечному продукту: спиртовое (осуществляют дрожжи и некоторые виды бактерий), пропионовокислое (пропионовые бактерии), метановое

(метанообразующие бактерии), маслянокислое (маслянокислые бактерии).

Многие микроорганизмы, осуществляющие процессы брожения,— облигатные анаэробы, не способные развиваться в присутствии кислорода и даже более слабых окислителей. Другие — факультативные анаэробы — могут расти как в кислородной среде, так и в бескислородной. Это отличительное свойство факультативных анаэробов объясняется тем, что они могут изменять способ образования АТФ и переключаться с окислительного фосфорилирования при наличии в среде кислорода (см. раздел 1.6.6) на субстратное при его отсутствии. Характерная особенность процессов биологического окисления — их многостадийность, обеспечивающая постепенное выделение свободной энергии, заключенной в сложных органических субстратах.

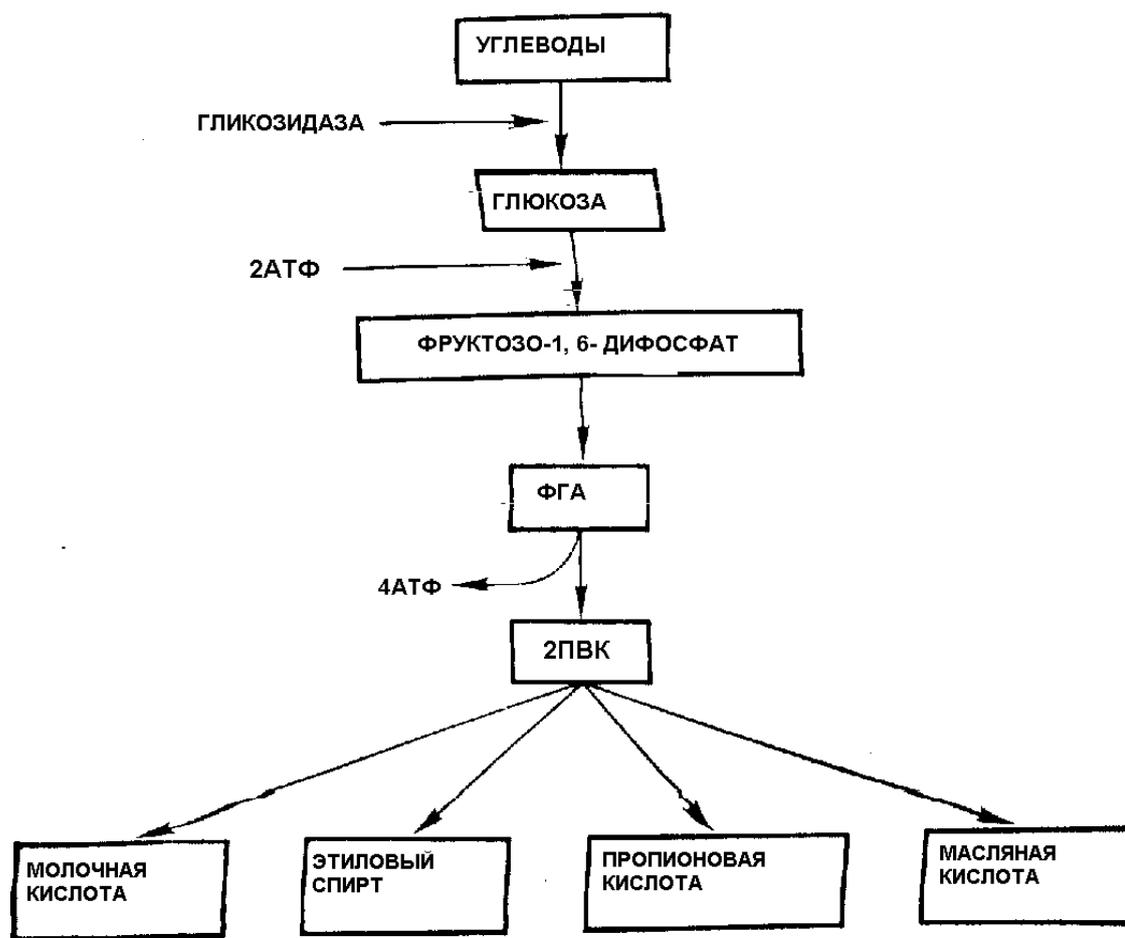


Рис. 6.4. Схема окисления углеводов в процессе брожения

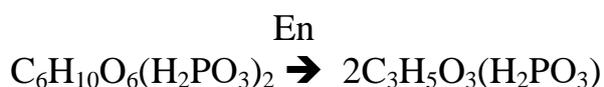
Многостадийность энергетического метаболизма принципиально необходима для жизнедеятельности любого организма. Если бы в клетке окисление сложных веществ протекало в одну стадию, то одновременное освобождение нескольких сотен килоджоулей привело бы к выделению большого количества тепла, резкому повышению температуры и к гибели клетки, поскольку эффективность использования энергии ограничена возможностями системы АДФ-АТФ.

Рассмотрим процесс брожения и образование АТФ на примере сбраживания углеводов (рис. 6.4).

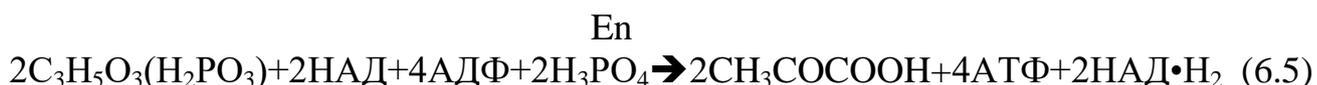
Первый этап превращения углеводов — подготовка к энергетическим преобразованиям, состоящая в ферментативном гидролизе углеводов до простых сахаров. Этот процесс идет вне клетки, если используется экзогенный субстрат, и внутри клетки, если организм окисляет **запасные** вещества. На следующем этапе, включающем несколько ферментативных реакций, происходит фосфорилиз молекулы *глюкозы с участием* АТФ. В результате молекула глюкозы активируется, превращаясь во фруктозо-1,6-дифосфат (ФДФ):



Далее фруктозо-1,6-дифосфат превращается в фосфоглицериновый альдегид (ФГА):



Из фосфоглицеринового альдегида в результате семи последовательных ферментативных реакций образуется пировиноградная кислота (ПВК):



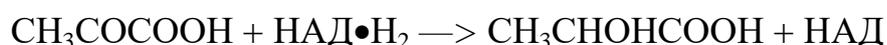
На этом этапе превращения глюкозы окислительные реакции являются собственно энергетической частью процесса брожения. Как видно из выражения (6.5), окисление сопряжено с образованием АТФ. Фосфорилирование осуществляется непосредственно на молекуле субстрата,

поэтому и носит название субстратного.

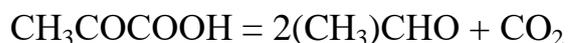
Таким образом, общий энергетический выход процесса превращения молекулы глюкозы в ПВК составляет 2АТФ, поскольку из четырех образовавшихся молекул АТФ две затрачиваются на активацию глюкозы.

В реакциях энергетического обмена ПВК— ключевой метаболит. До стадии образования ПВК процесс идет одинаково у всех организмов. Конечным продуктом этого этапа кроме ПВК является и восстановленная дегидрогеназа НАД•Н<sub>2</sub>. Регенерация фермента совершается в результате окислительно-восстановительных реакций с участием ПВК или продуктов, полученных из нее. Эти реакции дальнейшего превращения ПВК у разных микроорганизмов значительно варьируют, определяя тип брожения.

Простейший пример анаэробного окисления глюкозы — молочнокислое брожение. Оно вызывается молочнокислыми бактериями, факультативными анаэробами, не образующими спор. Превращение ПВК при молочнокислом брожении протекает следующим образом:



В этой заключительной реакции процесса сбраживания глюкозы ПВК выполняет роль конечного акцептора водорода, обеспечивая регенерацию НАД. При спиртовом брожении ПВК превращается в этанол и СО<sub>2</sub>. Возбудителями этого вида брожения служат дрожжи. Под действием фермента пируватдекарбоксилазы ПВК переходит в уксусный альдегид:



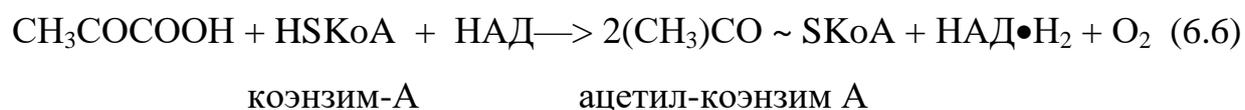
Затем уксусный альдегид реагирует с НАД•Н<sub>2</sub>, в результате чего образуется этиловый спирт:



Роль конечного акцептора водорода при спиртовом брожении выполняет уксусный альдегид. Как при молочном, так и при спиртовом брожении превращение ПВК в конечный продукт не сопровождается запасанием энергии.

Значительно сложнее механизм пропионовокислого брожения, служащего источником энергии группе пропионовых бактерий, факультативных анаэробов, неподвижных неспорообразующих бактерий рода *Propionibacterium*. Эти бактерии синтезируют конечный акцептор, присоединяя к молекуле ПВК  $\text{CO}_2$ . Процесс известен под названием гетеротрофной ассимиляции  $\text{CO}_2$ . В результате образуется щавелевоуксусная кислота — акцептор водорода для  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ . Дальнейшие ферментативные реакции приводят к образованию пропионовой кислоты.

Масляно-кислое брожение осуществляют бактерии рода *Clostridium*. Для развития масляно-кислых бактерий необходимо присутствие в среде веществ разной степени окисленности. Такими веществами могут быть, например, ПВК и молочная кислота. Клостридии превращают ПВК в ацетилкоэнзим - А — ключевое соединение во всех видах брожений, вызываемых клостридиями. Реакция протекает с участием ферментов дегидрогеназы ПВК и коэнзима-А и сопровождается декарбоксилированием ПВК:



Синтез масляной кислоты — процесс многостадийный, включающий конденсацию двух молекул ацетил-КоА, восстановление с участием  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$  [из реакции (6.6)] с последующим гидрированием, дегидратацией, повторным восстановлением и отщеплением  $\text{НСКоА}$ .

Характерный продукт брожения — масляная кислота. Очевидно, что такого рода синтетические процессы, приводящие к образованию вещества с четырьмя атомами углерода в молекуле ( $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$ ) из промежуточных трехуглеродных ( $\text{CH}_3\text{COCOON}$ ) и двухуглеродных ( $\text{CH}_3\text{CO}\sim\text{SКоА}$ ) соединений, не могут быть источником энергии.

Некоторые виды клостридии осуществляют ацетоно-бутиловое брожение. На первом этапе они образуют масляную кислоту. Но по мере ее накопления в среде и падения вследствие этого значения рН в их клетках

индуцируются ферменты, обеспечивающие превращение масляной кислоты в н-бутанол и ацетон, физиологический смысл этих дополнительных ферментативных реакций состоит в образовании продуктов нейтрального характера, какими являются м-бутанол и ацетон. В результате бактерии снижают кислотность среды и противодействуют неблагоприятным условиям.

Таким образом, энергетический выход процесса брожения невелик, поскольку органические вещества не окисляются полностью и часть энергии исходного субстрата сохраняется в достаточно сложных продуктах брожения. В большинстве случаев при сбраживании глюкозы клетка запасает две молекулы АТФ на 1 моль глюкозы.

Для получения энергии, необходимой для синтеза клеточного вещества и других жизненных функций, микроорганизмам, осуществляющим процессы брожения, приходится перерабатывать большое количество органических веществ. Именно в силу этих причин на очистных станциях систем водоотведения анаэробные процессы брожения используют для обработки концентрированных субстратов — осадков сточных вод.

#### **1.6.6. Энергетический метаболизм хемоорганотрофов, использующих процесс дыхания**

Большинство гетеротрофных организмов получают энергию в процессе дыхания — биологического окисления сложных органических субстратов, являющихся донорами водорода. Водород от окисляемого вещества поступает в дыхательную цепь ферментов. Дыхание называют аэробным, если роль конечного акцептора водорода выполняет свободный кислород. Микроорганизмы, способные существовать только в присутствии кислорода, называются *облигатными аэробами*.

В качестве источников энергии — доноров водорода — хемоорганогетеротрофы в процессе дыхания могут использовать разнообразные окисляемые органические соединения: углеводы, жиры,

белки, спирты, органические кислоты и т.д. Суммарно процесс дыхания при окислении углеводов выражается следующим уравнением:



На рис. 6.5 приведена схема процесса аэробного дыхания за счет углеводов.

Начальная стадия превращения углеводов вплоть до образования ПВК полностью идентична ферментативным реакциям окисления углеводов в процессе брожения (см. раздел 1.6.5.).

