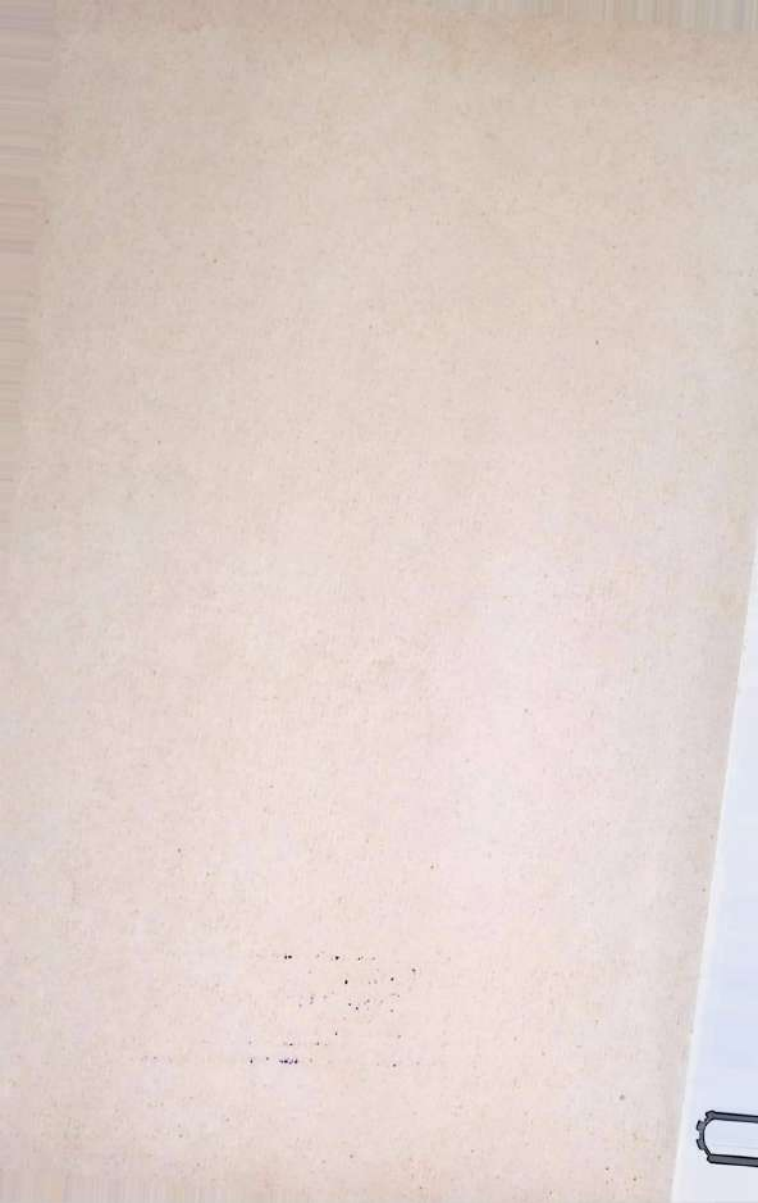


574.1
№ 210

УЧЕБНИКИ
ДЛЯ
ВУЗОВ

Е.Н. МИШУСТИН
В.Т. ЕМЦЕВ

Микро- биология



УЧЕБНИКИ И УЧЕБНЫЕ ПОСОБИЯ
ДЛЯ ВЫСШИХ УЧЕБНЫХ ЗАВЕДЕНИЙ

576.8
М-21

Е. Н. МИШУСТИН
В. Т. ЕМЦЕВ

Микро- биология

ИЗДАНИЕ ТРЕТЬЕ,
ПЕРЕРАБОТАННОЕ И ДОПОЛНЕННОЕ

Допущено Управлением высшего и среднего специального образования Государственного агропромышленного комитета СССР в качестве учебника для студентов высших учебных заведений по агрономическим специальностям

Библиотека
СамСХИ
ИНВ. №



ББК 28.4

М71

УДК 597.2:63(075.8)

Второе издание учебника удостоено Государственной премии СССР

Академик АН СССР *Е. Н. Мишустин* написал «Специальную микробиологию», а также «Введение» и главу «Биологическая фиксация молекулярного азота». «Общая микробиология» написана доктором биологических наук, профессором *В. Т. Емцевым*.

Рецензенты: доктор биологических наук *Е. М. Панкратова*; доктор биологических наук, член-корреспондент ВАСХНИЛ *В. Ф. Пересыпкин*; кандидат биологических наук *Э. Ю. Уласевич*

Мишустин Е. Н., Емцев В. Т.

М71 Микробиология. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Агропромиздат, 1987. — 368 с.: ил. — (Учебники и учебные пособия для высш. учеб. заведений).

В первой части учебника отражены современное состояние общей микробиологии и ее главные проблемы. В третьем издании (второе вышло в 1978 г.) показаны новейшие достижения в области морфологии, физиологии и генетики микроорганизмов, их систематики. Большое внимание уделено разнообразным метаболическим процессам, осуществляемым микроорганизмами. Вторая часть учебника посвящена вопросам сельскохозяйственной микробиологии. Рассмотрен состав микронаселения различных типов почв, влияние обработки почвы, удобрений и пестицидов на микрофлору. Показана роль микробиологических препаратов в сельском хозяйстве.

М $\frac{3802010000-351}{035(01)-87}$ 126-87

ББК 28.4+40.3

Евгений Николаевич Мишустин
Всеволод Тихонович Емцев

МИКРОБИОЛОГИЯ

Зав. редакцией *И. П. Незговорова*
Редактор *Ю. М. Лейкина*
Художник *А. Г. Моисеев*
Художественный редактор *Е. Г. Прибегина*
Технический редактор *Е. В. Соломович*
Корректор *В. П. Музыка*

ИБ № 3767

Сдано в набор 20.01.87. Подписано к печати 02.06.87. Т-01127. Формат 60×88^{1/16}. Бумага офсет. № 2. Гарнитура Литературная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 22,54. Усл. кр.-отт. 22,54. Уч.-изд. л. 26,51. Изд. № 264. Тираж 40 000 экз. Заказ № 920. Цена 1 р. 20 к.

Ордена Трудового Красного Знамени ВО «Агропромиздат», 107807, ГСП, Москва, Б-53 ул. Садовая-Спасская, 18.

Московская типография № 8 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательства, полиграфии и книжной торговли, 101898, Москва, Центр, Хохловский пер., 7.

© Издательство «Колос», 1978

© ВО «Агропромиздат», 1987, с изменениями

Микробиология — наука о весьма малых по размерам, не видимых невооруженным глазом организмах (греч. микрос — малый, биос — жизнь, логос — наука). Они называются микроорганизмами, или микробами, и могут быть отнесены к примитивным живым существам. Вместе с тем микроорганизмы имеют огромное значение, так как являются возбудителями разнообразных превращений минеральных и органических веществ, заболеваний человека, животных и растений.

Одни микроорганизмы могут быть обнаружены с помощью оптического микроскопа, другие различимы лишь под электронным микроскопом.

Максимальное увеличение оптического микроскопа достигает 3000. Он дает возможность различать частицы размером не менее 0,1—0,2 мкм*.

Современные электронные микроскопы обладают разрешающей способностью до 0,15 нм** и дают возможность видеть не только мельчайшие существа, но и тонкие структуры их клетки. Такой микроскоп позволяет увеличивать анализируемый объект в 750 000 раз.

При работе с микроорганизмами обычно используют увеличение оптического микроскопа в 1000—1500 раз, а электронного — в 30 000 — 100 000 раз.

Накопленный к настоящему времени материал показывает, что мир микроскопических существ очень широко и разнообразно представлен в природе. Объединение микробов в одну группу весьма условно, так как размер организма мало связан с его систематическим положением.

Значительная часть микробов представляет собой одноклеточные, примитивные организмы, относимые к прокариотам, резко отличающимся от эукариот, к которым принадлежат более совершенные растительные и животные организмы, включая микроскопические.

К прокариотам относятся бактерии, актиномицеты, а также цианобактерии (сине-зеленые водоросли), содержащие хлорофилл и являющиеся фотосинтетиками. Последнее свойство присуще лишь некоторым бактериям, большинство которых питаются органическими соединениями, нередко паразитируя на более высокоорганизованных существах. Имеются бактерии, окисляющие минеральные соединения и использующие получаемую таким путем энергию. Подобный процесс назван хемосинтезом.

* 1 мкм (микромметр) = 10^{-3} мм.

** 1 нм (наномметр) = 10^{-3} мкм = 10^{-6} мм.

Большая численность бактерий и огромная роль их в природе и жизни человека вполне оправдывают существование особой науки — бактериологии, изучающей эти микроорганизмы. В свою очередь, бактериология является составной частью микробиологии.

В сферу внимания микробиологии входят эукариотные микроорганизмы, например грибы, образующие мицелий, который может быть как одноклеточным, так и многоклеточным. Большую группу микроорганизмов составляют дрожжи, по строению цикла развития они должны быть отнесены к сумчатым грибам, хотя и представляют собой одноклеточные организмы. Детальное микроскопическое изучение грибов изучает наука микология.

Особую группу ультрамикроскопических структур, не имеющих клеточного строения и отличающихся по химическому составу от всех микроорганизмов, представляют собой вирусы. Живая природа их долгое время вызвала сомнение. Положение вирусов в системе живых организмов остается неясным. Они являются возбудителями разнообразных болезней растений, человека и животных. Своеобразие строения вирусов и их огромное значение обусловили возникновение специальной науки — вирусологии. Однако вполне закономерно включить учение о вирусах в общую биологическую дисциплину — микробиологию.

Микробиология изучает ультрамикроскопических паразитических микроорганизмов — фагов. По своему строению фаги не имеют аналогов среди других микроорганизмов. Они не могут быть отнесены ни к растениям, ни к животным. Обычно их определяют как вирусы микроорганизмов.

Микроскопические размеры имеют многие простейшие животные (протозоа) и зеленые растения, в основном водоросли. Нередко их особенности также рассматриваются в курсе микробиологии, хотя обычно группа простейших животных составляет содержание протозологии, а микроскопических водорослей — альгологии.

Человечество познакомилось с микроорганизмами косвенным путем, даже не догадываясь о их существовании. С незапамятных времен люди наблюдали брожение теста, готовили спиртные напитки, сквашивали молоко, делали сыры. Бродильные процессы поражали человека своей таинственностью, их подчас связывали с божественной силой. Так возник у римлян бог плодородия виноделия Бахус. С давних пор люди соприкасались с различными заболеваниями, в том числе эпидемическими. Например, в библейских книгах встречается указание о повальной болезни (вероятно чуме) и даются рекомендации профилактического характера — сжигать трупы и делать омовения.

Однако до середины прошлого века никто не мог себе представить, что разного рода бродильные процессы и заболевания могут быть следствием деятельности ничтожно малых существ.

До XV в. предполагали, что болезни вызываются «миазмами» — особыми болезнетворными испарениями, имеющимися в воздухе.

Эта точка зрения была высказана великим врачом древности Гиппократом, жившим в IV в. до нашей эры. Позже известный итальянский врач Д. Фракасторо (1478—1553) развил учение о «контагии». Он писал, что контагий представляет собой заражение, которое переходит с одного индивидуума на другой. Своей гениальной догадкой Фракасторо предвосхитил открытие микробов, которые еще длительное время оставались неизвестными человечеству.