В клетках аэробов ПВК может быть окислена полностью в результате ряда последовательных реакций. Совокупность этих превращений составляет цикл, именуемый циклом Кребса или циклом ди- и трикарбоновых кислот (ЦТК). ПВК включается в цикл через промежуточное соединение ацетил-КоА, который образуется в результате взаимодействия ПВК с НСКoА по реакции (6.6). Последовательно протекающие реакции цикла: гидролиз, дегидрирование, дегидратация, декарбоксилирование — приводят к полному окислению ацетил-КоА и регенерации фермента НСКoА.

Водород, отнятый дегидрогеназами в цикле, передается в дыхательную цепь ферментов, которая у аэробов кроме НАД включает ФАД, систему цитохромов и конечный акцептор водорода — кислород. Передача водорода по этой цепи сопровождается образованием АТФ.

Первый этап фосфорилирования связан с передачей водорода от первичной дегидрогеназы на ФАД. Второе фосфорилирование происходит при переходе электрона с цитохрома *b* на цитохром *c* (см. рис. 5.5), третье — при передаче электрона кислороду. Таким образом, на каждые два атома водорода (электрона), поступивших в дыхательную цепь, синтезируется три молекулы АТФ.

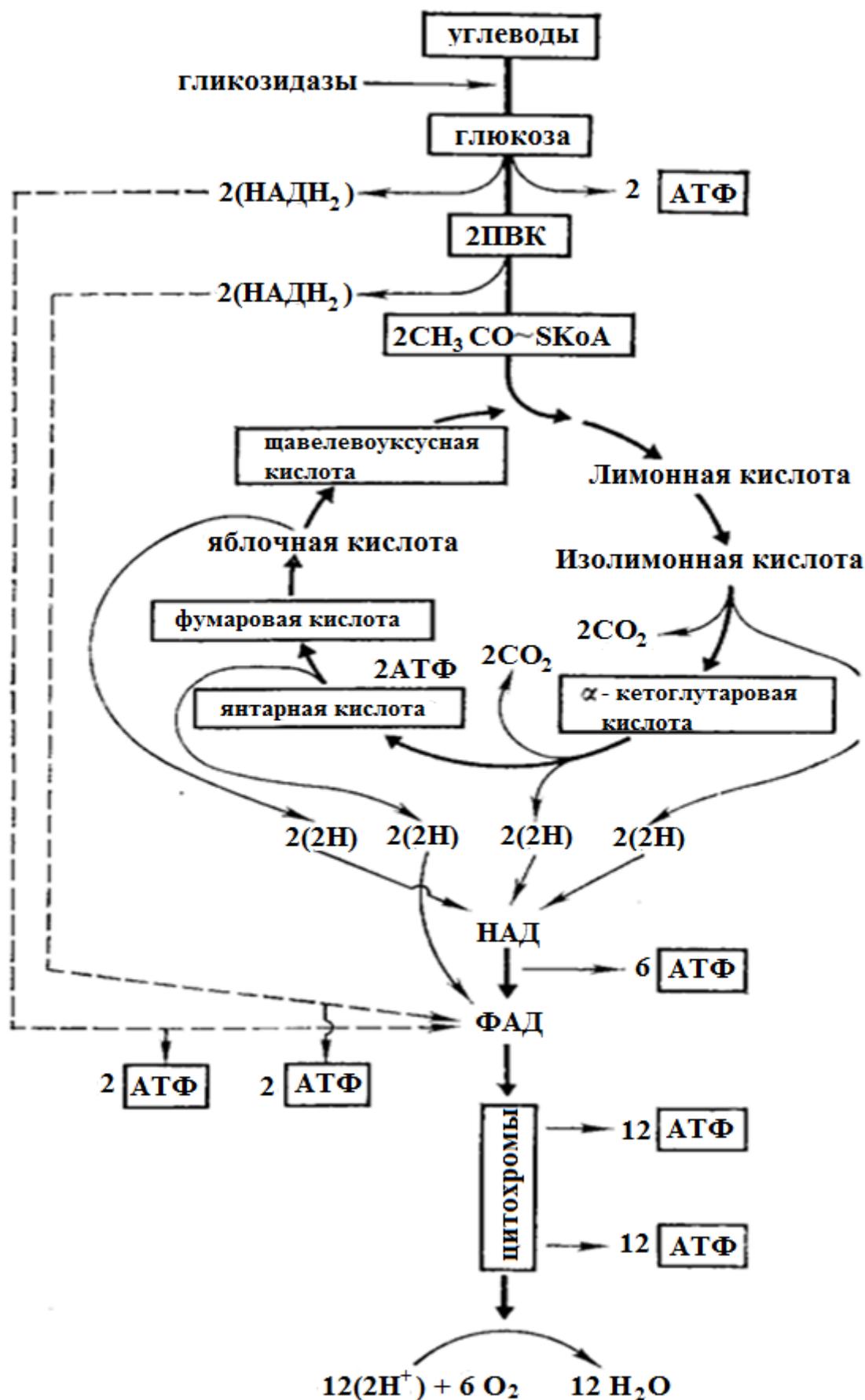


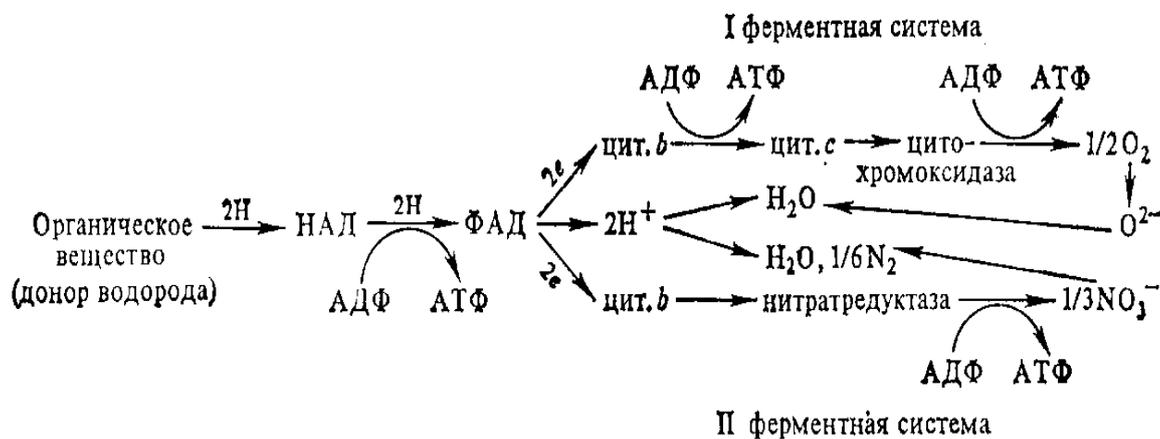
Рис. 6.5. Схема окисления углеводов в процессе аэробного дыхания

Образование АТФ одновременно с процессом переноса протона и электрона по дыхательной цепи ферментов называется *окислительным фосфорилированием*. В некоторых случаях электрон включается в дыхательную цепь на уровне ФАД или даже цитохромов. При этом соответственно уменьшается количество синтезируемых молекул АТФ.

Суммарный энергетический итог процесса окисления 1 моля глюкозы составляет 38 молекул АТФ, из них 24 — при окислении ПВК в цикле Кребса с передачей водорода в дыхательную цепь ферментов. Таким образом, основное количество энергии запасается именно на этой стадии. Замечательно то, что цикл Кребса универсален, т. е. характерен и для простейших, и для бактерий, и для клеток высших животных и растений.

Промежуточные соединения цикла частично используются для синтеза клеточного вещества.

Окисление питательных веществ не всегда идет до конца. Некоторые аэробы окисляют органические соединения частично, при этом в среде накапливаются промежуточные продукты окисления.



Некоторые микроорганизмы в процессе дыхания в качестве конечного акцептора водорода используют не кислород, а окисленные соединения азота (нитриты, нитраты), хлора (хлораты и перхлораты), серы (сульфаты, сульфиты, тиосульфаты), углерода (CO<sub>2</sub>), хрома (хроматы и бихроматы). Такой тип дыхания называется *анаэробным*.

Микроорганизмы, осуществляющие процесс дыхания за счет окисленных соединений азота и хлора, относятся к факультативным анаэробам. Они имеют две ферментные системы, позволяющие им переключаться с аэробного дыхания на анаэробное и наоборот в зависимости от присутствия в среде того или иного конечного акцептора. Например, дыхательную цепь ферментов у микроорганизмов, использующих нитраты, можно представить следующей схемой.

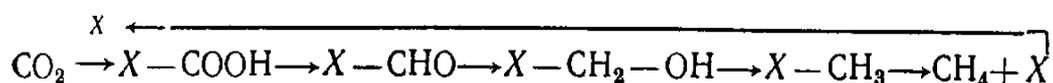
Если в среде одновременно присутствуют нитраты и молекулярный кислород, то в первую очередь будет использоваться акцептор, позволяющий получить большее количество энергии. Аэробное дыхание сопровождается тремя фосфорилированиями, анаэробное — двумя. Тем не менее, если концентрация кислорода в среде невелика, а концентрация нитратов намного превышает ее, микроорганизмы используют нитраты. Решающим условием в этом случае является свободная энергия реакции восстановления акцептора, которая зависит от его концентрации. Анаэробное дыхание за счет нитратов называется *денитрификацией*.

Окисленные соединения серы, хрома, углерода играют роль конечных акцепторов для разных видов микроорганизмов, относящихся к облигатным анаэробам.

У сульфатредуцирующих микроорганизмов обнаружена цепь переноса электронов, включающая несколько ферментов, но последовательность их действия остается неясной. При потреблении сульфатов в качестве конечного акцептора водорода микроорганизмы восстанавливают их до сульфидов:



Анаэробное дыхание с использованием диоксида углерода сопровождается образованием метана. Согласно современным представлениям восстановление  $\text{CO}_2$  до метана проходит через ряд последовательных стадий:

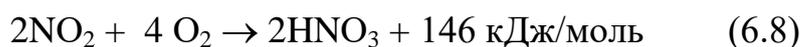


Промежуточные продукты остаются связанными с переносчиком X, природа которого неизвестна.

### **1.6.7. Энергетический метаболизм хемолитоавтотрофов**

Окисление восстановленных минеральных соединений азота, серы, железа служит источником энергии для хемолитотрофных микроорганизмов. Деление хемолитотрофных микроорганизмов на группы основано на специфичности каждой группы по отношению к окисляемому соединению. Различают нитрифицирующие бактерии, железобактерии, бактерии, окисляющие соединения серы.

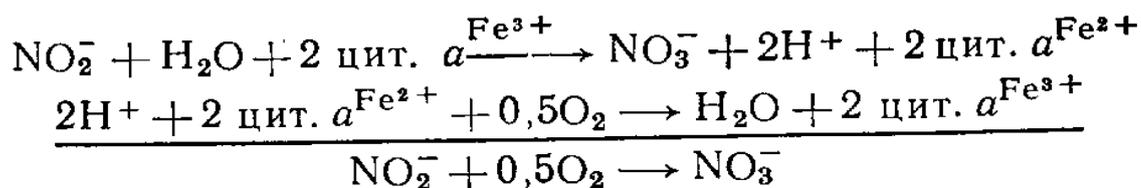
**Нитрифицирующие** бактерии окисляют аммонийный азот до нитратов. Процесс называется нитрификацией и идет в две фазы, за каждую из которых ответственны свои возбудители (смотри раздел 2.2.4.):



Окисление аммиака до нитритов с передачей электронов в дыхательную цепь служит энергетическим процессом для группы нитрозобактерий. Окисление аммонийного азота — многостадийный процесс, при котором в качестве промежуточных продуктов образуются гидроксилламин ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) и гипонитрит ( $\text{NOH}$ ). Энергетическим субстратом, окисляемым в дыхательной цепи, служит гидроксилламин.

Электроны включаются в дыхательную цепь на уровне ФАД, и перенос их по цепи цитохромов сопряжен с двумя фосфорилированиями.

Электронотранспортная цепь у нитробактерий, осуществляющих реакцию (6.8), короче, чем у нитрозобактерий. Электроны включаются в дыхательную цепь на уровне цитохромов, поэтому их перенос по цепи ферментов сопровождается только одним фосфорилированием. Механизм второй фазы процесса нитрификации предположительно описывается следующими реакциями:



Эффективность использования энергии нитрифицирующими бактериями невелика и составляет 5% для реакции (6.7) и 7% для реакции (6.8). Вследствие этого для усвоения 1 моля диоксида углерода им необходимо окислять соответственно 35 молей аммиака и 101 моль азотистой кислоты.

**Железобактерии** (хемолитоавтотрофы) не представляют собой единой таксономической единицы. Этим термином объединяют микроорганизмы, окисляющие восстановленные соединения железа для получения энергии:



В транспорте электронов от двухвалентного железа к кислороду принимают участие хиноны и цитохромы. Перенос электронов сопряжен фосфорилированием.

Эффективность использования энергии у этих бактерий настолько мала, что для синтеза 1 г клеточного вещества им приходится окислять около 500 г углекислого железа.

**Бактерии, окисляющие соединения серы** и способные к автотрофной ассимиляции  $\text{CO}_2$ , относятся к группе тионовых бактерий. Энергию для конструктивного метаболизма тионовые бактерии получают в результате окисления сульфидов, молекулярной серы, тиосульфатов и сульфитов до сульфатов:



Дыхательная цепь тионовых бактерий содержит флавопротеиды, убихиноны, цитохромы.

Механизм ассимиляции  $\text{CO}_2$  в конструктивных целях у всех хемолитоавтотрофов сходен с таковым у фотосинтезирующих автотрофов, использующих в качестве донора водорода воду. Основное отличие состоит в том, что в процессе хемосинтеза кислород не выделяется.

## 1.7. РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

### 1.7.1 . Общие представления о росте и развитии микроорганизмов

Рост микробной клетки — это увеличение размера и массы одной особи между двумя делениями. В результате обменных процессов с окружающей средой и внутриклеточного метаболизма происходит рост и развитие организма — обновление клеточного вещества и по мере старения клетки — изменение ее химического состава, например, уменьшение содержания воды. Конечная цель развития микроорганизмов — размножение. Под ростом обычно подразумевают не только рост отдельной клетки, но и общее увеличение числа клеток в результате размножения, т. е. рост культуры микроорганизмов.

Культура представляет собой совокупность особей, занимающих определенное жизненное пространство. Культуру называют *чистой*, если она представлена микроорганизмами одного вида. Культуру, в которой содержится более чем один вид микробов, называют *смешанной* или *гетерогенной*. Все природные микробные явления и биологические процессы на очистных сооружениях осуществляются гетерогенными культурами.

Количественно рост оценивают либо определением числа клеток в культуре, либо измерением их массы. Для практических целей наиболее пригоден и достаточно точен гравиметрический метод определения биомассы.

Рост характеризуется несколькими параметрами, из которых важнейшие — удельная скорость роста, физиологическая активность и экономический коэффициент.

Обозначим биомассу через  $X$ . Скорость роста биомассы  $v$  пропорциональна ее количеству:

$$v = dX / dt. \quad (7.1)$$

Коэффициент пропорциональности  $v$  называют удельной скоростью роста. Он показывает скорость роста единицы биомассы и имеет размерность  $t, \text{сек}$ . Величина  $v$  — основной параметр, характеризующий рост.

Биомасса, продуцируемая на единицу потребленного субстрата, называется экономическим коэффициентом  $Y$  или коэффициентом прироста биомассы

$$Y = dX / dS \quad (7.2)$$

или более строго

$$Y = -dX / dS',$$

так как  $Y$  — предел, к которому стремится отношение  $dX / dS$  при  $dS \rightarrow 0$ .

Поскольку биомасса  $X$  возрастает, а концентрация субстрата  $S$  уменьшается, вводится знак «—». Значение  $Y$  изменяется в широких пределах в зависимости от природы субстрата, видов микроорганизмов и условий, окружающей среды.

Питательные вещества, потребляемые клеткой, помимо конструктивного обмена, расходуются и для энергетических целей. С учетом расхода питательных веществ на метаболизм в целом скорость потребления субстрата можно выразить следующим образом:  $dS / dt = q \bullet X$ , где  $q$  — метаболический коэффициент, или удельная скорость метаболизма (физиологическая активность).

Величины  $v$ ,  $Y$  и  $q$  связаны между собой следующим отношением:

$$q = v / Y. \quad (7.3)$$

Выражение (7.3) используют для определения потребности в субстрате при разных скоростях роста.

### 1.7.2. Закономерности роста и развития микробной культуры

Рост культуры во времени подчиняется определенной закономерности. Для выявления этой закономерности в питательную среду вносят некоторое количество культуры микроорганизмов и через равные интервалы времени отмечают прирост клеток. На протяжении опыта питательные вещества в среду не добавляют и продукты обмена клеток не удаляют. Такая культура носит название *статической*.

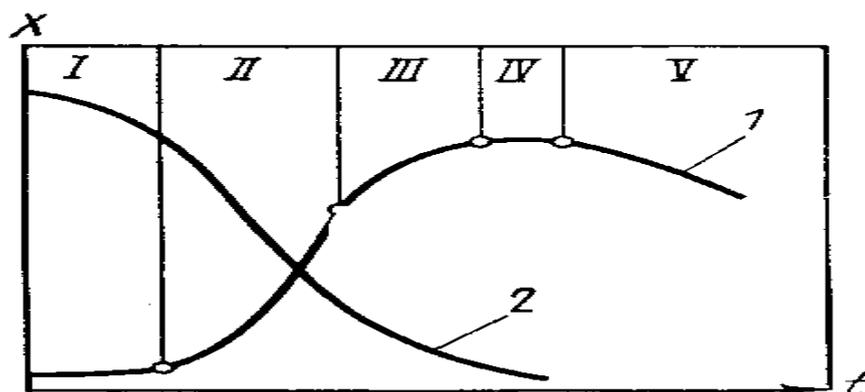


Рис. 7.1. Закономерности роста статической культуры:

1 — рост культуры во времени, 2 — кривая потребления субстрата

Рост статической культуры во времени описывается кривой 1 на рис. 7.1. График представляет собой обобщенное описание многочисленных экспериментальных наблюдений, в результате которых было установлено, что закономерности роста и развития чистой культуры справедливы и для таких сложных гетерогенных культур, как активный ил. Для описания закономерностей микробного роста в гетерогенной культуре в течение опыта оценивают изменение концентрации биомассы по сухому веществу (в мг/л).

На кривой роста выделяют несколько участков (фаз развития), каждый из которых характеризуется индивидуальными условиями существования культуры. В каждой фазе клеткам присущи своя скорость размножения, размеры и биохимическая активность.

Кривая 2 на том же рисунке характеризует процесс потребления клетками субстрата  $S$ .

Фаза I — фаза задержки роста — носит название лаг-фазы (от английского lag — отставание). В лаг-фазе можно выделить два периода. В первом периоде клетки приспосабливаются к условиям окружающей среды, интенсивно синтезируя адаптивные ферменты. В этот период может наблюдаться очень небольшой прирост биомассы за счет увеличения размеров клеток. Во втором периоде лаг-фазы скорость роста увеличивается, достигая к концу фазы максимального значения.

Фаза II называется экспоненциальной или фазой логарифмического роста. Количество питательных веществ неограниченно. Клетки, в основном молодые и биологически активные, обладают наиболее ярко выраженными видовыми признаками. Удельную скорость роста в экспоненциальной фазе определяют, интегрируя уравнение (7.1):

$$X(t) = X_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (7.4)$$

Значение  $k$  вычисляют из уравнения (7.4) по результатам экспериментального определения концентрации биомассы в начале опыта —  $X_0$  и в момент времени  $t$  —  $X_t$ . Для удобства расчетов уравнение (7.4) может быть линеаризовано путем логарифмирования:

$$\ln(X) = \ln(X_0) + -k t,$$

откуда

$$\ln(X/X_0) = \ln(2).$$

Обозначим время удвоения биомассы через  $t_{1/2}$ , тогда

$$k = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} = \frac{0,693}{t_{1/2}}.$$

В фазе экспоненциального роста клетки делятся (то есть число их удваивается) через равные промежутки времени  $t_{1/2}$ . Эта величина называется временем генерации. Для разных видов микроорганизмов время генерации изменяется в широких пределах. Численные значения  $t_{1/2}$  и  $t$  могут совпадать или различаться в зависимости от соотношения числа и массы клеток в культуре.

Фаза III — фаза замедления роста. Интенсивность деления клеток падает, так как изменяются условия существования культуры, уменьшается количество питательных веществ, в среде накапливаются токсичные продукты обмена.

Фазы II и III в совокупности образуют фазу изъятия субстрата или фазу очистки. Их часто рассматривают вместе, строя кривую роста в полулогарифмических координатах. В этих координатах фаза экспоненциального роста выражается прямой линией. Фаза замедления роста начинается, когда прямолинейная зависимость нарушается и значение  $dX/dt$  начинает уменьшаться.

Результаты многочисленных экспериментов показывают, что в период удаления субстрата, когда условия в среде более или менее постоянны, экономический коэффициент также остается неизменным. Если принять, что  $X_0$  и  $S_0$  — соответственно концентрации биомассы и субстрата в начальный момент, то на основе выражения (7.2):  $(X - X_0) = Y(S_0 - S)$ .

В момент практически полного изъятия субстрата ( $S=0$ ) биомасса достигает максимального значения  $X_m$ , поэтому  $X_m - X_0 = YS_0$ , откуда  $Y = (X_m - X_0)/S_0$ .

Фаза IV носит название стационарной фазы роста. Основная причина ее наступления — истощение запаса питательных веществ, что хорошо показано на рис. 7.1. Плато на кривой роста соответствует нижней точке на кривой удаления субстрата. Если клетки, находящиеся на начальной стадии стационарного роста, перенести в среду, богатую питательными веществами, может начаться экспоненциальный рост культуры без лаг-фазы. Но чем дольше микроорганизмы остаются без источников питания, тем больше вероятность нарушения метаболизма клеток, наблюдаемого в стационарной фазе.

Фаза V — экспоненциальная фаза гибели клеток. К началу этой фазы значительная часть клеток еще живая и использует в качестве источника углерода эндогенные субстраты. Такой процесс называется эндогенным

дыханием. Сначала клетки окисляют запасные вещества, затем клеточные липиды, углеводы и, наконец, белки. Самоокисление клеточного вещества приводит к уменьшению биомассы. В фазе *V* клетки более мелкие, но они устойчивее к физическим и химическим воздействиям окружающей среды. В смешанных культурах в этой фазе возможно взаимодействие разных видов. Например, некоторые клетки могут выделять фермент лизоцим, разрушающий клеточные стенки и мембраны других видов микроорганизмов. Лизис клетки способны вызвать и бактериофаги. Освобожденные органические вещества становятся экзогенным источником углерода для интактных (неповрежденных) клеток. Математически эта фаза описывается уравнениями, аналогичными выражениям для экспоненциальной фазы роста:

$$\frac{dX}{dt} = -k \cdot X; \quad X(t) = X_0 \cdot e^{-k \cdot t}; \quad k = \frac{\ln X_0 - \ln X_t}{t},$$

где  $k$  — удельная скорость гибели клеток.

Если уменьшение биомассы  $X$  таково, что половина ее самоокисляется за постоянный промежуток времени  $t_{1/2}$ , то:

$$k = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} = \frac{0,693}{t_{1/2}}.$$

Скорость отмирания изменяется в широких пределах в зависимости от особенностей видов микроорганизмов и условий в системе.

Характер кривой на рис. 7.1 показывает, что неограниченный рост в статической культуре невозможен. Основные причины этого — истощение источников питания, изменения в окружающей среде в результате выделения токсичных продуктов обмена, нехватка жизненного пространства. Описанная культура — пример закрытой системы, так как питательные вещества в течение опыта в нее не поступают, а продукты обмена из нее не выводятся.

В реальных условиях микроорганизмы культивируют в открытых системах. Примером открытых систем служат биоокислители станций

очистки сточных вод — аэротенки и биофильтры. Моделью статической культуры в открытой системе может быть культура полного вытеснения. Аэротенки городских очистных станций — вариант использования в промышленных масштабах культуры полного вытеснения с возвратом биомассы.

### 1.7.3. Влияние лимитирующих факторов на скорость роста

Рост культуры микроорганизмов тесно связан с условиями ее обитания. Для нормального роста и развития микроорганизмов среда должна содержать необходимые элементы питания, иметь соответствующие рН, температуру и т. д. Немаловажную роль играют концентрация и соотношение компонентов питательной среды, поскольку потребность в них у микроорганизмов сильно различается (см. гл. 4).

Факторы, ограничивающие рост культуры, называют *лимитирующими*.

Характерная особенность роста популяции микроорганизмов — зависимость удельной скорости роста от концентрации субстрата. Эта зависимость описывается гиперболической функцией, называемой уравнением Моно:

$$v = K_s \bullet S / (S + K_s). \quad (7.6)$$

$K_s$  — константа насыщения, численно равная такой концентрации субстрата, которая обеспечивает скорость роста, соответствующую половине значения  $v_{\max}$ . Наряду с величинами  $v$  и  $Y$  константа  $K_s$  — один из важнейших параметров, характеризующих рост микробных культур. Уравнение Моно отражает зависимость  $v$  от остаточной концентрации лимитирующего компонента питательной среды. При избытке этого компонента удельная скорость роста достигает своего максимального значения. Правомерность описания таких сложных процессов, как синтез биомассы, уравнением простой ферментативной реакции объясняется тем, что рост клеток представляет собой совокупность множества регулируемых ферментативных

реакций, общая скорость которых зависит от реакции, протекающей наиболее медленно.

Максимальную удельную скорость роста и константу насыщения  $K_s$  определяют аналогично величинам  $v_{\max}$  и  $K_m$  для ферментативных реакций (см. раздел 1.5.4).