В начале XVII в. Г. Галилеем был сконструирован микроскоп с небольшим увеличением. Этот прибор типа очковой линзы постепенно совершенствовался как самим Галилеем, так и другими исследователями, представляя собой все более короткофокусные линзы.

В 40-х годах XVII в. ученый-иезуит, римский профессор А. Кирхер (1601—1680), рассматривая с помощью увеличительных систем различные объекты, увидел в них мельчайших «червячков». Очевидно, это были микробы. Данные опыты, однако, имели случайный характер.

Более обстоятельные сведения о мире микроорганизмов были получены голландским ученым Антони ван Левенгуком (1632—1723), которого справедливо считают отцом микрографии, то есть описательной микробиологии. Занимаясь торговлей полотном, Левенгук весь свой досуг посвятил искусству шлифования линз. Ему удалось создать приборы, давшие значительно более совершенную картину увеличенных объектов, чем существовавшие в те времена оптические системы. Система Левенгука давала линейное увеличение в 270—300 раз. Можно отметить, что в этот период времени в Голландии шлифованию оптических стекол уделяли большое внимание.

С помощью своей оптики Левенгук сделал ряд интересных открытий, которые заставили высоко оценить его как великопного естествоиспытателя. Он наблюдал компоненты крови, явления кровообращения, структуру тканей растений, микроскопировал насекомых, водоросли, простейших и т. д. Однако более всего он восхищался микробами. Левенгук писал, что его взору никогда не представлялось более приятного зрелища, чем тысячи живых существ в капле воды («анималькулей», то есть «живых зверьков».)

О своих наблюдениях Левенгук писал Королевской академии наук Голландии. Особенно интересно одно из его писем (от 17/IX 1683 г.), в котором он подробно описал и отчетливо изобразил различных бактерий, обитающих во рту человека.

К настоящему времени собрано 20 объемных томов рукописей Левенгука.

Среди людей, заинтересовавшихся работами ученого, был царь Петр I. Во время своей поездки в Голландию весной 1698 г. он встретился с Левенгуком, познакомился с усовершенствованными им микроскопами и серией препаратов. Петр I выразил желание приобрести увеличительные инструменты для русской Кунсткамеры. Один микроскоп Петр I получил в подарок.

С 1725 г. в мастерских Академии наук в Петербурге стали делать отечественные микроскопы. В XVIII в. особенно прославился мастерством изготовления микроскопов И. Беляев с сыновьями. Производством микроскопов в России в конце XVIII в. руководил известный механик-самоучка И. Кулибин. В 1741 г. Академия наук имела 21 микроскоп.

Таким образом, к миру микроорганизмов было привлечено всеобщее внимание, и началось описание разных представителей диковинного микроскопического мира. Однако ученые того времени не подозревали о роли, которую играют микроорганизмы в природе. Для наблюдателей это были лишь весьма курьезные, интересные существа.

Накопление материала о формах и разнообразии микроорганизмов длилось довольно долго. Объект исследования был крайне труден, и возможности его познания даже у опытных исследователей подчас вызывали скептицизм.

Выдающийся шведский ученый К. Линней (1707—1778), составивший систему живого мира, введший бинарную номенклатуру, все микроскопические существа объединил в один род, дав ему наименование «Хаос». В некоторых случаях он включал бактерий в группу «таинственных живых частиц», не детализируя их характеристику. В одной из своих работ Линней отнес бактерий к червям и высказал мысль о безнадежности более точного познания этой группы невидимых существ.

Первая серьезная попытка систематики микроорганизмов принадлежит датскому ученому О. Мюллеру (1786), который описал живые микроскопические организмы (анималькули), живущие в воде и почве. Их называли «инфузории» — развивающиеся в настоях (*infusium*).

Ряд ценных данных о микробах получил русский исследователь, известный врач Д. С. Самойлович (1724—1810). Изучая причины свирепствовавших тогда эпидемий чумы, он много внимания уделил раскрытию природы этого заболевания. Самойлович пришел к оригинальному для своего времени заключению, что возбудителем болезни (чумы) является «особливое и совсем отменное существо». Он считал возможным делать против чумы предохранительные прививки. Самойлович усовершенствовал свои знания, работая в ряде стран Европы. В Лейдене он защитил диссертацию, и ему присвоили звание доктора медицины. Самойлович был избран членом пятнадцати академий.

Нельзя не отметить и работы М. М. Тереховского (1740—1796). С 1770 г. Тереховский около пяти лет работал за границей, в Страсбургском университете, который славился медицинской школой. Здесь Тереховский защитил докторскую диссертацию — свой главный научный труд. Диссертация называлась «Царство тьмы инфузорий Линнея». В ней была поставлена задача исследовать природу и пути возникновения микроскопических существ в различных настоях. На основании большого числа опытов ученый пришел к заключению, что «анималькули» — живые существа. Они

гибнут от высоких температур, ядов и электрического тока. Самым главным заключением было положение о невозможности самозаконного рождения «анималькулей», что противоречило взгляду многих ученых того времени. Тереховский писал, что известное положение Гарвея (1578—1651) — «все живое из яйца» — приобретает силу аксиомы.

По возвращении в Россию Тереховский работал в медицинских учебных заведениях. В 1782 г. он был утвержден в звании профессора Петербургского генерального сухопутного госпиталя и директора Ботанического сада (ныне Ботанический институт АН СССР).

В 1835 г. на основе накопившихся к этому времени фактов К. Эренберг выпустил книгу с весьма знаменательным заголовком: «Инфузории как совершенные организмы». Он разделил низшие существа на 22 класса. К книге прилагался атлас инфузорий, многие из которых были подробно описаны и названы по бинарной номенклатуре. Три класса включали в себя бактерии.

В середине XIX в. в России вышла книга П. Ф. Горяинова «Зоология», где был раздел, посвященный инфузориям. Горяинов в основном придерживался систематики Эренберга. К тому времени, благодаря работам Ф. Кона (1828—1898) и К. Негели (1817—1891), была выяснена природа некоторых микроорганизмов (бактерий).

С именами этих ученых связан возникший в то время спор о существовании и устойчивости у бактерий естественно-исторических видов. Кон был убежденным мономорфистом, то есть признавал у бактерий, как и у высших организмов, постоянство видов. Негели, подобно большинству его современников, относился к плеоморфистам. По его взглядам, отдельные виды микроорганизмов в зависимости от условий существования могли легко менять свою форму и физиологические функции. Такие представления возникали в результате недостаточно точной методики работы с микроорганизмами, культуры которых загрязнялись посторонними формами микроскопических существ.

Таким образом, к середине XIX в. имелся большой материал о разнообразных группах микроорганизмов. Однако физиология и обмен веществ у микроскопических существ оставались не затронутыми научными исследованиями. Поэтому роль микромира в природе, а также в жизни и деятельности человека оставалась невыясненной.

Широкое развитие микробиологии связано с именем великого французского ученого Л. Пастера (1822—1895). Он впервые показал огромную роль микроорганизмов как возбудителей разнообразных биохимических превращений и заболеваний живых существ. Работы Пастера открыли новый период в развитии микробиологии, который называется физиологическим.

В начале своей деятельности Пастер изучал вращение поляризованного света жидкостями. При этом он сделал следующее открытие фундаментального значения. Кристаллическая рацемиче-

ская винная кислота может быть разделена на кристаллы двух видов, имеющие в растворе противоположное удельное вращение.

Пастер наблюдал, что гриб *Penicillium glaucum* и дрожжи, развиваясь на соли рацемической винной кислоты, потребляют лишь один ее оптический изомер. Эта работа сыграла важнейшую роль в развитии биохимии, дала мощный толчок развитию исследований в области стереохимии ферментативного катализа.

В дальнейшем Пастер занялся выяснением природы различных брожений. По воззрениям того времени, брожение считалось чисто химическим процессом, вызываемым самопроизвольно распадающимся белком. Пастер установил, что каждый тип бродильного процесса имеет своих возбудителей. Он показал, что сахар превращается в молочную кислоту под воздействием специфических молочнокислых бактерий, спиртовое брожение вызывается другими микроорганизмами — дрожжами. Молочнокислые бактерии, как и дрожжи, являются живыми существами, способными жить без воздуха (анаэробно).

Позднее, изучая возбудителей маслянокислого брожения, Пастер выявил, что воздух вреден для этих микроорганизмов. Они могут жить только в отсутствие кислорода. Таким образом были открыты строгие анаэробы.

Открытие Пастером бескислородной жизни вызвало взрыв протестов, так как считалось, что кислород — «жизненный газ», без которого существование организмов невозможно. Однако Пастер оказался прав, и открытое им явление анаэробнозиса имело большое значение для создания теории брожений. По мнению Пастера, брожение есть не что иное, как жизнь без свободного кислорода. При анаэробнозисе бактерии получают необходимую для жизни энергию, вызывая распад органических соединений, то есть брожение.

Изучая уксуснокислое брожение, то есть окисление бактериями винного спирта в уксусную кислоту, Пастер убедился в существовании особого типа превращений органических веществ микроорганизмами, названного «окислительным брожением». Исследования Пастера имели не только научное, но и практическое значение. Так, по вопросам бродильного производства — виноделию, пивоварению и получению уксуса — он опубликовал три монографии. В них были даны ценные указания по улучшению технологии этих процессов. Пастер доказал, что болезни вина и пива возникают при участии микроорганизмов.

Исследуя бродильные процессы, Пастер не мог пройти мимо такого распространенного и важного процесса, как гниение белковых веществ, обычно сопровождающегося образованием продуктов с резким, неприятным запахом. Гниение ранее рассматривали как химический процесс, но Пастер убедился в его биологической природе. Он установил также, что распад мочевины вызывается деятельностью бактерий, некоторые из которых описал.

Пастер опроверг самопроизвольное зарождение живого, которое признавалось в течение многих веков. Так, классики древности (Аристотель, Вергилий и др.) полагали, что даже высокоорганизованные существа могут возникать из мертвой материи. Эту точку зрения поддерживали и ученые эпохи Возрождения.

Интересно отметить, что в России Даниил Туптало (1651—1709), в будущем митрополит Ростовский, в своих сочинениях допускал самозарождение живых существ из майской росы, гниющих остатков и т. д. Однако, по его мнению, для этого необходимо было участие небесных сил.

Работы ряда исследователей, в том числе М. М. Тереховского, показали невозможность самопроизвольного зарождения низших существ, тем не менее до XIX в. эта проблема оставалась нерешенной.

После работ Пастера, которыми была установлена роль микроорганизмов в различных процессах, решение вопроса о возможности самозарождения микробов приобрело огромное практическое значение. За его решение Пастеру была присуждена премия французской Академии наук. Он безупречными опытами доказал, что если питательные среды надежно обезврежены от микроорганизмов, то жизнь в них даже в примитивных формах не зарождается.

Многочисленные возражения своих оппонентов Пастер отверг, показав методические ошибки в проведенных ими экспериментах.

Второй период своей научной деятельности Пастер посвятил изучению возбудителей заболеваний.