По мере потребления питательных веществ среда обогащается продуктами обмена, которые также могут лимитировать рост культуры.

Наиболее общий случай влияния концентрации субстрата и продуктов обмена на скорость роста популяции микроорганизмов нашел отражение в модели Н.Д. Иерусалимского (на примере роста колонии грибов):

$$V(C) = V_{\infty} + V_{\max} \frac{K_i^n}{K_i^n + C^n}, \quad (7.7)$$

где  $V(C)$  – скорость увеличения диаметра колоний фитопатогенных грибов, мм/час;  $V_{\infty}$  – остаточная скорость роста гриба при “бесконечной” концентрации бактерий, мм/ч;  $V_{\max}$  – кинетический параметр, отражающий скорость роста гиф, в отсутствие бактерий,  $K_i$  – константа ингибирования, численно равная концентрации бактерий, при которой достигается половина от максимального эффекта ингибирования, кл/мл;  $n$  – коэффициент нелинейности ингибирования;  $C$  – концентрация клеток бактерий, кл/мл.

Анализ уравнения (7.7) показывает, что при условии  $K_i \gg C^n$ , когда величиной  $C$  можно пренебречь, скорость роста ограничена только концентрацией субстрата. Если  $C \gg K_i$ , скорость роста лимитирована концентрацией клеток бактерий. Рост культуры микроорганизмов зависит и от целого ряда других факторов: присутствия в среде активаторов и ингибиторов, значений рН и температуры, давления и т. д.

## 1.8. МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

### 1.8.1. Взаимосвязь микроорганизмов с окружающей средой

Жизнь микроорганизмов неразрывно связана с окружающей средой. С одной стороны, деятельность микробов значительно изменяет окружающую среду в результате удаления из нее питательных веществ и выделения продуктов обмена; с другой стороны, интенсивность обменных процессов внутри клетки во многом зависит от условий окружающей среды. Наука о взаимоотношениях живых организмов с окружающей средой называется экологией. Различные виды организмов образуют сложные сообщества — *биоценозы*, представляющие собой не случайное скопление организмов, а организованную систему. Состав и характер биоценоза определяются свойствами окружающей среды и взаимоотношениями, существующими между представителями отдельных видов. Типы взаимоотношений между микроорганизмами многообразны.

*Симбиотические отношения* приносят взаимную выгоду симбионтам. Совместный рост таких организмов идет лучше, чем по отдельности. Широко распространенный пример симбиотических взаимоотношений — симбиоз зеленых водорослей и инфузорий. Водоросль, поселяясь внутри тела инфузории, использует энергию света для превращения  $\text{CO}_2$  в органические вещества, выделяя при этом кислород. Инфузория потребляет кислород для окисления органических веществ в процессе дыхания, образуя в итоге  $\text{CO}_2$ .

Широко распространен *метабиоз* — тип взаимоотношений, при котором жизнедеятельность одних микроорганизмов создает условия для развития других. Метабиоз обуславливает последовательность превращений одних веществ в другие и лежит в основе круговорота веществ в природе. Примером таких взаимоотношений может служить сообщество факультативных и облигатных анаэробов, осуществляющих процесс брожения осадков сточных вод в метантанках, а также нитрифицирующие бактерии родов *Nitrosomonas* и *Nitrobacter*.

Среди микроорганизмов широко распространены и такие типы взаимоотношений, как *хищничество* (пожирание бактерий простейшими), *паразитизм* (уничтожение бактерий бактериофагами), *конкуренция за источники питания* (например, между сапрофитными бактериями и жгутиковыми с сапрозойным способом питания). Многие виды микроорганизмов выделяют в среду продукты обмена, снижающие жизнедеятельность других организмов или убивающие их. Так, некоторые виды грибов и актиномицетов продуцируют биологически активные вещества — антибиотики, обладающие бактерицидным действием.

Пространство, занимаемое биоценозом, называется *биотопом*. Биоценоз и биотоп неразрывно связаны, воздействуют друг на друга и образуют экологическую систему, или, кратко, *экосистему*. Примеры природных экосистем — различные водоемы или их участки. К числу искусственных экосистем могут быть отнесены все сооружения биологической очистки сточных вод. Любая экосистема является открытой системой, для которой характерен постоянный обмен веществ и энергии как вне, так и внутри нее. Природные экосистемы способны к саморегуляции и до некоторой степени могут противостоять изменениям окружающей среды. Тем не менее условия среды существенно влияют на формирование экосистем и интенсивность обменных процессов внутри биоценоза.

Факторы окружающей среды, влияющие на жизнедеятельность микроорганизмов, подразделяют на физические и химические. Однако многие такие факторы тесно взаимосвязаны, так что изменение одного из них часто изменяет реакцию организма на действие других факторов.

### **1.8.2. Влияние физических факторов внешней среды на микроорганизмы**

К важнейшим физическим факторам, обуславливающим активность микроорганизмов, относятся температура и свет.

**Температура.** Активная жизнедеятельность микроорганизмов ограничивается температурами, лежащими в области от  $-2^{\circ}\text{C}$  (или ниже в средах с высоким осмотическим давлением) и примерно до  $+80^{\circ}\text{C}$ . В этом

температурном интервале вода находится в капельно- жидком состоянии, то есть в доступной для микроорганизмов форме.

Рост каждого вида микроорганизмов может происходить в определенном температурном интервале, ограниченном минимальной и максимальной для данного вида температурами, ниже и выше которых рост прекращается. Наиболее благоприятная температура в этом интервале, при которой рост максимален, называется *оптимальной*. Для каждого микроорганизма оптимальная температура определяется суммарным влиянием температуры на множество ферментативных реакций, происходящих в клетке этого микроорганизма.

По отношению к температуре микроорганизмы делят на три группы:

**1. Мезофилы** (от греч. «mesos»—средний, «phileo»— люблю). Эти микроорганизмы развиваются в интервале температур от 10 до 50°C. Оптимальная температура для них 25-37°C. К мезофильным микроорганизмам относится большинство бактерий, простейших, грибов. В эту же группу включены и все патогенные для человека и теплокровных животных организмы.

**2. Психрофилы, или холодолюбивые** (от греч. «psyhra» — холод). Среди них есть облигатные формы, растущие в диапазоне температур от —8 до 20°C с оптимумом 5-15°C, и факультативные психрофилы, развивающиеся в более широком температурном интервале от минусовых температур до 30—35°C. Для них оптимальная температура 20-25°C. Способность психрофилов интенсивно развиваться при низких температурах объясняется низким температурным оптимумом действия их ферментов. Для психрофилов характерно более быстрое уменьшение скорости роста при повышении температуры выше оптимальной, чем при ее снижении.

**3. Термофилы** (от греч. «therme» — тепло). Температурный диапазон развития облигатных термофилов от 40 до 80°C с оптимумом от 55 до 70°C. Факультативные термофилы способны к росту и при 25°C, и при 60—65°C. Для них оптимальна температура около 55°C. Особенность факультативных

термофилов заключается в их способности к метаболизму мезофильного и термофильного типов. Однако для перехода от мезофилии к термофилии необходим некоторый период адаптации. Эндо- и экзоферменты, а также все белки термофилов обладают необычной термоустойчивостью. Практически все структурные компоненты клеток термофилов качественно отличаются от подобных клеточных элементов мезофилов.

Способность развиваться при определенной температуре следует отличать от способности переносить ту или иную температуру. Так, многие микроорганизмы при температуре ниже нуля сохраняют жизнеспособность длительное время, но их активная жизнедеятельность приостанавливается. Споры многих бактерий не погибают даже при температуре кипения жидкого водорода ( $-252^{\circ}\text{C}$ ).

Значительно менее устойчивы микроорганизмы к действию высоких температур. Большинство неспорозоных бактерий погибает при температуре  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 10—15 мин, при  $100^{\circ}\text{C}$  — в течение 1 мин. Губительное действие высоких температур связано с денатурацией белков. Действие высоких температур — один из главных методов стерилизации.

Среди микроорганизмов, развивающихся в илах очистных сооружений систем водоотведения, обнаруживаются организмы всех трех температурных групп, но большинство составляют мезофилы. Термофильные культуры бактерий используют при сбрасывании осадков сточных вод.

**Свет.** Большинство микроорганизмов хорошо растет в темноте. Исключение составляют фототрофы, использующие энергию Солнца. Прямой солнечный свет губителен для микроорганизмов. Микробоцидное (убивающее) действие его обусловлено главным образом ультрафиолетовой частью спектра. Адсорбция ультрафиолетовых лучей белками и нуклеиновыми кислотами клетки приводит к необратимым химическим изменениям. Наиболее чувствительны к действию света вегетативные клетки. Губительнее ультрафиолетовые лучи действуют на большинство патогенных

микробов, чем на сапрофитов. Эти лучи обладают низкой проникающей способностью.

Облучение ультрафиолетовыми лучами применяют для обеззараживания артезианских вод.

### **1.8.3. Влияние химических факторов внешней среды на микроорганизмы**

Жизнедеятельность микроорганизмов и интенсивность обменных процессов зависят и от химического состава среды обитания. К важнейшим химическим факторам относятся: рН, окислительно-восстановительный потенциал, суммарная концентрация органических и неорганических веществ, наличие токсичных соединений.

**Концентрация водородных ионов (рН)** существенно влияет на развитие микроорганизмов. Большинство бактерий предпочитает среду со значением рН, близким к нейтральному (6,5—7,5). Однако некоторые виды бактерий хорошо растут в щелочной или более кислой среде. Для развития грибов благоприятна среда с рН 4 — 6. Актиномицеты лучше растут в щелочной среде.

Цитоплазматическая мембрана бактерий трудно проницаема для ионов водорода и гидроксильных групп, поэтому концентрация ионов водорода внутри клетки не уравнивается с рН внешней среды и остается достаточно постоянной даже при значительных колебаниях рН среды. Тем не менее метаболизм микроорганизмов зависит от значения рН, так как концентрация ионов водорода оказывает воздействие на состав питательной среды и поверхностные структуры клеток, влияя на диссоциацию кислот и оснований, растворимость различных веществ и т. д. Влияние рН может быть результатом взаимодействия ионов водорода с ферментами цитоплазматической мембраны и клеточной стенки, в частности с пермеазами (см. раздел 1.5.2 и 1.6.2).

В процессе жизнедеятельности многие микроорганизмы активно изменяют рН среды, выделяя, например, кислые продукты обмена.

Подкисление может быть настолько сильным, что рост микробов прекращается. Другие микроорганизмы, например, ацетоно-бутиловые бактерии, регулируют рН внешней среды, переходя при накоплении в среде кислот к синтезу нейтральных продуктов (смотри раздел 1.6.5).

Активный ил очистных сооружений также способен регулировать величину рН, но эта способность резко уменьшается, когда значение рН выходит за пределы 5—9. Примерно в том же интервале наблюдается максимальная интенсивность жизнедеятельности микроорганизмов активного ила.

Окислительно-восстановительные условия среды определяют пригодность ее для тех или иных видов микроорганизмов. Окислительно-восстановительная способность среды зависит от соотношения в ней окислителей и восстановителей и определяется величиной редокс-потенциала  $E_p$ . Величину  $E_p$  выражают в милливольтгах и определяют потенциометрическими методами. Для характеристики окислительно-восстановительных условий в биологических системах чаще пользуются величиной  $rH_2$ , которая представляет собой отрицательный логарифм давления молекулярного водорода в среде. Величина  $rH_2$  изменяется от 0 до 41. Минимальное значение  $rH_2$  соответствует сильно восстановительным условиям, которые могли бы быть при насыщении среды молекулярным водородом (при избыточном давлении 0,1 МПа). В среде, окислительные свойства которой соответствуют условиям, создаваемым при насыщении ее кислородом при том же избыточном давлении,  $rH_2=41$ . Равновесие окислительных и восстановительных условий характеризуется величиной  $rH_2=28$ .

Облигатные анаэробы развиваются в интервале значений  $rH_2=0—20$ , но активно размножаются, если величина  $rH_2=<7—8$ . Для факультативных анаэробов  $rH_2$  среды может изменяться от 0 до 30, для облигатных аэробов — от 12 до 30. Величина  $rH_2=>30$  характеризует среду с сильными окислительными свойствами, непригодную для развития микроорганизмов.

Величины  $E_p$  и  $r_{H_2}$  связаны следующим соотношением:

$$r_{H_2} = E_p / 0,03 + 2 \text{ рН.}$$

**Концентрация органических веществ** — питательного субстрата для микроорганизмов — в определенных пределах влияет на скорость изъятия субстрата и рост популяции микроорганизмов (см. раздел 1.5.4 и 1.7.2). Избыточная концентрация субстрата может привести к снижению скорости его окисления. Поэтому для сооружений биологической очистки сточных вод концентрация поступающей воды по БПК ограничена 500 мг/л.

**Концентрация неорганических солей** также не должна превышать определенной величины. Для сточных вод, поступающих на биологическую очистку, минерализация ограничена 10 г/л. Это объясняется тем, что многие организмы очень чувствительны к изменению концентрации солей и связанного с ней осмотического давления. Высокая концентрация солей в растворе может привести к плазмолизу клетки — потере ею воды.

**Токсичные соединения.** Многие химические соединения обладают антимикробным действием, при этом одни только издерживают развитие микробов (микробостатическое действие), другие обладают микробоцидными свойствами. Такие соединения обычно называют ядами. Однако абсолютных ядов не существует и степень их воздействия на микроорганизмы зависит от концентрации, продолжительности контакта и вида микробов. Многие яды в очень малых концентрациях оказывают даже стимулирующее действие, повышая биохимическую активность микроорганизмов.

Среди неорганических веществ микробоцидным эффектом обладают соли тяжелых металлов, такие окислители, как хлор, озон, бром, иод. Соединения серебра, ртути и меди проявляют микробоцидное действие в ничтожно малых концентрациях. Такое действие называется *олигодинамическим* (от греч. «oligos» — малый).

По степени токсичного воздействия на микроорганизмы металлы можно расположить в следующем порядке:

Sb~>>Ag>Cu>Hg>Co>Ni>Pb>Cr>V>Cd>Zn>Fe.

Нетрудно заметить, что среди токсичных металлов есть металлы, необходимые для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов (см. раздел 1.4.1). Например, при концентрации меди 0,5 мг/л она токсична для микроорганизмов активного ила, но как микроэлемент необходима им. Кобальт и железо- также постоянные компоненты живой материи, но концентрация кобальта более 1 мг/л считается токсичной для организмов активного ила.

Микробные яды используют для обеззараживания различных материалов, подавления нежелательных биохимических процессов. Микробоцидное действие сильных окислителей лежит в основе широко применяемых методов обеззараживания питьевых и сточных вод.

Сильными ядами для микробов являются и некоторые органические соединения: фенолы, спирты, формалин и т.д. В то же время многие из этих веществ могут использоваться специфическими группами микроорганизмов в качестве источников углеродного питания. Необходимое условие этого — предварительная адаптация микрофлоры. Например, установлено, что предельно допустимая концентрация фенола для городских станций биологической очистки сточных вод составляет 15 мг/л. В то же время адаптированный активный ил, специально предназначенный для очистки фенолсодержащих сточных вод, способен использовать фенол как источник углерода в концентрации до 1000 мг/л.

Механизм действия антимикробных соединений неодинаков: одни (окислители, фенолы, ПАВ, ионы водорода) влияют на функцию пограничных структур клетки, иногда вызывая ее повреждение, другие (тяжелые металлы, цианиды, некоторые окислители, спирты) нарушают структуру и функции белков, в том числе ферментов; третьи, проникая в клетку, способны реагировать с ДНК (азотистая кислота, некоторые антибиотики, окись этилена). Наконец, есть вещества, обладающие сходной структурой с важнейшими метаболитами клетки. Их называют

*антиметаболитами*, поскольку они способны замещать метаболиты в ферментативных реакциях, тем самым прекращая процесс (см. раздел 1.5.2).

## **2. Лабораторный практикум по дисциплине «Основы микробиологии»**

### **Тема 1. БЕЛКИ**

#### ***Лабораторная работа № 1. Реакция на белки по осаждению***

##### ***Приготовление раствора белка.***

##### **1. Приготовление яичного альбумина**

Белок куриного яйца, отделенный от желтка, взбивают и затем смешивают в колбе при встряхивании с десятикратным объемом дистиллированной воды. Раствор фильтруют через двойной слой смоченной водой марли или через один слой полотна, помещенный в воронку. Фильтрат представляет собой раствор яичного альбумина, а осадок на марле представляет собой яичный глобулин. Яичный глобулин переносят в химический стакан и растворяют в небольшом количестве 10 % раствора NaCl. Полученный раствор глобулина фильтруют, и фильтрат соединяют с половиной ранее полученного водного раствора яичного альбумина. В итоге получают два раствора: раствор чистого альбумина (раствор 1) и раствор альбумина и глобулина (раствор 2).

##### **2. Приготовление растительного альбумина**

25 г пшеничной муки смешивают со 100 мл дистиллированной воды и перемешивают полученную смесь в течение часа. Полученную взвесь муки центрифугируют, и прозрачный раствор осторожно сливают из центрифужных стаканчиков в колбу.

Прозрачный раствор содержит преимущественно альбумин пшеничных зерен (раствор 3).

Оборудование и реактивы: лабораторная центрифуга, воронка, фильтры, растворы белков, насыщенный раствор сернокислого аммония, хлористый

натрий в порошке, сернокислый магний в порошке, 1% и 10% раствор гидроксида натрия, 5% раствор сернокислой меди, 5% раствор уксуснокислого свинца.

### **Опыт 1. Высаливание белков сернокислым аммонием**

Наливают в пробирку 1 –1,5 мл раствора белка (раствор 2 или раствор 3), добавляют равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония и слегка встряхивают смесь до появления мути. *Объясните, какой белок выпадает в осадок?*

Мутную жидкость фильтруют через сухой складчатый фильтр. Полученный прозрачный раствор помещают в пробирку и нагревают до кипения. *Что при этом происходит? Какой белок в этом случае выпадает в осадок?*

### **Опыт 2. Высаливание белков хлористым натрием и сернокислым магнием**

В две пробирки наливают по 2-3 мл раствора белка (раствор 2 или раствор 3). Прибавляют при перемешивании до полного насыщения раствора, т.е. до момента, когда часть кристаллов солей перестают растворяться, в одну пробирку тонко измельченного хлористого натрия, а в другую сернокислого магния, через несколько минут в обеих пробирках появляется осадок. *Объясните, какой белок переходит в нерастворимое состояние в этих опытах?*

Содержимое пробирок отфильтровывают и прибавляют к фильтрату несколько капель разбавленной уксусной кислоты до слабокислой реакции. *Что при этом происходит?*

В водном растворе белков их частицы являются заряженными и сильно гидратированными. Эти факторы обуславливают устойчивость белковых растворов. Но при высокой концентрации солей происходит разрушение водных оболочек белковых молекул за счет гидратации ионов соли, т.е.

молекулы воды переходят из гидратной оболочки белка в гидратную оболочку соответствующих ионов и вслед за этим наступает снятие заряда с белковой молекулы в слабокислой среде адсорбирующимися на ней ионами соли, в результате этих двух процессов белковые растворы теряют устойчивость, частицы белка слипаются друг с другом и выпадают в осадок.

### Опыт 3. Свертывание белков при нагревании

В три пробирки наливают по 2 мл растворов белка (раствор 1, раствор 2 или раствор 3)

а) нагревают содержимое первой пробирки. *Что при этом происходит?*

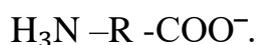
б) добавляют во вторую пробирку около 0,5 мл 10 % раствора уксусной кислоты и нагревают. *Образуется ли осадок белка в этом случае?*

в) добавляют в третью пробирку около 0,5 мл 10 % раствора гидроксида натрия и нагревают. *Происходят ли какие-либо изменения с раствором?*

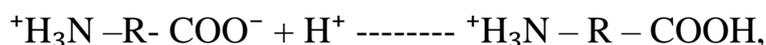
Выпадение белков и осадок при нагревании (свертывание) характерно почти для всех белков (исключение составляет желатина). Особенно легко и полно происходит осаждение белков в слабокислой среде, вблизи от изоэлектрической точки. В сильно кислой среде осаждение белков идет значительно хуже, а в щелочной среде вовсе не наблюдается. Белки, как амфотерные электролиты, могут диссоциировать как кислоты и как основания. Схематично молекулу белка можно представить следующим образом:



В водной среде, особенно вблизи изоэлектрической точки, молекулы белка представляют собой нейтральный, биполярный ион:



В кислой среде подавляется кислотная диссоциация белка, и молекула заряжается положительно:



а в щелочной среде подавляется, основная диссоциация белка и молекулы его несут отрицательный заряд. Наличие заряда препятствует осаждению белка, поэтому в кислых и щелочных растворах белок находится в растворенном состоянии даже при его кипячении.

#### **Опыт 4. Осаждение белков солями тяжелых металлов**

В две пробирки наливают по 1 – 1,5 мл раствора белка (раствор 2 или 3) и медленно по каплям при встряхивании прибавляют в одну из них раствор сернокислой меди, а в другую – раствор уксуснокислого свинца. В обоих случаях образуются хлопьевидные осадки вследствие образования малорастворимого солеобразного соединения. Отметьте цвет осадков в обеих пробирках.

После образования осадков добавьте в обе пробирки избыток соответствующих солей (2 – 2,5мл). *Что происходит в этом случае?*

Соли тяжелых металлов (Hg, Ag, Cu, Pb и др.) вызывают необратимое осаждение белков, образуя с ними нерастворимые в воде соединения. Вследствие этого белки применяются в качестве противоядия при отравлении солями тяжелых металлов. Однако некоторые из таких осадков растворяются в избытке осадителя в результате пептизации осадка адсорбирующимися на его частицах ионами осадителя.

#### ***Лабораторная работа № 2. Цветные реакции на белки***

***Оборудование и реактивы:*** лакмусовая бумага, пробирки, растворы белков, азотно-ртутный реактив (реактив Миллона), концентрированная азотная кислота, 10 % раствор едкого натра, 1 % раствор медного купороса, 0,1 % раствор нингидрина.

Цветные реакции белков обуславливаются наличием в белковой молекуле определенных атомных группировок, образующих с

соответствующими реактивами окрашенные соединения. Цветные реакции дают возможность в некоторой степени судить о составе белков.

### **Опыт 1. Реакция с азотно-ртутным реактивом (реакция Миллона)**

В пробирку наливают 0,5 - 1мл раствора белков и прибавляют равный объем реактива Миллона. Образуется белый осадок. Полученный осадок нагревают. **Что при этом происходит?**

Реактив Миллона дает окрашивание почти со всеми фенолами.

У белков реакция обусловлена присутствием в них аминокислоты тирозина или триптофана, содержащих в своем составе бензольные кольца, поэтому эту реакцию дают почти все белки, за исключением тех, молекулы которых не содержат этих аминокислот (например, желатина).

### **Опыт 2. Ксантопротеиновая реакция белков**

К 1 мл раствора белка в пробирке добавляют 5 – 6 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка или мути от свернувшегося под действием азотной кислоты белка. Осторожно нагревают раствор и наблюдают изменение окраски осадка. Охлаждают смесь и осторожно добавляют к кислому раствору, не взбалтывая, по каплям избыток раствора щелочи до щелочной реакции. Выпадающий в начале осадок кислотного альбумината растворяется, и жидкость меняет свою окраску. Отметьте цвет образующейся жидкости. Ксантопротеиновая реакция зависит от наличия в молекулах белков остатков ароматических аминокислот, таких как фенилаланин, тирозин. Эти аминокислоты в результате нитрования образуют желтоокрашенные нитросоединения.

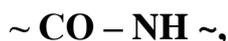
Желатина, не содержащая ароматических аминокислот, не дает этой реакции.

### Опыт 3. Биуретовая реакция

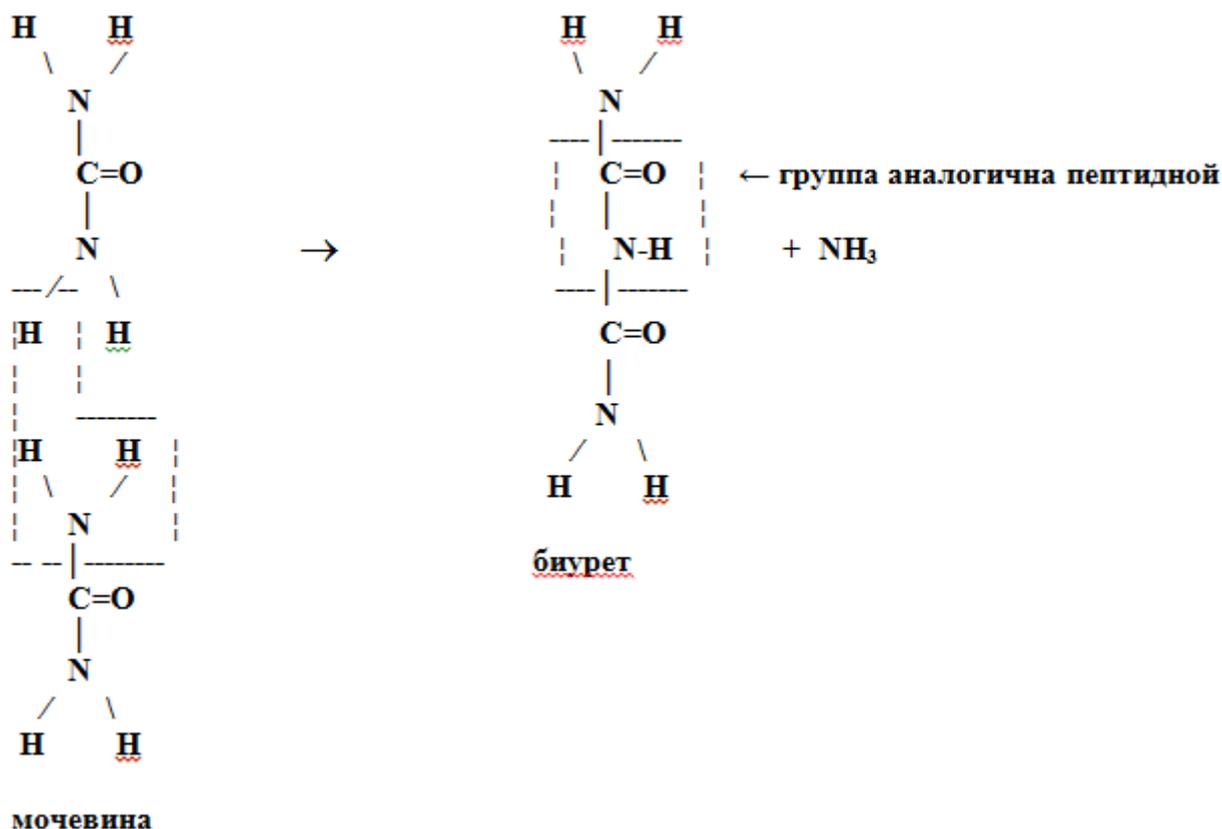
В пробирку наливают 1 – 1,5 мл раствора белка и добавляют равный объем раствора щелочи и затем 2-3 капли разбавленного (почти бесцветного) раствора медного купороса.