В 1849 г. на юге Франции погибли почти все шелковичные черви от болезни, называемой пебриной. Шелковичная промышленность юга страны находилась накануне гибели. Комиссия сената обратилась к Пастеру с просьбой выяснить причины болезни. Работая в течение пяти лет над этим вопросом, Пастер установил инфекционный характер заболевания и для борьбы с ним рекомендовал профилактические меры. Наряду с этим он ввел микроскопический анализ бабочек, откладывающих яйца (грону). Зараженные бабочки имели особые тельца, связанные с проникновением в них паразита.

Заболевание пебриной было ликвидировано.

Пастер рекомендовал также меры борьбы с другой болезнью шелковичного червя — фляшерией, или спячкой. Возбудителем этой болезни был стрептококк.

Исследуя болезни шелковичных червей, Пастер приблизился к решению медицинских и ветеринарных вопросов. Его заинтересовала сибирская язва, которой часто болели животные и люди. В середине XIX в. ряд ученых обнаружили в крови животных, павших от сибирской язвы, неподвижные нитевидные тельца — «бактеридии».

Пастер установил, что болезнь вызывается бактерией. В его опытах при отстаивании чистой культуры сибиреязвенной палочки

бактерии оседали на дно сосуда, и животное не заболело от прививки ему верхнего прозрачного слоя жидкости, так как причиной болезни были бактерии, содержащиеся в нижнем, мутном слое.

Пастер нашел способ борьбы с сибирской язвой путем предохранительных прививок. До этого, экспериментируя с возбудителем куриной холеры, он обнаружил, что впрыскивание ослабленных разводов возбудителя обуславливает невосприимчивость птицы к заболеванию. Этот принцип был применен и для профилактики сибирской язвы у животных. Пастер выращивал сибиреязвенную палочку при повышенной температуре (42—43°C), что вызывало резкое снижение ее болезнетворных свойств и даже полную их потерю. Прививка животному ослабленной культуры (вакцинация) создавала длительную невосприимчивость (иммунитет) к болезни.

Эффект иммунизации был наглядно продемонстрирован на одной из ферм. Стадо в 60 овец и 10 коров поделили на две равные части, одной из которых сделали прививку, другую оставили как контрольную, затем все стадо заразили активной культурой сибиреязвенной палочки. Результат был поразительным: через несколько дней контрольные животные погибли, вакцинированные остались живы.

Изучая сибирскую язву, Пастер выяснил причину существования «проклятых полей», при выпасе скота на которых животные нередко заражались этой опасной болезнью. Оказалось, что в этих местах зарывали павший от сибирской язвы скот. Пастер показал, что сибиреязвенный микроб может длительное время существовать в почве. Земляные черви выносят на поверхность земли зародыши бациллы, инфицирующие корм, что вызывает болезнь животных.

После работ с сибирской язвой Пастер занялся поиском возбудителей других заразных болезней. В его лаборатории проведено изучение таких болезней, как краснуха, или рожа свиней, фурункулез и послеродовая горячка человека и, наконец, бешенство. Было показано, что каждую болезнь вызывает специфический микроорганизм, внедряющийся в организм извне.

Следует особенно остановиться на исследовании Пастером бешенства.

Работа в этом направлении позволила установить факты, имеющие очень важное значение. Оказалось, что возбудитель болезни, находящийся в слюне больных собак, невидим под микроскопом. Это был фильтрующийся вирус. Выяснилось также, что яд бешенства локализуется в головном и спинном мозге. При медленном высушивании мозга бешеных кроликов Пастер получил сильно ослабленный вирус. Введением животным эмульсий этого препарата удалось иммунизировать их и сделать невосприимчивыми к активному вирусу бешенства.

Работы Пастера по предохранительным прививкам против бешенства стали широко известны. Появились и пациенты—

люди, укушенные бешеными животными. Прививка спасла их от смерти. Это произвело такое впечатление, что толпы укушенных животными хлынули в лабораторию Пастера. В то же время под влиянием отдельных неудач возникали сомнения и нападки на Пастера, которого даже обвиняли в шарлатанстве. Тем не менее огромный опыт свидетельствовал в пользу ученого, и метод антирабических (против бешенства) прививок получил широкое распространение.

Исследования Пастера, приведшие к разработке метода предохранительных прививок, заложили основы новой науки — иммунологии.

Нельзя не отметить, что работы Пастера оправдали гениальное предвидение знаменитого английского химика и философа Р. Бойля, который еще в XVII в. сказал, что природу заразных болезней поймет тот, кто объяснит явление брожений.

В 1873 г. Пастер был избран во Французскую медицинскую академию, а в 1882 г. — в Академию наук Франции. В 1884 г. Санкт-Петербургская академия наук избрала Пастера членом-корреспондентом по разряду биологических наук физико-математического отделения, а в 1893 г. — почетным членом.

Свои выдающиеся исследования Пастер выполнял в небольшой лаборатории. В 1871 г. Пастер писал, что его лаборатория была слишком ничтожна, а он имел большие планы работы, для которой не хватало света, воздуха и места.

В Париже в 1888 г. на средства, собранные по подписке, был открыт Пастеровский институт. Большой вклад на строительство института внесло русское правительство. В этом, ставшем знаменитым, институте работали многие выдающиеся микробиологи, в том числе русские. Среди них был И. И. Мечников — автор классических работ в области сравнительной патологии, эволюционной морфологии, микробиологии и иммунологии. Некоторое время он был вице-директором института. Длительное время (1922—1953) проработал в институте С. Н. Виноградский, выполнивший важнейшие исследования в области почвенной микробиологии. В число сотрудников Пастеровского института входили известные русские ученые — А. М. Безредка, Н. Ф. Гамалея, В. А. Хавкин, Я. Ю. Бардах, Н. В. Склифосовский, Г. Н. Габричевский, Л. А. Тарасевич, П. В. Циклинская и многие другие. Контингент русских был столь велик, что историограф Пастеровского института А. Делане в шуточной форме говорил, что он не знает, являлся ли в конце XIX в. институт Пастера французским или русско-французским учреждением.

В XIX в. интенсивная работа по медицинской микробиологии начала проводиться во многих странах. В Германии, например, работы большой важности по этиологии ряда заразных болезней были выполнены Р. Кохом (1843—1910). Значительный вклад в развитие медицинской микробиологии был сделан также П. Эрлихом, Э. Берингом, О. Ру и другими исследователями. Выдающееся значение имели работы русских медицинских микробиоло-

гов Л. С. Ценковского (1822—1887), И. И. Мечникова (1845—1916), Н. Ф. Гамалеи (1859—1948), Г. Н. Габричевского (1860—1907), Д. К. Заболотного (1866—1929).

Важная роль микробиологии для народного здравоохранения обусловила создание в России медицинских научно-исследовательских учреждений микробиологического профиля.

Когда стало очевидным, что микробиологические процессы имеют огромное значение в пищевой промышленности и в сельском хозяйстве, появилась потребность в более широком изучении микроорганизмов. Приведем краткий очерк основополагающих исследований в области почвенной и сельскохозяйственной микробиологии, выполненных ранее и проводящихся сейчас в ряде стран.

Известны работы французских ученых прошлого столетия Я. Шлезинга и А. Мюнца по изучению процесса нитрификации. Работая во Франции, русский ученый С. Н. Виноградский создал классический труд «Микробиология почвы», который был опубликован в СССР в 1952 г.

В Пастеровском институте до последнего времени существовал отдел почвенной микробиологии, возглавлявшийся Ж. Пошоном. Его работа, написанная с Г. де-Баржак, «Почвенная микробиология» (1960), издана в нашей стране.

В 1970 г. во Франции вышла фундаментальная работа И. Дюмерга и Ф. Манжено «Экология почвенных микроорганизмов». Как и в других странах, в настоящее время во Франции почвенной микробиологией занимаются в ряде научно-исследовательских учреждений.

Принципиальное значение имели и имеют исследования английских микробиологов, особенно всемирно известной Ротамстедской опытной станции, где в прошлом веке Р. Варингтон изучал особенности процесса нитрификации.

Позднее здесь были развернуты исследования по симбиотической азотфиксации и микоризе у растений (Ф. Натман, В. Мосс).

В конце прошлого и начале текущего столетия в Голландии фундаментальные работы, особенно в области фиксации молекулярного азота свободноживущими и симбиотическими бактериями, провел М. Бейеринк. В последнее время школе голландских микробиологов принадлежит ряд принципиально важных работ по общей микробиологии (А. Клюйвер, К. Ван-Ниль и др.). В области почвенной микробиологии работы ведутся в г. Вагенингене, где находится сельскохозяйственный центр.

В Германии в конце прошлого века Г. Гельригель и Г. Вилфарт выполнили принципиально важные работы в области почвенной микробиологии. В них было показано, что у бобовых растений фиксация молекулярного азота связана с наличием на их корнях клубеньков.

В первой четверти XX в. основательные методические работы по почвенной микробиологии были сделаны Ф. Лёнисом, написавшим труд «Основы сельскохозяйственной бактериологии».

Много внимания Лёнис уделял также изучению цикла азота. Позднее в ГДР профессор Г. Мюллер опубликовал книгу «Boden Biologie» (1965) — одно из лучших руководств по почвенной микробиологии.

В Техническом университете г. Дрездена работа по изучению микробиологических процессов почвы ведется под руководством Г. Фидлера. Из исследований в области общей микробиологии, проведенных в ФРГ, особенно следует отметить работы Г. Шлегеля (Гёттингенский университет) и К. Домша (Институт биологии почвы в г. Брауншвейге).

Много ценных работ выполнено в Скандинавских странах. Исследования по биохимии процесса азотфиксации, проведенные в 40-х годах текущего столетия финским ученым А. Виртаненом, были отмечены Нобелевской премией.

В этот период в Швеции Е. Мели опубликовал интересные работы о симбиотических грибах. Сейчас исследования по почвенной микробиологии проводятся в Сельскохозяйственном институте г. Уппсала.

Существенны достижения микробиологов США. Среди работ сельскохозяйственного профиля особенно следует отметить исследования С. Ваксмана по почвенной микробиологии. В 1927 г. вышел в свет его фундаментальный труд «Принципы почвенной микробиологии». Ваксман — автор широко применяемого антибиотика стрептомицина, за открытие которого ему была присуждена Нобелевская премия. В настоящее время сеть учреждений общемикробиологического и сельскохозяйственного направления в США достаточно велика. Здесь опубликована серия книг по общей микробиологии, и в частности наиболее полный определитель бактерий.

В Польше еще в конце прошлого века А. Пражмовский изучал симбиоз клубеньковых бактерий с бобовыми растениями. В настоящее время крупный микробиологический центр имеется в Сельскохозяйственном институте г. Пулавы, где кафедрой микробиологии заведует профессор В. Малишевская.

В Венгрии перед второй мировой войной Д. Фехер изучал микрофлору многих почв, в том числе тропических. Этот ученый создал школу почвенных микробиологов. Успешные работы в области сельскохозяйственной микробиологии ведутся в Почвенном институте Академии наук Венгрии, где руководит исследованиями доктор И. Сеги.

В Чехословакии до начала второй мировой войны вопросами почвенной микробиологии занимался ученый разносторонних интересов Ю. Стоклаза. Его работы были посвящены фиксации молекулярного азота, циклам в почве азота, серы и других элементов. Он посвятил ряд исследований выделению CO_2 почвой («дыханию почвы»).

Хорошо оснащенные институты общей микробиологии, где наряду с другими вопросами, как правило, изучают почвы, созданы в Чехословакии и Болгарии. Лаборатория почвенной микробио-

логии, в частности, имеется в Почвенном институте имени Н. Пушкина (София).

Работы в области сельскохозяйственной микробиологии ведутся и в других странах (например, Канада, Япония, Китай, Бразилия). Интересные исследования по изучению почвенных микроорганизмов выполнены японскими учеными Т. Хаттори и А. Ватанабе.

В русскую школу микробиологов, сформировавшуюся во второй половине прошлого столетия, входили выдающиеся ученые заслуги которых признаны во всем мире. Более молодое поколение этих исследователей продолжало активно работать после Великой Октябрьской социалистической революции, создавая фундамент науки страны социализма.

В предреволюционный период в нашей стране вырисовывается ряд направлений общей микробиологии. Во-первых, была заложена база для классификационно-систематических работ. Эти исследования связаны с именами выдающихся ученых — Л. С. Ценковского (1822—1887), А. П. Артари (1862—1919), Г. А. Надсона (1867—1942) и др.

Во-вторых, определилось эколого-физиологическое направление. Среди ученых, развивавших этот раздел микробиологии, выделяется С. Н. Виноградский (1856—1953), открывший хемотрофию у микроорганизмов — особый тип обмена, свойственный ряду бактерий почвы и воды.

Им же было установлено усвоение молекулярного азота свободноживущими бактериями и проведены выдающиеся исследования по экологии почвенных микроорганизмов.

Другой крупнейший микробиолог — В. Л. Омелянский (1867—1928), ученик С. Н. Виноградского, изучал процессы нитрификации, азотфиксации, распада клетчатки, а также экологию микроорганизмов почвы. В. Л. Омелянский написал учебник «Основы микробиологии» (1909), который выдержал десять изданий. В 1923 г. он опубликовал практическое руководство по микробиологии.

Общезвестно имя Д. И. Ивановского (1864—1920), открывшего фильтрующиеся фитопатогенные вирусы и ставшего основоположником вирусологии. Он много внимания уделял вопросам почвенной микробиологии: фиксации атмосферного азота, распаду белков, клетчатки и т. д.

Усвоению бактериями молекулярного азота в почве и распространению бактерий в море были посвящены работы Б. Л. Исаченко (1871—1948).

Третье направление в микробиологии может быть названо биохимическим. В. И. Палладин (1859—1922) и С. П. Костычев (1877—1931) выполнили классические исследования, изучая процессы дыхания и брожения. Большой вклад в выяснение трансформации микроорганизмами соединений, содержащих углерод, внес В. С. Буткевич (1872—1942), который получил также интересные результаты в области экологической (морской) микробиологии.

В 90-х годах прошлого столетия были организованы небольшие учреждения, разрабатывающие вопросы сельскохозяйственной микробиологии. В Петербурге открылась Сельскохозяйственная микробиологическая лаборатория Департамента земледелия, директором ее был М. Г. Тартаковский. В Москве при Обществе акклиматизации животных и растений на частные пожертвования создается Бактериолого-агрономическая станция, которую возглавил С. А. Северин.

Во многих городах, например в Москве, Харькове, Одессе, открываются медицинские микробиологические институты. В некоторых из них проводятся работы по общей и сельскохозяйственной микробиологии.

Так, в Институте экспериментальной медицины в Петербурге были выполнены уже отмечавшиеся выше классические работы С. Н. Виноградского и В. Л. Омелянского.

Исследования по общей и сельскохозяйственной микробиологии были начаты и в ряде высших учебных заведений, где читались лекции по микробиологии. В 1894 г. курс микробиологии вводится в Петровской сельскохозяйственной академии (ныне Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева).

Этот курс читал Н. Н. Худяков, автор первого учебника по сельскохозяйственной микробиологии, опубликованного в 1926 г.

В первом десятилетии XX в. микробиология становится обязательным предметом для изучения в большинстве высших учебных заведений.

В Петербургском университете преподавание курса общей микробиологии было начато Б. Л. Исаченко в 1906 г., в Московском университете — А. П. Артари в 1907 г.

Нельзя не отметить, что интерес к почвенной микробиологии привлекли выступления выдающихся почвоведов — В. В. Докучаева, П. А. Костычева и др. Докучаев считал, что курс микробиологии должен быть введен незамедлительно во всех университетах страны.

После Великой Октябрьской социалистической революции сеть биологических и сельскохозяйственных научно-исследовательских учреждений и высших учебных заведений значительно расширилась. В большинстве из них ведутся работы по микробиологии. Многие вузы имеют кафедры микробиологии.

Ряд микробиологических учреждений создан в системе АН СССР и академий наук союзных республик. В 1930 г. Г. А. Надсон, избранный действительным членом Академии наук СССР, организовал микробиологическую лабораторию АН СССР, которая в 1934 г. была преобразована в Институт микробиологии с очень широкой программой работы. Позднее (1965 г.) был создан Институт биохимии и физиологии микроорганизмов Академии наук СССР.

В системе ВАСХНИЛ в 1930 г. по инициативе академика

С. П. Костычева основан Институт сельскохозяйственной микробиологии.

Сейчас в микробиологических и биологических институтах общего профиля организованы лаборатории, ведущие исследования в области агрономической микробиологии. Работы в этой области развернуты и в почвенных институтах. Производство ряда веществ и препаратов, требующихся сельскому хозяйству, обеспечивают институты и предприятия Министерства медицинской и микробиологической промышленности СССР.

К настоящему времени получены данные, не только сильно расширившие наши представления о мире микробов, но и позволившие открыть новые антибиотики, которые с успехом применяются для лечебных и агрономических целей. Выяснилось, что микроорганизмы являются продуцентами таких биологически активных соединений, как витамины, аминокислоты, стимуляторы роста. Оказалось возможным использовать микробный белок для кормления животных.

Во многих случаях микробиологические препараты весьма эффективно применяют в борьбе с вредителями сельскохозяйственной продукции и т. д.

В условиях ускорения научно-технического прогресса необходимы новые подходы к определению значимости микробиологического фактора в сельскохозяйственном производстве. Один из важнейших таких подходов — развитие почвенной биотехнологии. В ее задачу входит регулирование количества почвенных микроорганизмов и активности микробиологических процессов с целью сохранения потенциального плодородия почвы и получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур при интенсивных технологиях их возделывания.

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 1

МОРФОЛОГИЯ И УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК БАКТЕРИЙ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ТИПЫ БАКТЕРИЙ

Эукариоты и прокариоты. Большинство микроорганизмов — одно-клеточные существа. Микробная клетка отделена от внешней среды клеточной стенкой, а иногда лишь цитоплазматической мембраной и содержит различные субклеточные структуры. Существуют два основных типа клеточного строения, которые отличаются друг от друга рядом фундаментальных признаков. Это эукариотические и прокариотические клетки. Микроорганизмов, имеющих истинное ядро, называют эукариотами (эу — от греч. истинный, карิโอ — ядро). Микроорганизмы с примитивным ядерным аппаратом относятся к прокариотам (доядерным).

К эукариотам принадлежат грибы, водоросли и простейшие. По строению они сходны с растительными и животными клетками. Бактерии и сине-зеленые водоросли (цианобактерии) относят к прокариотам.

В эукариотической клетке имеется ядро, отделенное от окружающей его цитоплазмы двухслойной ядерной мембраной с порами. В ядре находятся 1—2 ядрышка — центры синтеза рибосомальной РНК и хромосомы — основные носители наследственной информации, состоящие из ДНК и белка. При делении хромосомы распределяются между дочерними клетками в результате сложных процессов — митоза и мейоза. Цитоплазма эукариот содержит

Библиотека
СЗМСХИ
ИНВ. №

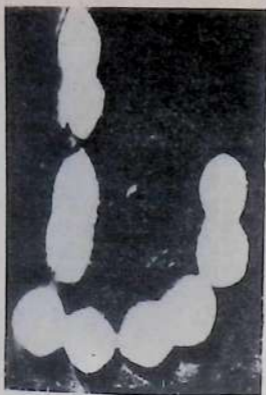


Рис. 1. Диплококки под электронным микроскопом (по Р. С. Вильямсу).

митохондрии, а у фотосинтезирующих организмов — и хлоропласты. Цитоплазматическая мембрана, окружающая клетку, входит внутри цитоплазмы в цитоплазматическую сеть; имеются также мембранная органелла — аппарат Гольджи.

Прокариотические клетки устроены проще. В них нет границы между ядром и цитоплазмой, отсутствует ядерная мембрана. ДНК в этих клетках не образует структур, похожих на хромосомы эукариот. Поэтому у прокариот не происходят процессы митоза и мейоза. Большинство прокариот не образует внутриклеточных органелл, ограниченных мембранами.

Кроме того, в прокариотических клетках нет митохондрий и хлоропластов.

Ниже рассматривается строение только прокариотической (бактериальной) клетки, так как строение эукариотической клетки освещено в соответствующих курсах ботаники и зоологии.

Форма бактерий. Бактерии, как правило, являются одноклеточными организмами, клетка их имеет довольно простую форму. Она представляет собой шар или цилиндр, иногда изогнутый. Размножаются бактерии преимущественно делением на две равноценные клетки.

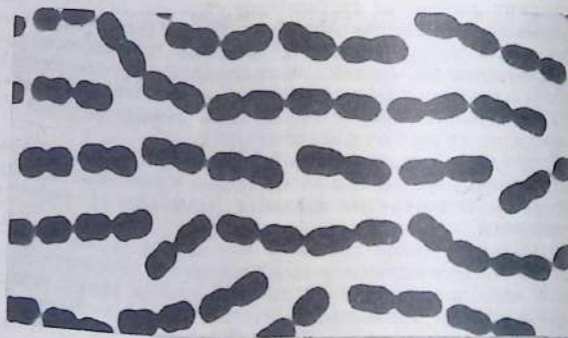


Рис. 2. Стрептококки под электронным микроскопом ($\times 2710$) (по Д. Куну и П. Эдлеману).

Бактерии шаровидной формы называются кокками (лат. *coccus* — зерно) и могут быть сферическими, эллипсоидальными, бобовидными и ланцетовидными.

По расположению клеток относительно друг друга после деления кокки подразделяют на несколько форм. Если после деления клетки расходятся и располагаются поодиночке, то такие формы называют монококками. Иногда кокки при делении образуют скопления, напоминающие виноградную гроздь. Подобные формы относятся к стафилококкам. Кокки, остающиеся после деления в одной плоскости связанными парами, называются диплококками, а образующие различной длины цепочки — стрептококками (рис. 1, 2). Сочетания из четырех кокков, появляющиеся после деления клетки в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, представляют собой тетракокки. Некоторые кокки делятся в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, что приводит к образованию своеобразных скоплений кубической формы, называемых сарцинами.

Большинство бактерий имеют цилиндрическую, или палочковидную, форму. Раньше все палочковидные формы назывались бациллами (лат. *bacillum* — маленькая палочка). После 1875 г., когда немецкий ботаник Ф. Коп открыл существование спор* у так называемой сенной палочки, палочковидные формы бактерий, образующие споры, стали именовать бациллами, а не образующие споры — бактериями.