Отметьте, в какой цвет окрашивается жидкость в пробирке.

Биуретовая реакция обусловлена наличием в молекулах белка пептидных группировок



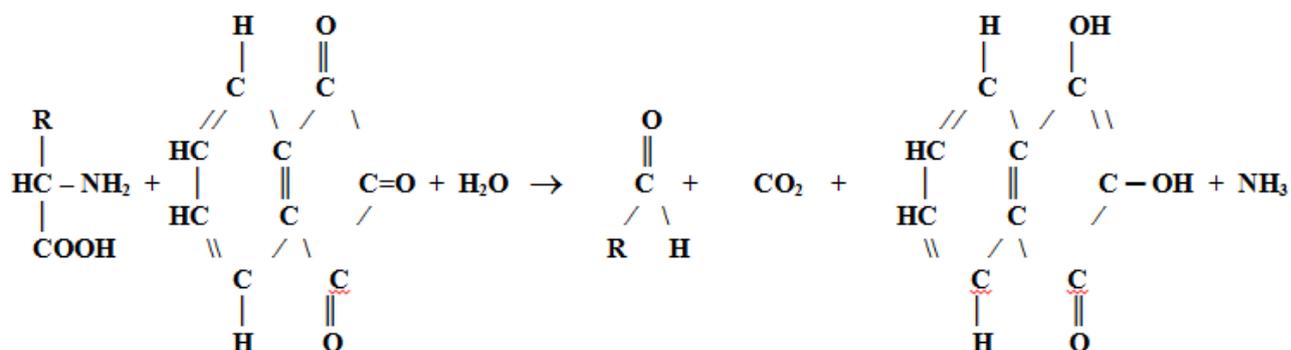
т.е. эту реакцию дают все белки. Этой реакцией можно установить наличие белка при растворении его 1 : 10000. Окраска возникает в результате образования комплексных соединений, содержащих медь. Свое название эта реакция получила за способность биурета, содержащего пептидную группировку  $\text{NH}_2 - \text{CO} - \text{NH} - \text{CO} - \text{NH}_2$ , вступать в эту реакцию (но биурет не является белком!). Биурет получают путем сплавления двух молекул мочевины.



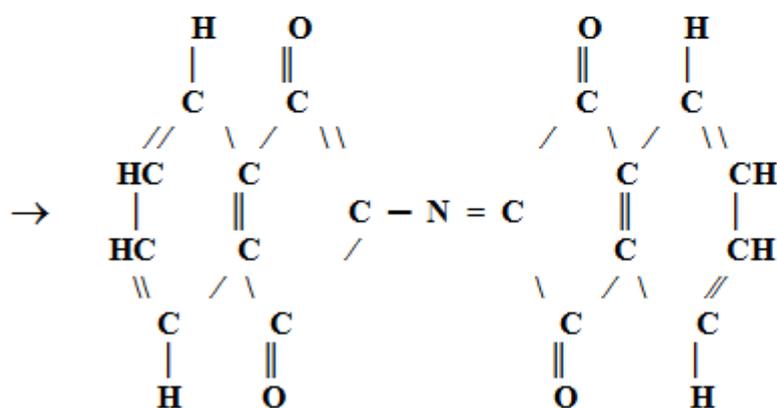
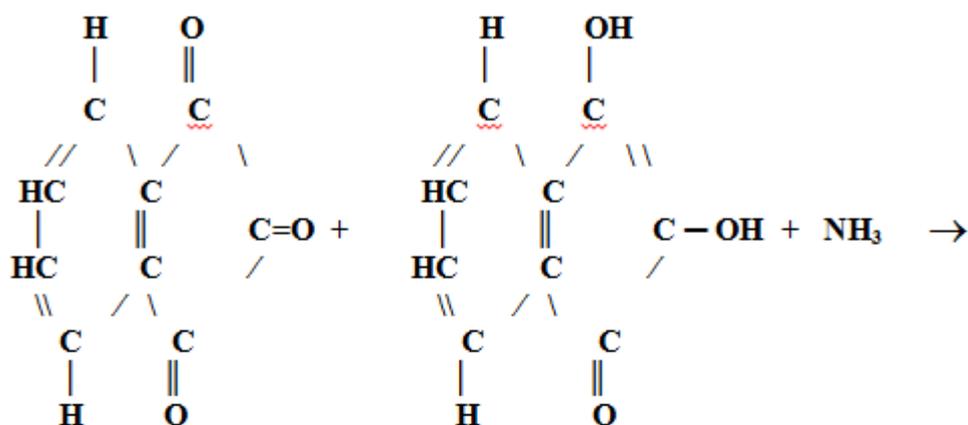
### Опыт 4. Нингидриновая реакция

К 1 мл раствора белка в пробирке прибавляют 4-5 капель 0,1 % раствора нингидрина, и раствор нагревают около минуты.

*Отметьте цвет раствора.*



$\alpha$ -амино-кислота + нингидрин + вода = альдегид + углекислый газ + восстановленный нингидрин + аммиак



(Раствор фиолетово-синей окраски).

Нингидриновая реакция характерна для α - аминокислот, поэтому она получается и с белками, содержащими в своей молекуле карбоксильные и α - аминогруппы.

Восстановленный нингидрин, конденсируясь с аммиаком и окисленной молекулой нингидрида, образует раствор, который имеет фиолетово–синюю окраску.

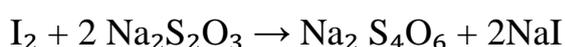
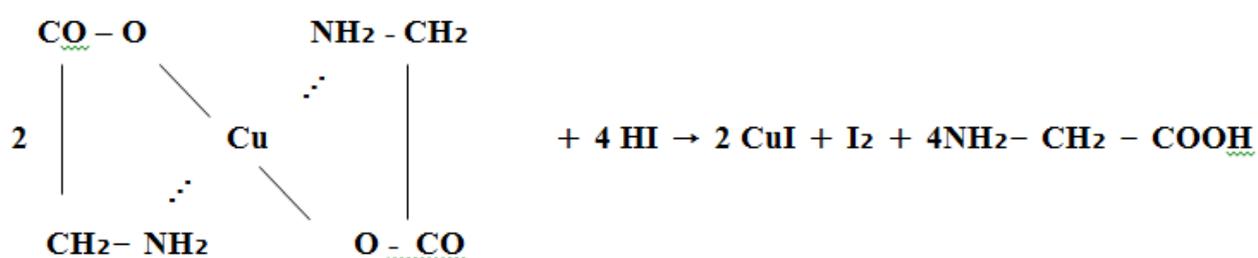
### ***Лабораторная работа № 3. Определение аминного азота медным способом***

Количественное определение α-аминного азота аминокислот и пептидов наряду с другими методами можно осуществить сравнительно просто так называемым медным способом. Сущность этого метода состоит в том, что α –аминокислоты и пептиды способны образовывать комплексные растворимые соединения с ионами двухвалентной меди, которые в дальнейшем определяют изометрическим методом.

Испытуемый раствор смешивают при слабощелочной реакции с избытком суспензии фосфорнокислой меди в боратном буферном растворе. Раствор хорошо перемешивают.

Медь образует при этом с аминокислотами и пептидами растворимые внутрикомплексные соли. Избыток фосфата меди отфильтровывают и в полученном прозрачном растворе разлагают медные комплексные соли, действуя на них йодистым калием в кислой среде. При этом происходит восстановление меди и выделяется свободный йод, который оттитровывают тиосульфатом натрия.

При этом протекают следующие реакции:



**Оборудование и реактивы:** колбы мерные по 25 мл - 2 штуки, пипетки на 2 мл – 1 шт., на 10 мл – 3 шт., бюретка на 20 – 50 мл, воронка для фильтрования, фильтры, конические колбы на 50 мл – 2 шт., раствор хлорной меди (27,3 г в 1 л раствора), трехзамещенный фосфат натрия (68,5 г ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ) в 1 л раствора), боратный буферный раствор (28,6 г буры растворяют в 750 мл воды, добавляют 50 мл 1 н. раствора  $\text{HCl}$  и добавляют водой до 1 л), суспензия фосфорнокислой меди (смешивают один объем хлорной меди с двумя объемами трехзамещенного фосфата натрия и приливают два объема боратного буфера), тимолфталейн (0,25 г тимолфталейна в 100 мл 50% этилового спирта), 0,1н раствор тиосульфата натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ), 1% раствор крахмала, раствор иодистого калия (10г в 100 мл раствора), концентрированная уксусная кислота, 0,5н раствор гидроксида натрия, 1% раствор глицина.

#### ***Порядок выполнения работы***

В мерную колбу на 25 мл берут 2 мл исследуемого раствора (1% раствор глицина). Добавляют 2 капли фенолфталейна и по каплям прибавляют раствор едкого натра до слаборозового окрашивания, (т.е. доводят рН раствора до 10,2). После этого добавляют 10 мл суспензии фосфата меди и хорошо перемешивают. Если вся суспензия фосфата меди входит в реакцию (на что указывает отсутствие осадка – избытка фосфата меди), следует добавить еще 5 мл суспензии. Колбу доводят до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают многократным переворачиванием колбы и отфильтровывают избыток фосфата меди через плотный фильтр. Фильтрат должен быть совершенно прозрачным. Из фильтрата берут две пробы по 10 мл в конические колбы для титрования, подкисляют 0,5 мл концентрированной уксусной кислоты, добавляют 5 мл раствора йодистого калия и выделившийся йод титруют 0,01 н. раствором тиосульфата натрия. Крахмал добавляют в тот момент, когда раствор примет соломенно-желтую окраску, в количестве 0,1 – 0,2 мл (2 - 4 капли).

Титрование продолжают до исчезновения появившейся синей окраски. По окончании процесса титрования отмечают количество мл тиосульфата натрия, пошедшего на титрование 10 мл пробы. Необходимо также проделать холостой опыт, в котором вместо раствора глицина берется такой же объем дистиллированной воды и все остальные операции проводятся также, как и в случае раствора аминокислоты. Если на титрование холостого опыта затрачивается какое-то количество мл тиосульфата натрия, то это его количество вычитают из найденного для опытного раствора. По уравнению реакции 1 атом выделившегося йода соответствует 1 атому меди, а атом меди соответствует 2 атомам или 28 г аминного азота. С другой стороны, 1 атом йода реагирует с другим эквивалентом тиосульфата натрия, следовательно, 1 эквивалент тиосульфата натрия соответствует 28 г аминного азота. Отсюда, 1 мл 0,01 н. раствора тиосульфата натрия отвечает 0,28 мг аминного азота. Умножением величины 0,28 мг на затраченный объем 0,01 н. раствора тиосульфата натрия получают количество мг аминного азота во взятом объеме пробы (10 мл), после этого делают перерасчет на весь объем раствора в колбе (25 мл) и сравнивают найденное количество аминного азота с теоретическим количеством содержащимся в 2 мл исследуемого раствора глицина.

### Расчетно-графические задания

1. Приведите все возможные взаимодействия, которые поддерживают третичную структуру белка при взаимодействии фрагментов полипептидной цепи:

-глу-вал-лей-цис-тир-

-арг-фен-ала-цис-гис-

2. Напишите уравнения реакций взаимодействия глицина:

а) с гидроксидом натрия;

б) с хлороводородной кислотой;

в) с гидроксидом меди (II).