Палочковидные бактерии различаются по форме, размеру в длину и в поперечнике, форме концов клетки, а также по взаимному расположению. Они могут иметь цилиндрическую форму с прямыми концами или овальную — с закругленными или заостренными концами. Бактерии бывают также слегка изогнутыми, встречаются нитевидные и ветвящиеся формы (например, микобактерии и актиномицеты).

В зависимости от взаимного расположения отдельных клеток после деления палочковидные бактерии делят на собственно палочки (одиночное расположение клеток), диплобактерии или диплобациллы

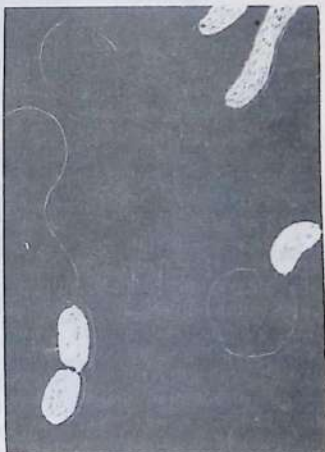


Рис. 3. Извитые (спиральные) бактерии *Vibrio metchnikovi* под электронным микроскопом ($\times 18\,000$) (по В. Итерсону).

* Споры — особые покоящиеся клетки, окруженные плотными оболочками, образующиеся внутри бактериальных клеток.

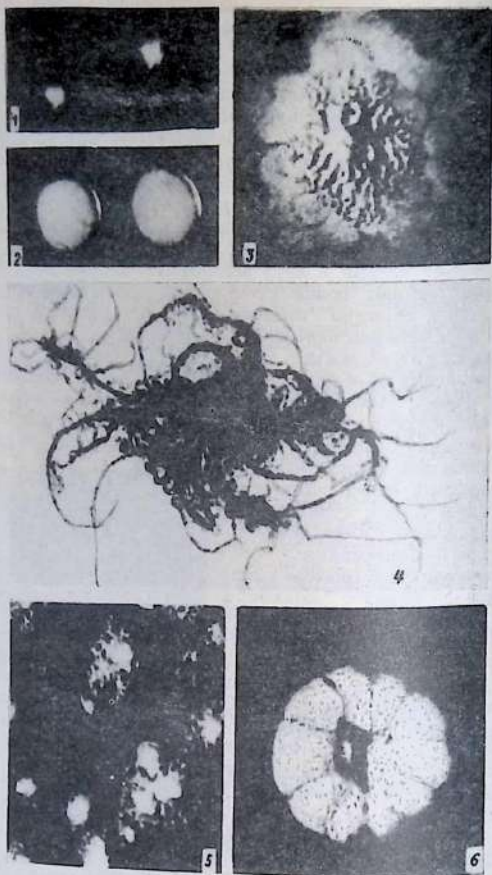


Рис. 4. Некоторые характерные типы колоний бактерий и актиномицетов на поверхности твердой питательной среды:
 1 — *Pseudomonas* sp. (X5); 2 — *Escherichia coli* (X10); 3 — *Bacillus mesentericus* (X5); 4 — *Bacillus mycoides* (X17); 5 — *Mycobacterium tuberculosis* (X17); 6 — *Streptomyces* sp. (X17).

(парное расположение клеток), стрептобактерии или стрептобациллы (образуют цепочки различной длины).

Нередко встречаются извитые, или спиралевидные, бактерии. К этой группе относятся спириллы (от лат. *spira* — завиток), имеющие форму длинных изогнутых (от 4 до 6 витков) палочек, и вибрионы (лат. *vibrio* — изгибаюсь), представляющие собой лишь $\frac{1}{4}$ часть витка спирали, похожие на запятую (рис. 3).

Известны нитевидные формы бактерий, обитающие в водоемах. Кроме перечисленных, встречаются многоклеточные бактерии, несущие на поверхности клетки протоплазматические выросты — простеки, треугольные и звездообразные бактерии, а также имеющие форму замкнутого и незамкнутого кольца и червеобразные бактерии.

Размеры бактерий. Клетки бактерий очень малы. Их измеряют в микрометрах, а детали тонкой структуры — в нанометрах. Кокки обычно имеют диаметр около 0,5—1,5 мкм. Ширина палочковидных (цилиндрических) форм бактерий в большинстве случаев колеблется от 0,5 до 1 мкм, а длина равняется нескольким микрометрам (2—10). Мелкие палочки имеют ширину 0,2—0,4 и длину 0,7—1,5 мкм. Среди бактерий могут встречаться и настоящие гиганты, длина которых достигает десятков и даже сотен микрометров. Формы и размеры бактерий значительно изменяются в зависимости от возраста культуры, состава среды и ее осмотических свойств, температуры и других факторов.

Из трех основных форм бактерий кокки наиболее стабильны по размерам, палочковидные бактерии более изменчивы, причем особенно значительно меняется длина клеток.

Бактериальная клетка, помещенная на поверхность твердой питательной среды, растет, делится, образуя колонию бактерий-потомков. Через несколько часов роста колония состоит уже из такого большого числа клеток, что ее можно видеть невооруженным глазом. Колонии могут иметь слизистую или пастообразную консистенцию, в некоторых случаях они бывают пигментированы. Иногда внешний вид колоний настолько характерен, что позволяет без особых трудностей провести идентификацию микроорганизмов (рис. 4).

УЛЬТРАСТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Бактериальная клетка, несмотря на внешнюю простоту строения, представляет собой весьма сложный организм, для которого характерны процессы, свойственные всем живым существам.

Ультраструктуру бактерий удалось детально изучить после создания электронных микроскопов с большой разрешающей способностью, разработки техники получения ультратонких срезов клеток, появления фазово-контрастной микроскопии, усовершенствования методов микрохимических анализов. Разнообразные методы исследований дали возможность определить различные поверхностные и внутренние структуры у бактерий (рис. 5).

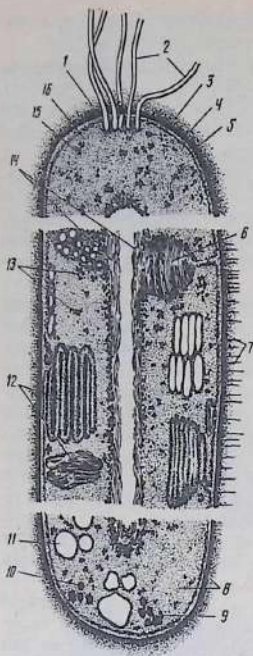


Рис. 5. Комбинированный схематический разрез бактериальной клетки: *вверху* — основание структуры бактериальной жгутики; *в середине* — мембранные структуры; *слева* — фотосинтетического микроба; *справа* — нефотосинтетического; *внизу* — схематически представлены резервы питательных веществ, или включения:

1 — базальное тельце; 2 — жгутики; 3 — капсула; 4 — клеточная стенка; 5 — цитоплазматическая мембрана; 6 — мезосома; 7 — фотосинтетические мембраны; 8 — полисахаридные гранулы; 9 — фосфаты; 10 — липидные капли; 11 — мембранные структуры нефотосинтетического микроба; 12 — мембранные структуры фотосинтетического микроба; 13 — цитоплазма; 14 — нуклеоид; 15 — рибосомы; 16 — цитоплазма (по Г. Шлегелю).

К внешним структурам обычно относят капсулы, жгутики, фимбри и пили, а также клеточную стенку, под которой расположена цитоплазматическая мембрана. Внутреннее содержимое бактерии представлено цитоплазмой, в которой находятся нуклеоид, рибосомы и мембранные структуры, также разнообразные включения. Бациллы и некоторые другие бактерии образуют споры.

Капсула. Большинство бактерий окружены слоем вещества, расположенного поверх клеточной стенки. Это слизистое образование — капсула (рис. 6). Б

вают макрокапсулы (толщина слоя 0,2 мкм), микрокапсулы (меньше 0,2 мкм), слизистый слой и растворимая слизь.

По химическому составу капсулы бактерий можно разделить на два типа. Одни представлены полисахаридами, другие — полипептидами. Однако встречаются капсулы, состоящие из липидов (у туберкулезных бактерий), гетерополисахаридов и других веществ. Капсулы содержат до 98% воды. Поэтому они создают дополнительный осмотический барьер, а также защищают клетку от механических повреждений и высыхания. Капсулы защищают клетки и от других неблагоприятных воздействий окружающей среды.

Замечено, что бактерии, имеющие капсулы, могут жить в такой среде, в которой рост бактерий без капсул ограничен.

Жгутики. Существуют два типа подвижных бактерий: скользящие и плавающие. Скольжение наблюдается у миксобактерий и серных бактерий. Эти организмы могут совершать скольжение по поверхности в результате волнообразных сокращений, вызывающих периодическое изменение формы клетки.

Плавающие палочковидные бактерии передвигаются с помощью особых нитевидных придатков — жгутиков. За счет жгутиков передвигается большинство спирилл. Кокки, за исключением отдельных видов, не имеют жгутиков.

Бактерия с одним жгутиком называется монотрихом; бактерия с пучком жгутиков на одном конце клетки — лофотрихом; на обоих концах — амфитрихом; бактерия со жгутиками, расположенными по всей поверхности клетки, называется перитрихом (рис. 7).

Число жгутиков различно у разных видов бактерий. Например, спириллы (*Spirillum*) имеют от 5 до 30 жгутиков, вибрионы (*Vibrio*) — 1 или 2—3 жгутика на полюсе клетки, а у палочковидных бактерий *Proteus vulgaris* и *Clostridium tetani* обнаружено от 50 до 100 жгутиков. Толщина жгутиков колеблется от 10 до 20 нм, длина — от 3 до 15 мкм, причем у одной и той же бактериальной клетки длина может изменяться в зависимости от состояния культуры и факторов внешней среды. В химическом отношении жгутики представляют собой белок флагеллин.

Белковые молекулы, из которых состоят жгутики, собраны в спиральные цепи, закругленные вокруг полой сердцевины.

Жгутики хорошо видны в электронном микроскопе, для наблюдения через оптический микроскоп требуется их специальная

обработка. Жгутики не относятся к жизненно важным структурам бактериальной клетки. Так, бактерии, обладающие жгутиками, можно вырастить в условиях, при которых эти структуры у них не развиваются. У подвижных бактерий наблюдаются «фазовые вариации», то есть в течение одной фазы развития жгутики имеются, в другой — отсутствуют. Жгутики можно разрушить, а клетка останется жизнеспособной.

Жгутики прикрепляются к особой структуре — базальному тельцу, расположенному под цитоплазматической мембраной. Движение жгутику сообщает через его основание жгутиковый «мотор» — базальное тельце, состоящее из центрального стержня, вставленного в систему колец, которые вращаются относительно друг друга.

Бактериальные клетки с жгутиками двигаются со скоростью, которая зависит от особенностей

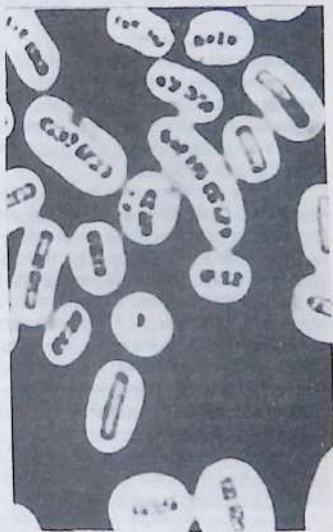


Рис. 6. Капсулы у *Bacillus megaterium* (× 2160) (по С. Робинсу).

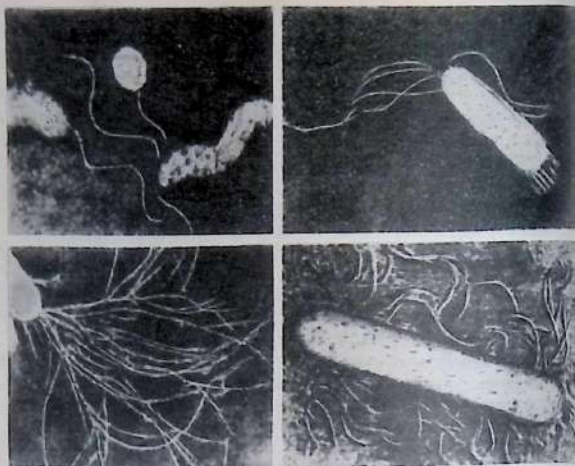


Рис. 7. Различные формы жгутиковых бактерий под электронным микроскопом.

их аппарата движения и свойств среды — вязкости, температуры, рН, осмотического давления и др. Большинство бактерий за секунду проходят расстояние, равное размерам их клетки. Однако некоторые бактерии при благоприятных условиях за то же время могут передвигаться на расстояние, превышающее размеры клетки в 50 раз и более.

Бактерии передвигаются беспорядочно, но способны и к направленным движениям, так называемым таксисам. В зависимости от внешних факторов, под воздействием которых происходит движение, различают хемотаксис, обусловленный разницей в концентрации химических веществ в среде, аэротаксис, связанный с разницей в содержании кислорода, и, наконец, фототаксис, когда условием направленного движения бактерий является различие в интенсивности освещения.

Фимбрии и пили. Кроме жгутиков, клетки бактерий могут иметь длинные, тонкие, прямые нити — фимбрии. Фимбрии значительно короче и тоньше жгутиков, но более многочисленны. Обнаружены они как у подвижных, так и у неподвижных организмов. Размеры фимбрий 0,3—4 мкм в длину и 5—10 нм в ширину. Число их достигает 100—200 и более (до нескольких тысяч) на одной бактериальной клетке.

Фимбрии состоят из белка — пилина.

В настоящее время известно несколько типов фимбрий, которые отличаются своими функциями. Наиболее изучены функции фимбрий первого и второго типов. Фимбрии первого типа имеют

многие бактерии, что дало возможность назвать их «фимбриями общего типа». Наличие фимбрий первого типа помогает бактериальной клетке прилипать к другим клеткам или инертному субстрату, или способствовать образованию пленок на поверхности жидкостей, и поэтому считают, что фимбрии этого типа — органы прикрепления (рис. 8).

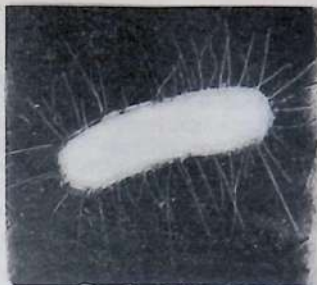


Рис. 8. Электронная фотография клетки *Escherichia coli*, окруженной фимбриями (по К. Бринтону).

Большой интерес представляют фимбрии второго типа, так называемые половые фимбрии, или пили, имеющие внутри канал, через который передается генетический материал от одной клетки к другой при конъюгации бактерий. Пили также могут служить для прикрепления патогенных бактерий к тканям животных и человека.

Клеточная стенка — один из главных элементов структуры бактериальной клетки. Клеточная стенка обладает определенной ригидностью (жесткостью), но вместе с тем эластичностью и может изгибаться. Ее можно разрушить ультразвуком, ферментом лизоцимом и другими способами. В результате разрушения клеточной стенки содержимое клетки — цитоплазма с ее включениями, окруженная цитоплазматической мембраной, приобретает шаровидную форму. Такая округлившаяся клетка, образовавшаяся после удаления клеточной стенки у бактерий, называется протопластом (сферопластом). Отсюда следует, что стенка придает бактериальной клетке определенную форму.

Клеточная стенка имеет и другие функции. Она защищает внутреннее содержимое клетки от действия механических и осмотических сил внешней среды, ей принадлежит важная роль в регуляции роста и деления бактерий и распределении генетического материала.

Толщина клеточной стенки колеблется от 10 до 80 нм и составляет около 20% сухого вещества бактериальной клетки. Клеточная стенка относительно проницаема для крупных молекул. Она связана с цитоплазматической мембраной соединительными тяжами — «мостиками».

Считают, что клеточная стенка ответственна за окрашивание бактерий по Граму*. Способность (или, наоборот, неспособность)

* Так называется способ окраски, разработанный датским ученым Х. Грамом в 1884 г., позволяющий дифференцировать бактерии. После окраски бактерий генцианвиолетом и обработки их раствором йода клетки одних бактерий обесцвечиваются спиртом, других — остаются окрашенными в сине-фиолетовый цвет. По этому признаку бактерии разделяют на два типа: окрашивающиеся по Граму — грамположительные и обесцвечивающиеся — грамотрицательные.

окрашиваться по Граму связана с различием в химическом составе клеточных стенок бактерий.

Главным структурным компонентом клеточных стенок большинства исследованных бактерий является пептидогликан (муреин) представляющий собой гетерополимер, который построен из чередующихся остатков N-ацетил-N-глюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты, соединенных β -1,4-связями. Полисахаридные цепи связаны между собой короткими пептидными мостиками. Пептидогликан придает клеточной стенке ригидные свойства, благодаря чему бактериальная клетка способна сохранять свою форму.

У грамположительных бактерий клеточная стенка состоит главным образом из многослойного пептидогликана, в который сложным образом вплетены такие сопутствующие компоненты, как белки, полисахариды, а также так называемые тейхоевые кислоты (полимеры рибитфосфорной и глицеринфосфорной кислот).

У грамотрицательных бактерий пептидогликан однослойный. Сверху пептидогликана располагается структура, получившая название наружной мембраны. Она имеет мозаичное строение и состоит из фосфолипидов, липопротеидов, белков и сложного липополисахарида (ЛПС).

Содержание пептидогликана в клеточных стенках колеблется от 50 до 90% у грамположительных бактерий и от 1 до 10% у грамотрицательных.

Таким образом, неодинаковое отношение бактерий к окраске по Граму может быть объяснено различием в количестве пептидогликана и его локализацией в клеточной стенке.

В настоящее время выявлено, что поверхность клеточной стенки некоторых палочковидных форм бактерий покрыта выростами, шипами или буграми.

Клеточной стенки нет у микоплазм, а также у L-форм бактерий. Наименование L-форм (от названия Института имени Листера (Великобритания), где впервые изучены эти формы) получили бактерии, полностью или частично лишенные клеточной стенки (под влиянием антибиотиков или спонтанно без видимой причины) и сохранившие способность к размножению. Для L-форм разных бактерий характерно образование крупных и мелких шаровидных клеток. L-формы описаны у многих болезнетворных и сапрофитных бактерий.

Цитоплазматическая мембрана (ЦПМ). К клеточной стенке бактериальной клетки тесно прилегает внешний слой цитоплазмы — цитоплазматическая мембрана, состоящая обычно из двойного слоя липидов, каждая из поверхностей которого покрыта мономолекулярным слоем белка. Мембрана составляет около 8—15% сухого вещества клетки и содержит до 70—90% липидов клетки. Общая толщина мембраны равняется приблизительно 9 нм.

Цитоплазматическая мембрана играет роль осмотического барьера, контролирующего транспорт веществ в бактериальную клетку и из нее. Нередко мембрана дает внутритоплазматиче

ские влячивания (инвагинации), приводящие к образованию особых телец — мезосом.

Цитоплазматическая мембрана и мезосомы выполняют функции, свойственные мембранам и митохондриям высших организмов, в которых или на которых локализованы ферментные системы — поставщики энергии. В отличие от митохондрий в цитоплазматической мембране и мезосомах бактерий наряду с дыхательными системами ферментов и механизмом регуляции проницаемости располагаются специфичные ферментные системы, участвующие в таких процессах, как азотфиксация, хемосинтез и др.

С цитоплазматической мембраной, мезосомами и близкими структурами бактерий связаны также многие другие функции — биосинтез клеточной стенки и капсулы, выделение экзоферментов, деление и спорообразование и т. д.

Цитоплазма. Под цитоплазматической мембраной у бактерий находится цитоплазма. Это коллоидная система, состоящая из воды, белков, жиров, углеводов, минеральных соединений и других веществ, соотношение которых варьирует в зависимости от вида бактерий и их возраста. Цитоплазма бактерий имеет различные структурные элементы — внутрцитоплазматические мембраны, генетический аппарат, рибосомы и включения, остальная часть ее представлена цитозолем.

Цитозоль — это фракция цитоплазмы, которая имеет гомогенную консистенцию и состоит главным образом из белковых макромолекул (растворимых РНК, ферментных белков, продуктов и субстратов различных реакций) и служит поддерживающей средой для клеточных гранул. Изучение структуры цитоплазмы выявило ее мелкогранулярный характер, она представлена цитоплазматическими гранулами диаметром 10—20 нм. Многие из этих гранул являются рибосомами — частицами, состоящими из РНК (60%) и белка (40%). Каждая бактерия содержит от 5000 до 50 000 рибосом, которые служат центрами синтеза белков. Рибосомы совместно с молекулами информационной и транспортных РНК участвуют в синтезе белка в форме не изолированных частиц, а их агрегатов, называемых полирибосомами, или полисомами.

В цитоплазме цианобактерий имеются так называемые тилакоиды (или фикобилисомы) — мембранные фотосинтезирующие структуры, содержащие хлорофилл и каротиноиды, при помощи которых осуществляется фотосинтез. У пурпурных серобактерий фотосинтезирующие пигменты (бактериохлорофилл и каротиноиды) локализованы в хроматофорах, которые составляют от 40 до 50% массы клетки. Тилакоиды в основном состоят из белков и липидов. Предполагают, что тилакоиды связаны с цитоплазматической или внутренними мембранами. У зеленых бактерий пигменты, участвующие в фотосинтезе, содержатся в мембранных структурах, называемых хлоросомами. Клетки ряда водных бактерий содержат наполненные газом структуры — газовые вакуоли (аэро-

сомы). Некоторые бактерии имеют структуры, называемые полиэдральными телами (в виде многоугольника), или карбоксисомами, где осуществляется процесс связывания CO_2 (у автотрофных бактерий).

Включения. В цитоплазме клеток бактерий часто содержатся гранулы различной формы и размеров. Их присутствие нельзя рассматривать как постоянный признак микроорганизма, обычно они в значительной степени связаны с физическими и химическими условиями среды обитания.

Многие внутрицитоплазматические гранулы состоят из соединений, которые служат для микроорганизмов источником энергии и углерода. Такие соединения обычно образуются, когда микроорганизм снабжается достаточным количеством питательных веществ, и используются, когда он попадает в неблагоприятные в отношении питания условия. В качестве резервных питательных веществ в клетках бактерий могут накапливаться вещества, состоящие из углеводов — гранулы гликогена (крахмала) или гранулы (близкого к крахмалу полисахарида). При недостаточном поступлении углеродсодержащих веществ в питательную среду гранулы гликогена или гранулы постепенно исчезают из клеток бактерий.