валина:

- а) с этиловым спиртом;
- б) с пентахлоридом фосфора.

3. Напишите уравнения реакций согласно схеме и назовите продукты реакций:



Охарактеризуйте вещества А и Б и их биологическое значение.

## ТЕМА 2. ФЕРМЕНТЫ

### *Лабораторная работа № 4. Действие ферментов*

**Оборудование и реактивы:** мерный цилиндр на 25 мл, химические стаканы, воронки для фильтрования, вата, пробирки, водяная баня, термометры до 100°C, сосуд со льдом, пластинки стеклянные, стеклянные палочки, ступка с пестиком, раствор крахмального клейстера, 1 % раствор йода в йодистом калии, дрожжи, 1 % раствор сахарозы.

#### **Опыт 1. Приготовление разбавленной слюны**

Ополаскивают рот 2 –3 раза дистиллированной водой, чтобы удалить остатки пищи.

Затем отмеряют цилиндром 20 мл дистиллированной воды, сливают в стакан и ополаскивают этой водой рот в течение 1 –2 мин, выливают жидкость в другой стакан.

Эту операцию повторяют 2 –3 раза. Собранную жидкость (примерно 50 –60 мл) фильтруют через вату, и прозрачный фильтрат употребляют для проведения следующих опытов.

## **Опыт 2. Гидролиз крахмала под действием амилазы слюны**

В две пробирки наливают по 5 мл крахмального клейстера и в одну из них 5 мл воды, а в другую 5 мл раствора слюны. Обе пробирки одновременно помещают в водяную баню, в которой поддерживают температуру 40°C. В каждую пробирку помещают стеклянную палочку. Наблюдение за ходом гидролиза осуществляют с помощью йодной реакции.

Для этого наносят на стеклянную пластинку, положенную на лист белой бумаги, несколько капель раствора йода в йодистом калии и смешивают их с каплями гидролизуемой смеси из пробирок, где идет гидролиз. Через 1 мин с момента нагревания пробирок в водяной бане от каждой смеси отбирают, с помощью стеклянной палочки по капле жидкости и смешивают ее с каплей раствора йода на стекле. Повторяют подобное исследование через 2, 4, 6, и 8 минут. После 10 минут выдержки смеси в водяной бане к оставшейся в каждой пробирке жидкости добавьте 1–2 мл Фелинговой жидкости и нагрейте. *Что происходит при этом в пробирках? Объясните результаты наблюдений.*

## **Опыт 3. Влияние температуры на активность амилазы слюны**

В три пробирки А, В, и С наливают по 5 мл разбавленной слюны.

Пробирку А помещают в сосуд со льдом, пробирку В оставляют при комнатной температуре, которую отмечают по термометру, а пробирку С помещают на водяную баню при температуре 40°C. Через 5 мин во все три пробирки добавляют по 5 мл раствора крахмала. С помощью стеклянных палочек одновременно берут пробы из пробирок А, В и С и смешивают их с каплями йода в йодистом калии, нанесенными на стеклянной пластинке. Отмечают окраску проб жидкостей из каждой пробирки.

Пробы берут через каждые 2 минуты до тех пор, пока жидкость из какой-либо пробирки уже не будет изменять желтой окраске йода, что свидетельствует об окончании процесса гидролиза в данной пробирке.

Ход гидролиза крахмала отмечают в таблице по окраске с йодом различных проб:

Состав пробы	Время, мин						
	0	2	4	6	8	10	12
А (крахмал + слюна при 0°С)							
В (крахмал + слюна)							
С (крахмал + слюна при 40°С)							

*В заключении следует сделать выводы об оптимальной температуре для действия фермента и относительной скорости гидролиза при различных температурах.*

#### **Опыт 4. Действие сахарозы**

5 г дрожжей растереть в фарфоровой ступке с 2–3 мл воды и небольшим количеством речного песка. К тщательно растертой массе добавить около 40 мл дистиллированной воды, хорошо перемешать и полученный раствор профильтровывать через вату.

В две пробирки налить по 2 мл приготовленной вытяжки и добавить в каждую по 5 мл воды. Содержимое одной из пробирок нагреть до кипения и охладить. Затем в обе пробирки внести по 5 мл 1% раствора сахарозы и оставить на 10 минут. По истечении времени исследовать содержимое каждой пробирки на способность восстанавливать реактив Фелинга. Для этого к 4 мл реактива Фелинга в пробирке добавить 2 мл исследуемого раствора и смесь довести до кипения.

Опишите результаты опыта и объясните их.

#### **Расчетно-графические задания**

1. Приведите возможные уравнения реакций, которые иллюстрируют каталитическое влияние липазы, фосфатазы, гидролазы, синтетазы, карбон-нитроген-лигазы, карбон-кислород-лигазы.
2. Напишите уравнения реакций (с использованием структурных формул субстратов) и определите класс ферментов, которые участвуют в следующих превращениях:

- 1) аденозин + H<sub>2</sub>O → аденин + рибоза
- 2) АМФ + H<sub>2</sub>O → аденозин + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- 3) аденозин + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> → аденин + β-D-рибофуранозо-1-фосфат
- 4) глутаминовая кислота + NH<sub>3</sub> + АТФ → глутамин + АДФ + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- 5) фумаровая кислота + NH<sub>3</sub> → аспарагиновая кислота
- 6) аденозин + H<sub>2</sub>O → инозит + NH<sub>3</sub>
- 7) глутаминовая кислота → γ-аминомасляная кислота
- 8) NH<sub>3</sub> + CO<sub>2</sub> + АТФ → АДФ + карбамоилфосфат
- 9) ПВК → CO<sub>2</sub> ацетальдегид
- 10) ПВК + CO, + АТФ → ЩОК + АДФ + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- 11) ацетил -КоА + глиоксиловая кислота → малатоил-КоА
- 12) стеариновая кислота + HS-КоА + АТФ → стеарил-КоА + АМФ + пиррофосфат

### **ТЕМА 3. ВИТАМИНЫ**

#### ***Лабораторная работа № 5. Определение содержания аскорбиновой кислоты***

***Оборудование и реактивы:*** химические стаканы на 100 мл – 2 шт., микробюретка, пипетка на 10 мл, пробирки, аскорбиновая кислота (витаминный препарат), индикатор 2,6 дихлориндофенол, 3% раствор перекиси водорода, 2%, 10% растворы соляной кислоты, 1% раствор крахмала, 0,01 н. раствор йода.

#### **Опыт 1. Качественная реакция на витамин С**

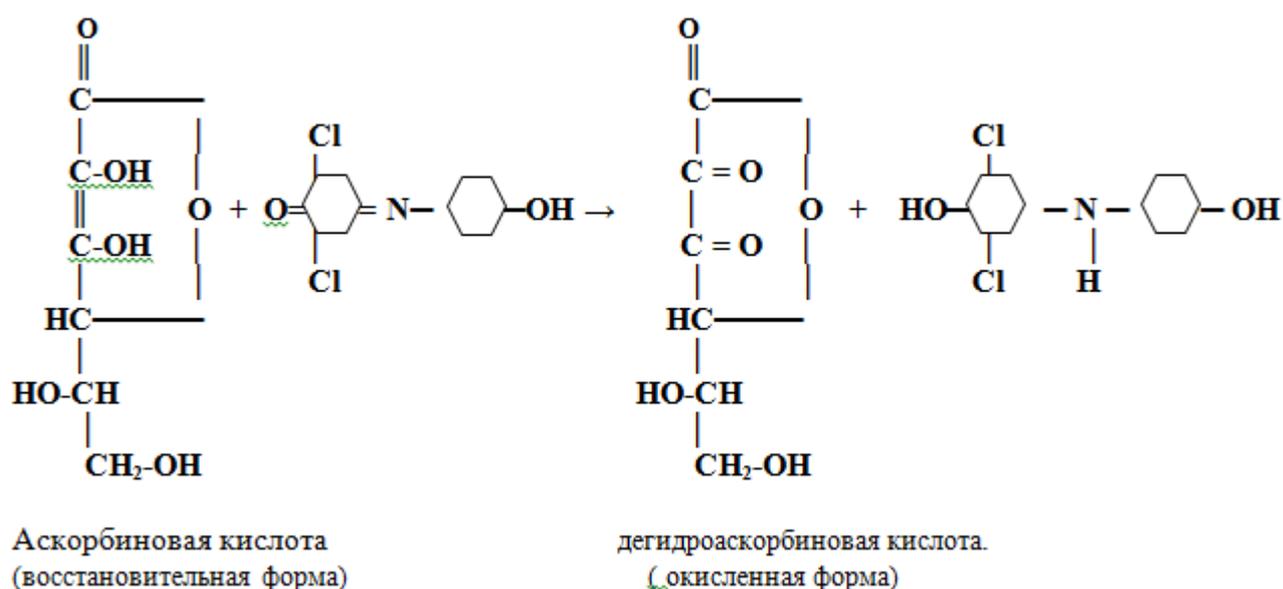
Определение витамина С производят или в растворе аскорбиновой кислоты или соке, полученном из картофеля, моркови, капусты.

#### **Ход работы**

Для получения сока исследуемый растительный материал пропускают через мясорубку и полученную массу отжимают через полотно. Полученный сок повторно фильтруют через марлю. В две пробирки наливают по 2 мл

исследуемого раствора. В одну из пробирок добавляют несколько капель 3% раствора перекиси водорода и содержимое пробирки нагревают, для разрушения витамина С. Добавляют в обе пробирки по 2 капли 10% раствора соляной кислоты и по каплям раствор натриевой соли 2,6 - дихлориндофенола. Реакция с раствором натриевой соли 2,6 - дихлориндофенолом основывается на способности аскорбиновой кислоты в результате взаимодействия образовывать дегидроаскорбиновую кислоту.

Схема:



*Отметьте окраску раствора в обеих пробирках как влияет витамин С на окрашивание красителя?*

### Опыт 2. Количественное определение витамина С

Растворить в 100мл 2% соляной кислоты 10 –20 мл аскорбиновой кислоты (витаминный препарат) предварительно растерев в порошок. После этого влить в химический стакан точно 10 мл приготовленного раствора аскорбиновой кислоты, 10 капель 1% раствора крахмала и оттитровать из микробюретки 0,01 н. раствором йода в йодистом калии до исчезающей в течение 10 с. синей окраски. Вычислить содержание аскорбиновой кислоты в полученном растворе, учитывая, что 1 мл раствора йода окисляет 0, 88 мг аскорбиновой кислоты.

## Расчетно-графические задания

1. Напишите формулы трех витаминов:  
пиридоксола, пиридоксаля, пиридоксамина ( витамин В<sub>6</sub>).
2. Напишите уравнения реакций (с использованием структурных формул):
  - а) ретинол → ретиналь;
  - б) аскорбиновая кислота → дегидроаскорбиновая кислота;
  - в) никотиновая кислота → никотинамид;
  - г) β-каротин → 2-ретинол (витамин А<sub>1</sub>).
3. Нарисуйте схему синтеза родопсина с участием витамина А.
4. Напишите формулу цианокобаламина (витамин В<sub>12</sub>).

## ТЕМА 4. УГЛЕВОДЫ

### *Лабораторная работа № 6. Реакции на углеводы*

#### **Материалы:**

щелочной раствор сегнетовой соли; раствор 69,26 г медного купороса в 1 л воды; глюкоза; солянокислый фенилгидразин; уксуснокислый натрий; 10% раствор уксусной кислоты; сахароза; 5 н. растворы соляной кислоты и едкого натра; растворимый крахмал; концентрированная серная кислота; раствор 0,127 г йода и 0,2 г йодистого калия в 100 мл воды; углекислая медь; 25 % раствор аммиака; крепкая азотная кислота (плотность 1,4 г/мл); смесь спирта и эфира (1:1).

#### **Оборудование:**

два химических стакана на 100 – 200 мл и часовое стекло для его накрывания, стеклянная палочка; 10 пробирок; асбестовая сетка; микроскоп, покровное и предметное стекло; фарфоровый тигель на 20 мл.

### **Опыт 1. Приготовление жидкости Фелинга**

К 3 мл щелочного раствора сегнетовой соли прилить 3 мл раствора медного купороса. Описать внешний вид полученной жидкости Фелинга. Написать уравнение реакции ее получения.

## **Опыт 2. Отношение моносахаридов к жидкости Фелинга**

К 1 мл 0,15% раствора глюкозы в пробирке прилить около 2 мл жидкости Фелинга. Нагреть раствор до кипения и кипятить 1 минуту. Отметить эффект, приводя уравнение реакции.

## **Опыт 3. Получение озаона глюкозы**

В пробирку всыпать около 0,1 мл глюкозы, 0,3 мл солянокислого фенилгидразина, 0,5 мл уксуснокислого натрия и влить 5 капель 10% раствора уксусной кислоты. Все это растворить в 5 – 7 мл воды. Пробирку погрузить в кипящую водяную баню, где держать до образования массы желтых кристаллов. На это требуется 15 – 20 минут. Описать эффект, рассмотреть форму кристаллов под микроскопом и написать уравнение реакции.