Большая часть бактерий в качестве резервного вещества синтезирует полимер из β -оксимасляной кислоты (поли- β -оксимасляная кислота). У некоторых видов бактерий в клетках накапливаются гранулы жира и волютина. Волютиновые гранулы, называемые еще метахроматическими гранулами, состоят преимущественно из полифосфатов и служат запасным источником фосфора. Волютин обнаруживается в виде крупных, хорошо видимых гранул, образующихся в больших количествах на средах, богатых глицерином или углеводами. В клетках серных бактерий в качестве включений встречается сера, которая образуется в результате окисления сероводорода и видна в виде расположенных непосредственно в цитоплазме блестящих полужидких капелек. Включения серы для аэробных тионовых бактерий, окисляющих сероводород, служат источником энергии. Некоторые серные бактерии наряду с капельками серы имеют зернышки аморфного карбоната кальция, роль которого пока не выяснена.

В цитоплазматическом матриксе содержатся также растворимые белки, различные ферменты, РНК, пигменты и низкомолекулярные соединения — углеводы, аминокислоты и нуклеотиды. Наличие в цитоплазме низкомолекулярных соединений обуславливает разность в осмотическом давлении клеточного содержимого и внешней среды. Величина внутриклеточного осмотического давления значительно изменяется у разных микроорганизмов.

Нуклеоид. В цитоплазме бактериальных клеток расположен эквивалент ядра, называемый нуклеоидом. Нуклеоид бактериальной клетки находится в ее центральной части. Предполагают, что в зависимости от стадии развития клетки нуклеоид может быть либо дискретным (прерывистым, состоящим из отдельных формен

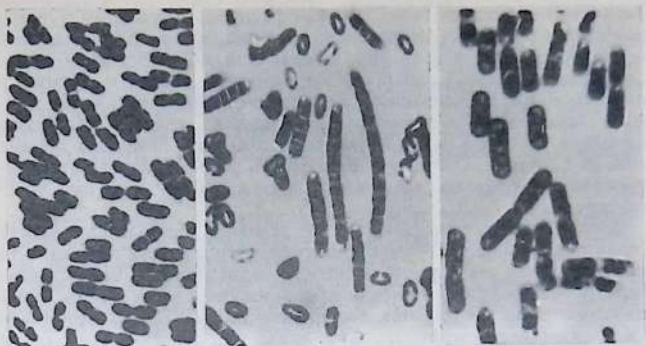


Рис. 9. Ядерные структуры бактерий:

слева — *Escherichia coli* (X 4000); в середине — *Bacillus mesentericus* (X 4400); справа — *Bacillus cereus* (X 4400) (по Дж. Хиллер, С. Муд, А. Г. Смит).

ных структур), либо в виде хроматиновой сети — ядерного вещества, дисперсно распределенного в цитоплазме.

Ядерные структуры, присутствующие в цитоплазме бактерий в дискретном состоянии, имеют палочковидную форму (рис. 9). Нуклеонды бактерий содержат ДНК с молекулярной массой $2-3 \cdot 10^9$. Установлено, что бактериальная ДНК имеет форму свернутой в кольцо нити длиной 1,1—1,4 мм, называемой также бактериальной хромосомой и генофорой.

В покоящейся бактериальной клетке обычно содержится один нуклеонд; клетки, находящиеся в фазе, предшествующей делению, имеют два нуклеоида; в фазе логарифмического роста — размножения — до четырех и более нуклеондов. В условиях, которые отрицательно сказываются на росте бактерий, могут возникать нитевидные многоядерные клетки. Это объясняется нарушением синхронизации между скоростью роста клетки и скоростью деления клетки и нуклеоида.

Нуклеонд бактерий — основной носитель информации о свойствах клетки и основной фактор передачи этих свойств потомству.

Кроме нуклеоида, в цитоплазме бактериальной клетки могут находиться в сотни раз более короткие нити ДНК — так называемые внехромосомные факторы наследственности, получившие название плазмид. Как выяснено, плазмиды необязательно имеются у бактерий, но они придают организму дополнительные, полезные для него свойства, в частности связанные с размножением, устойчивостью к лекарственным препаратам, болезнетворностью и др.

Споры и спорообразование. Бактерии рода *Bacillus*, *Clostridium* и *Desulfotomaculum*, так же как и отдельные кокки и спириллы, способны образовывать споры (эндоспоры) — тельца сферической или эллиптической формы, устойчивые к воздействию неблагоприятных условий.

гоприятных факторов (рис. 10). Споры преломляют свет и четки видны в световом микроскопе. Как правило, внутри бактериальной клетки образуется только одна спора. Однако в последнее время у отдельных видов *Clostridium* обнаружены клетки с двумя или более спорами. Обычно спорообразование начинается, когда бактерии испытывают недостаток питательных веществ или когда в среде в большом количестве накапливаются продукты обмена веществ бактерий. Поэтому споры можно рассматривать как приспособление организма для выживания в неблагоприятных условиях среды.

Формирование спор зависит от условий роста. Споры могут оставаться живыми в условиях, когда вегетативные клетки, — есть клетки, не образовавшие споры, погибают. Большинство спор хорошо переносит высушивание, многие споры нельзя уничтожить даже кипячением в течение нескольких часов. Для их уничтожения требуется температура пара 120°C при давлении его 1 ат ($1,01 \cdot 10^5$ Па). При этих условиях споры погибают через 20 минут. В сухом состоянии они погибают лишь при сильном нагревании (до $150\text{--}160^{\circ}\text{C}$) в течение нескольких часов. Споры отдельных видов бактерий отличаются особенной термоустойчивостью.

В процессе образования спор осуществляется синтез особого соединения — дипиколиновой кислоты (пиридин-2,6-дикарбоновой кислоты), обычно отсутствующей у вегетативных клеток бактерий. Дипиколиновая кислота может составлять 10—15% массы сухой споры. Показано, что это вещество накапливается в центральной части споры — ее цитоплазме, образуя с ионами кальция комплекс, который вместе с повышенным содержанием других катионов

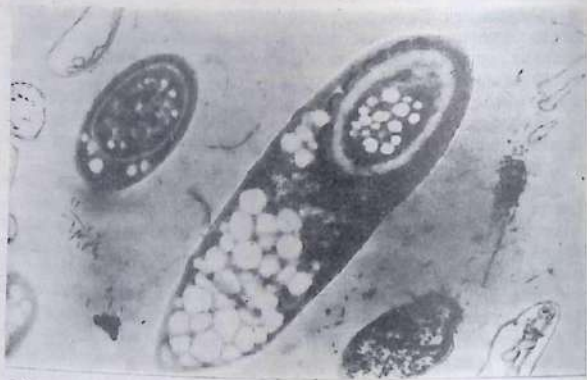


Рис. 10. Электронная фотография ультратонкого среза клетки *Clostridium butyricum* со спорой (по В. Т. Емцеву, В. И. Дуде и Ш. И. Шелли).

нов (магния, марганца и калия) обеспечивает пребывание спор в состоянии покоя и их термоустойчивость.

Общая схема спорообразования может быть представлена в следующем виде. В результате неравномерного деления бактериальной клетки, сопровождающегося впячиванием цитоплазматической мембраны, наблюдается обособление части нуклеоида с небольшой частью цитоплазмы. Образовавшаяся проспора затем покрывается цитоплазматической мембраной бактериальной клетки.

Таким образом, внутри клетки бактерии возникает новая клетка — проспора, окруженная двумя мембранами. Затем между мембранами образуется кортикальный слой, или кортекс, состоящий из особых молекул пептидогликана.

Дальнейшее развитие споры заключается в образовании нескольких слоев споровых покровов и ее созревании. Споровые покровы формируются в основном из вновь синтезированных особых белков, а также липидов и гликолипидов. Электронно-микроскопическое изучение ультратонких срезов спор многих бактерий показало, что поверх покровов споры образуется еще одна структура — экзоспориум, часто состоящий из ряда слоев и имеющий подчас разнообразную «лепную» форму. Диаметр споры приблизительно равен диаметру клетки, в которой она образовалась, или несколько превышает его. У некоторых бактерий спора формируется на конце клетки, которая при этом несколько расширяется, приобретая вид барабанной палочки. У других бактерий спора образуется в центре клетки, и последняя либо не меняет формы (род *Bacillus*), либо расширяется в середине, принимая вид веретена (род *Clostridium*).

После созревания споры клеточная стенка вегетативной части клетки разрушается, и спора выходит в окружающую среду. При попадании в благоприятные условия спора начинает прорастать.

Прорастанию предшествует поглощение спорой воды и последующее набухание. Затем оболочка под влиянием давления, вызванного ростом, разрывается, возникает ростовая трубка. В дальнейшем происходит удлинение освободившегося бактериального организма и, наконец, деление уже удлиненной клетки.

Споры бактерий могут длительное время (десятки, сотни и даже тысячи лет) существовать в покоящемся состоянии.

Имеются микроорганизмы, образующие относительно устойчивые к неблагоприятным условиям среды (температура, кислотность, аэрация и др.) покоящиеся клетки — цисты, не являющиеся спорами. Например, азотобактер образует цисты, устойчивые к высушиванию и теплу.

Известны и другие группы покоящихся клеток (микоспоры миксобактерий, акинеты цианобактерий, эндоспоры актиномицетов и др.).

СИСТЕМАТИКА БАКТЕРИЙ

Систематика (таксономия) — распределение (классификация) микроорганизмов по группам (таксонам) в соответствии с определенными признаками, а также установление родственных связей между ними.

Перед изучением основных групп микроорганизмов целесообразно осветить принципы их номенклатуры. Номенклатурная система наименований, применяемых в определенной области науки.

Любая система номенклатуры и таксономии микроорганизмов требует совершенного знания объектов для того, чтобы их назвать и классифицировать. Для получения информации, необходимой для наименования и классификации микроорганизмов, изучают все многообразие и все особенности внешней и внутренней структуры микроба, его физиологические и биохимические свойства, а также процессы, вызываемые микроорганизмом в естественной среде его обитания.

Следовательно, для того чтобы отнести микроорганизм к той или иной таксономической группе, необходимо ознакомиться с основными характеристиками его: определить, каков внешний вид этого микроорганизма — его форму, подвижность (наличие жгутиков и их расположение), наличие капсул и способность к образованию эндоспор, способность окрашиваться по Граму; выясняют особенности обмена веществ, способы получения энергии; наконец, определить, каким образом он изменяет внешнюю среду, в которой растет, и как окружающая среда влияет на его жизневыживание. Такое знание микроорганизма имеет значение не только для номенклатуры и таксономии, оно совершенно необходимо для оценки роли микроорганизма в природе и его практической значимости.

В последнее время в связи с развитием молекулярной биологии выявлены новые подходы к характеристике микроорганизмов, что оказало положительное воздействие на их систематику. В частности, определенную ценность имеют методы, позволяющие непосредственно охарактеризовать наследственные свойства (генотип) микроорганизмов и таким образом дополнить их описание, которое до последнего времени отражало исключительно структурные и функциональные свойства (фенотип). Данные о генотипе микроорганизма получают с помощью двух основных методов анализа выделенных нуклеиновых кислот — путем определения нуклеотидного состава ДНК и изучения химической гибридизации нуклеиновых кислот, изолированных из разных микроорганизмов.