*Какая форма кристаллов озаона получилась бы у фруктозы, маннозы, галактозы?*

## **Опыт 4. Отношение сложных сахаров к жидкости Фелинга**

Налить в пробирку 1 мл 0,15 % раствора сахарозы. Прибавить 2 мл жидкости Фелинга. Смесь нагреть и кипятить 1 минуту, не более. Отметить и объяснить эффект.

## **Опыт 5. Гидролиз сложных сахаров**

Эту работу выполнять, только проделав предыдущую работу! В пробирку налить 1 мл 0,15% раствора сахарозы и 3 капли 5н. раствора соляной кислоты. Смесь нагреть до кипения, сейчас же охладить, влить в нее 3 капли 5н. раствора едкого натра, 1 мл жидкости Фелинга, довести до кипения и кипятить 1 минуту. Отметить эффект, объяснить его уравнениями реакций, сравнить с эффектом предыдущего опыта, объяснить разницу.

### Опыт 6. Гидролиз крахмала

В стакан налить 20 мл 1% раствора крахмала и 6 капель концентрированной серной кислоты, накрыть ее часовым стеклом и содержимое кипятить. Через каждые 10 минут отбирать пипеткой в чистую пробирку по 1 мл раствора. Пробу охладить и добавить к ней 1-2 капли раствора йода. Так продолжать до тех пор, пока проба с йодом окажется отрицательной. Описать результаты и объяснить их. Написать уравнение соответствующих реакций. Сравнить этот химический гидролиз с биохимическим.

К 3 – 5 мл 1% раствора крахмала в пробирке добавить равное количество собственной слюны, зажать пробирку в кулаке (для нагревания), через каждые 5 минут отбирать приблизительно по 1 мл для реакций с йодом. Отметить эффект, объяснить его, сравнить скорость биохимического (ферментативного) гидролиза с химическим. Написать уравнение реакции ферментативного гидролиза крахмала. *Какой фермент здесь действовал (его название)?*

### Опыт 7. Растворение клетчатки в реактиве Швейцера

В стакан поместить около 0,5 г углекислой меди и 5-6 мл 25 % раствора аммиака.

Получается темно-синий раствор (реактив Швейцера). В него бросить кусочки ваты и размешать стеклянной палочкой. Должен получиться густой раствор (темно-синий кисель). Не вынимая палочки, но прекратив помешивание, прилить к нему 10% раствор соляной или серной кислоты до явно кислой реакции. Если теперь вынуть стеклянную палочку из стакана, с ней вместе вынется прозрачный мешочек, наполненный синим густым раствором. Объяснить эффект, какое практическое значение имеет эта реакция?

*Какова формула медноаммиачного шелка?* Вата может не раствориться, если раствор аммиака будет недостаточно крепким, в таком

случае надо, погрузив цилиндр с аммиаком в лед или снег, насытить его аммиаком, который можно получить, подщелачивая и кипятя имеющийся раствор аммиака или раствор углекислого аммония.

### **Опыт 8. Получение коллодия**

В сухой цилиндр на 10 мл влить 4 мл концентрированной серной и 2 мл концентрированной азотной кислоты (уд.в.1,4). Слегка разогревшуюся смесь перелить в маленький фарфоровый тигель, поместить сюда пучок ваты и с помощью палочки добиться, чтобы он весь был смочен нитрующей смесью. Выдержать так около 10 – 20 мин, слить избыток нитрующей смеси, промыть коллоидную вату 2 -3 раза водой, каждый раз отжимая ее палочкой. Затем досуха отжать вату между двумя листами фильтровальной бумаги, вытереть тигелек, бросить туда вату и налить немного смеси спирта и концентрированной серной кислоты (2 : 1) до образования густого раствора. Если этот раствор вылить на стекло, то после испарения растворителя образуется тонкая коллодийная пленка. Написать уравнение реакции.

## **ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ОСНОВЫ ОБЩЕЙ МИКРОБИОЛОГИИ.....	8
1.1. ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МИКРООРГАНИЗМАХ.....	8
1.1.1. Положение микроорганизмов в системе живого мира. Принципы их систематики .....	8
1.1.2. Особенности микроорганизмов .....	10
1.2. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫСШИХ ПРОТИСТОВ.....	13
1.2.1. Структурная организация эукариотической клетки.....	13
1.2.2. Простейшие.....	14
1.2.3. Водоросли .....	21
1.2.4. Грибы.....	26
1.2.5. Другие организмы природных и сточных вод .....	28
1.3. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НИЗШИХ ПРОТИСТОВ И УЛЬТРАМИКРОБОВ .....	32
1.3.1. Строение прокариотической клетки .....	32
1.3.2. Бактерии .....	35
1.3.3. Цианобактерии .....	40

1.3.4. Ультрамикробы .....	42
<b>1.4. ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ КЛЕТКИ .....</b>	<b>43</b>
1.4.1. Элементный состав клетки.....	43
1.4.2. Вода.....	45
1.4.3. Органические компоненты клетки .....	45
<b>1.5. ФЕРМЕНТЫ .....</b>	<b>51</b>
1.5.1. Природа ферментов и особенности ферментативного катализа....	51
1.5.2. Структура, механизм действия и свойства ферментов .....	54
1.5.3. Классификация ферментов.....	58
1.5.4. Кинетика ферментативных реакций .....	63
<b>1.6. МЕТАБОЛИЗМ МИКРООРГАНИЗМОВ.....</b>	<b>68</b>
1.6.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии .....	68
1.6.2. Конструктивный метаболизм.....	71
1.6.3. Типы метаболизма микроорганизмов .....	78
1.6.4. Энергетический метаболизм фототрофов .....	79
1.6.5. Энергетический метаболизм хемотрофов, использующих процессы брожения .....	81
1.6.6. Энергетический метаболизм хемоорганотрофов, использующих процесс дыхания.....	87
1.6.7. Энергетический метаболизм хемолитоавтотрофов .....	92
<b>1.7. РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ.....</b>	<b>94</b>
1.7.1. Общие представления о росте и развитии микроорганизмов .....	94
1.7.2. Закономерности роста и развития микробной культуры.....	96
1.7.3. Влияние лимитирующих факторов на скорость роста.....	100
<b>1.8. МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА.....</b>	<b>102</b>
1.8.1. Взаимосвязь микроорганизмов с окружающей средой.....	102
1.8.2. Влияние физических факторов внешней среды на микроорганизмы .....	103
1.8.3. Влияние химических факторов внешней среды на микроорганизмы .....	106
<b>2. Лабораторный практикум по дисциплине «Основы микробиологии».....</b>	<b>110</b>
<b>Тема 1. БЕЛКИ .....</b>	<b>110</b>
<b>Лабораторная работа № 1. Реакция на белки по осаждению .....</b>	<b>110</b>
Опыт 1. Высаливание белков сернокислым аммонием .....	111
Опыт 2. Высаливание белков хлористым натрием и сернокислым магнием .....	111
Опыт 3. Свертывание белков при нагревании .....	112
Опыт 4. Осаждение белков солями тяжелых металлов.....	113
<b>Лабораторная работа № 2. Цветные реакции на белки .....</b>	<b>113</b>
Опыт 1. Реакция с азотно-ртутным реактивом (реакция Миллона) ....	114
Опыт 2. Ксантопротеиновая реакция белков .....	114
Опыт 3. Биуретовая реакция .....	115
Опыт 4. Ninhидриновая реакция .....	116

Лабораторная работа № 3. Определение аминного азота медным способом .....	117
Расчетно-графические задания .....	119
ТЕМА 2. ФЕРМЕНТЫ.....	120
Лабораторная работа № 4. Действие ферментов .....	120
Опыт 1. Приготовление разбавленной слюны .....	120
Опыт 2. Гидролиз крахмала под действием амилазы слюны .....	121
Опыт 3. Влияние температуры на активность амилазы слюны .....	121
Опыт 4. Действие сахарозы.....	122
Расчетно-графические задания .....	122
ТЕМА 3. ВИТАМИНЫ.....	123
Лабораторная работа № 5. Определение содержания аскорбиновой кислоты.....	123
Опыт 1. Качественная реакция на витамин С .....	123
Опыт 2. Количественное определение витамина С.....	124
Расчетно-графические задания .....	125
ТЕМА 4. УГЛЕВОДЫ .....	125
Лабораторная работа № 6. Реакции на углеводы.....	125
Опыт 1. Приготовление жидкости Фелинга.....	125
Опыт 2. Отношение моносахаридов к жидкости Фелинга .....	126
Опыт 3. Получение озона глюкозы.....	126
Опыт 4. Отношение сложных сахаров к жидкости Фелинга.....	126
Опыт 5. Гидролиз сложных сахаров .....	126
Опыт 6. Гидролиз крахмала .....	127
Опыт 7. Растворение клетчатки в реактиве Швейцера .....	127
Опыт 8. Получение коллодия.....	128
ОГЛАВЛЕНИЕ .....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	131

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Емцев, В.Т. Микробиология: учеб. для бакалавров: учеб. для вузов по направлениям и специальностям агроном. Образования/ В.Т. Емцев.- 8-е изд., испр. и доп. - М. : Юрайт, 2014. - 446 с.
2. Жарикова, Г.Г. Микробиология продовольственных товаров. Санитария и гигиена : учеб. для вузов по спец. "Товароведение и экспертиза товаров"/ Г.Г. Жарикова.- 3-е изд., стер. - М.: Академия, 2008. - 301 с.
3. Егорова, Т.А. Основы биотехнологии : учеб. пособие для вузов по специальности "Биология" / Т.А. Егорова.- 2-е изд., стер.- М.: Академия, 2005.- 208 с.
4. Агеева, Е.С. Общая биология и микробиология: лаб. практикум/ Е.С. Агеева, Иван. гос. хим.-технол. ун-т. - Иваново, 2013. - 101 с.
5. Кустова, Т.П. Введение в биотехнологию: учеб. пособие для студентов 4 курса биолого-хим. фак. / Т.П. Кустова, Иван. гос. ун-т.- Иваново: ИГУ, 2007. - 138 с.
6. Гусев, М.В. Микробиология/ М.В. Гусев, Л.А. Минеева.- М.: Академия, 2007. – 464с.
7. Арефьева, О.А. Микробиология: метод. указания к лабораторным работам Часть 1/ О.А. Арефьева, А.А. Ерошкина. – Саратов: СГТУ, 2007. – 27с.
8. Арефьева, О.А. Микробиология: метод. указания к лабораторным работам Часть 2/ О.А. Арефьева, А.А. Ерошкина. – Саратов: СГТУ, 2007. – 27с.
9. Сироткин, А.С. Агрегация микроорганизмов: флоккулы. Биопленки, микробные гранулы/ А.С. Сироткин.– Казань: Из-во «Фен» АНРТ, 2007. - 160 с.
10. Основы биотехнологии: учебно-методическое пособие / [А.С. Сироткин и др.]; казан. Гос. Технол. Ун-т. Казань, 2006. -100с.
11. Экология микроорганизмов / [А.И.Нетрусов и др.]; Изд. центр «Академия». – 2004. – 236 с.

12. Шлегель, Г. Общая микробиология/ Г. Шлегель; пер. с нем.- М.: Мир, 1997.
13. Стейниер, Р. Мир микробов. В 3 т./ Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Мингрэм.- М., 1979.- 330 с.
14. Перт, С.Д. Основы культивирования организмов и клеток/ С.Д. Перт.- М.: Мир, 1978.
15. Грин, Н. Биология (3 тома)/ Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор.- М.: Мир, 1996.
16. Методы общей бактериологии. В 3 т./ под ред. Герхардта. М.: Мир, 1984.
17. Определитель бактерий Берджи. В 2 т.- 9-е издание. М.: Мир. 1997. -280с.
18. Земсков, М.В. Основы общей микробиологии и вирусологии/ М.В. Земсков.- М.: Изд- во «Колос», 1972.– 286с.
19. Бухарин, О.В. Патогенные бактерии в природных экосистемах/ О.В. Бухарин, В.Ю. Литвин.- Екатеринбург, 1997. – 268 с.
20. Роуз, Э. Химическая микробиология/ Э. Роуз.- М.: Мир, 1971. – 286 с.

Учебное издание

Царев Юрий Валерьевич  
Тростин Александр Николаевич  
Царева Софья Александровна

## **ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ**

Учебно- методическое пособие

Редактор В.Л. Родичева

Подписано в печать 25.05.2016 Формат 60x84 1/16. Бумага писчая. Печать  
плоская. Усл. печ. л. 7,91, Уч. -изд. л. 8,77. Тираж 50 экз. Заказ  
ФГБОУ ВО «Ивановский государственный химико-технологический  
университет»

Отпечатано на полиграфическом оборудовании кафедры экономики и  
финансов ФГБОУ ВО «ИГХТУ»

153000, г. Иваново, пр. Шереметевский, 7