В результате использования первого метода по соотношению пар пуриновых и пиримидиновых оснований в молекуле ДНК могут быть выявлены генетические различия между группами микроби

организмов. Второй метод предусматривает установление гомологии ДНК путем гибридизации двух исследуемых молекул, выделенных из разных микроорганизмов. Так, если наблюдается высокая степень связывания молекул ДНК (80—90% и более), то это свидетельствует о гомологии первичной структуры и близком генетическом родстве микроорганизмов (филогенетические связи). Низкая степень гомологии (50%) характеризует достаточно отдаленные связи между микроорганизмами.

В систематике микроорганизмов иногда используют нумерическую таксономию, предложенную современником К. Линнея М. Адансоном. В основу адансоновской, или нумерической, таксономии положены следующие принципы: а) равноценность изучаемых признаков организмов; б) доведение их количества до максимальной величины; в) выделение каждой таксономической группы по числу совпадающих признаков. Данный подход к систематике микроорганизмов достаточно объективен, однако для его использования необходимы обширные математические расчеты с помощью электронно-вычислительных машин.

После подробного изучения микроорганизму дают научное название, которое должно быть выражено двумя латинскими словами, как этого требует бинаминальная номенклатура, предложенная еще в XVIII в. К. Линнеем.

Первое слово — название рода. Обычно это латинское слово, оно пишется с прописной буквы и характеризует какой-либо морфологический или физиологический признак микроорганизма, либо фамилию ученого, открывшего этот микроорганизм, либо особый отличительный признак, например местообитание.

Второе слово пишется со строчной буквы. Оно обозначает видовое название микроорганизма и, как правило, представляет собой производное от существительного, дающего описание цвета колонии, источника происхождения микроорганизма, вызываемого этим микроорганизмом процесса или болезни и некоторых других отличительных признаков. Например, название *Bacillus albus* указывает, что микроорганизм является грамположительной, спорообразующей аэробной палочкой (свойства рода *Bacillus*), а видовое название характеризует цвет образуемой им колонии (*albus* — белый).

Названия микроорганизмам присваиваются в соответствии с правилами Международного кодекса номенклатуры бактерий, введенного с 1 января 1980 г., они едины во всех странах мира.

В классификации для группирования родственных микроорганизмов используют следующие таксономические категории: вид (*species*), род (*genus*) семейство (*familia*), порядок (*ordo*), класс (*classis*), отдел (*divisio*), царство (*regnum*).

Вид — основная таксономическая единица, представляет собой совокупность особей одного генотипа, обладающих хорошо выраженным фенотипическим сходством.

Вид подразделяют на подвиды или варианты.

В микробиологии часто пользуются терминами «штамм» «клон». Штамм — это более узкое понятие, чем вид. Обычно штаммами называют различные культуры микроорганизмов одного и того же вида, выделенные из различных природных сред (почв, водоемов, организмов и т. д.) или из одной и той же среды в разное время. Штаммы одного вида могут быть достаточно близки по своим свойствам или различаться по отдельным признакам. В то же время свойства разных штаммов не выходят за пределы вида.

Клон — это культура, полученная из одной клетки. Совокупность (популяция) микроорганизмов, состоящая из особей одного вида, называется чистой культурой.

В биологии выделяют две систематики живых организмов — филогенетическую, или естественную, и искусственную.

Микробиология еще не располагает достаточными данными об эволюции и филогении микроорганизмов, позволяющими построить естественную систематику, подобную той, которая создана для высших растений и животных. Современные системы классификации микроорганизмов, по существу, являются искусственными. Они играют роль диагностических ключей, или определителей, которыми пользуются главным образом при идентификации того или иного микроорганизма. К таким определителям относятся: «Определитель бактерий и актиномицетов» Н. А. Красильникова (1949), «Определитель родов бактерий» В. Б. Д. Скермана (1975) и др.

В настоящем учебнике приведено описание наиболее важных групп микроорганизмов в соответствии с последним, девятым, изданием (1984) Определителя бактерий Д. Х. Берги. В этом определителе все прокариотические микроорганизмы объединены в царство Procarvota, которое подразделяется на четыре отдела, они, в свою очередь, делятся на классы, порядки, семейства, роды и виды. Микроорганизмы распределены по отделам главным образом на основании наличия или отсутствия клеточных стенок и их вида, а по другим таксономическим категориям (классам, порядкам, семействам, родам, видам) — по совокупности морфологических и физиолого-биохимических признаков.

ОТДЕЛ I — Gracilicutes *

К I отделу относятся прокариоты, имеющие грамтрицательный тип клеточной стенки, кокки, палочки или нити. Они могут быть подвижными и неподвижными, эндоспор не образуют. У миксобактерий наблюдается образование плодовых тел и микроспор. Размножаются бинарным делением, почкованием. В этот отдел входят фототрофы и нефототрофы (литотрофы и хемотрофы), аэробы, анаэробы и факультативные анаэробы. Некоторые виды являются облигатными внутриклеточными паразитами.

* Lat. cutes — кожа, gracilus — тонкий, стройный.

Группа I — спирохеты. Эти микроорганизмы объединены в порядок Spirochaetales, семейства Spirochaetaceae и Leptospiraceae. Спирохеты — гибкие, спирально завитые одноклеточные бактерии, представляющие собой очень длинные (3—500 мкм) и тонкие (0,3—1,5 мкм) клетки с одним или более витками спирали.

Клетки спирохет состоят из протоплазматического цилиндра, переплетенного с одной или несколькими осевыми фибриллами, которые отходят от прикрепительных дисков, расположенных на концах цилиндра. Протоплазматический цилиндр и осевые фибриллы покрыты внешней оболочкой. Клетки имеют нуклеоид, мезосомы и другие структуры. Размножаются поперечным делением, подвижные. Спор не образуют. Аэробы, факультативные анаэробы или анаэробы. Хемоорганогетеротрофы.

Крупные спирохеты (от 30 до 500 мкм) относят к родам Spirochaeta и Cristispira, мелкие (от 3 до 20 мкм) — к родам Treponema, Borrelis и Leptospira (рис. 11). Представители первых двух родов —

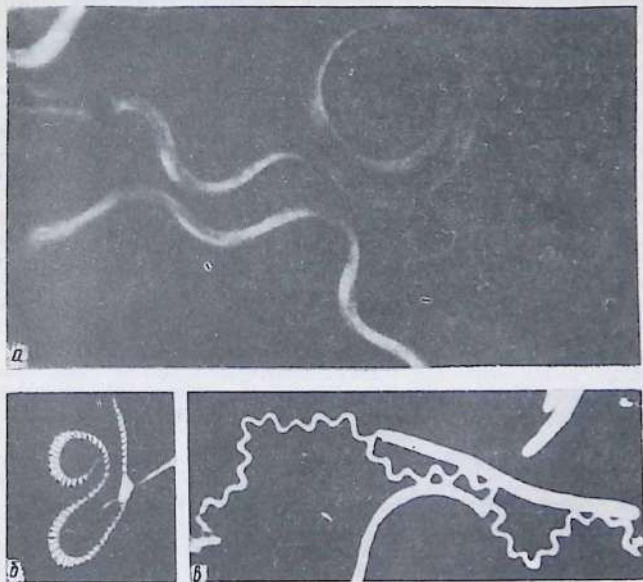


Рис. 11. Некоторые крупные спирохеты:

а — *Cristispira* (× 380) (по С. В. Уатсону); б — неидентифицированная спирохета из воды (× 341); в — *Spirochaeta plicatilis* (× 341) (по С. Робинсу).

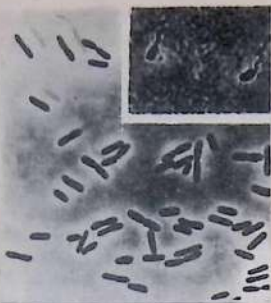


Рис. 12. *Pseudomonas aeruginosa* (X 1100). В правом верхнем углу — *Pseudomonas stutzeri* с одним полярным жгутиком (X 1290) (по Н. Паллерони).

сапрофиты, трех других — зиты и возбудители инфекционных болезней человека и животных.

Группа 2 — аэробные грамотрицательные и вибриоидные грамположительные бактерии — относятся к семейству Spirillaceae. Представители этого семейства характеризуются следующими признаками: клетки представляют собой жесткие, спирально изогнутые палочки, подвижные, имеют жгутик или пучок полярно расположенных жгутиков (на одном или на обоих концах клетки). Аэробы, микроаэрофилы. Хемоганотрофы. Сапрофиты или паразиты. К данному семейству относятся

роды *Aquaspirillum*, *Spirillum*, *Azospirillum*, *Campylobacter*, *Bdellovibrio*. Бактерии рода *Azospirillum* — азотфиксирующие.

Некоторые представители рода *Bdellovibrio* могут быть облигатными паразитами бактерий. Они представляют собой одноклеточные подвижные организмы, которые прикрепляются к клетке-хозяину, проникают в нее и начинают размножаться. Спиральные и изогнутые бактерии обнаруживают в пресной и морской воде и в почвах.

Группа 3 — аэробные грамотрицательные палочки и кокки. Данная группа бактерий представлена семью семействами, три из которых имеют существенное значение в плодородии почвы.

В семействе *Pseudomonadaceae* входит род *Pseudomonas*, который включает неспоровые бактерии, имеющие форму прямой или слегка изогнутой палочки (рис. 12) с полярно расположенными жгутиками (один или целый пучок на одном или обоих концах клетки). Псевдомонады широко распространены в природе (в различных почвах, в воде, сточных водах и воздухе). Хемоорганотрофы, могут использовать разнообразные органические вещества: белки, жиры, углеводы, а также гумусовые вещества. Некоторые псевдомонады вызывают восстановление нитратов (денитрификация). Ряд видов рода *Xanthomonas* — возбудители болезней растений.

Представители семейства *Azotobacteriaceae* имеют крупные, палочковидных до овальных, клетки, подвижные, не образующие спор. Гетеротрофы. Характерная особенность этих организмов — способность фиксировать (связывать) атмосферный азот. Широко распространены в почвах. Семейство представлено четырьмя родами: *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia* и *Derxia*, из которых последние два встречаются в почвах умеренных широт, остальные — в почвах субтропиков и тропиков (Азия, Африка, Южная Америка).

Бактерии семейства *Rhizobiaceae* имеют палочковидные, подвижные

движные клетки, спор не образуют. Хемоорганотрофы. Представители рода *Rhizobium* образуют клубеньки на корнях бобовых растений, вступая с ними в симбиоз и фиксируя азот атмосферы, а рода *Agrobacterium* — относятся к опухолеобразующим фитопатогенным бактериям, которые вызывают разрастания в виде галлов на корнях и стеблях различных видов растений. Более подробное описание последних двух семейств дано в главе 11.

Семейство Methylococcaceae объединяет два рода — *Methylococcus* и *Methylomonas*, которые представлены подвижными и неподвижными палочками и кокками. Хемоорганотрофы. Единственные источники углерода и энергии для них — метан и метиловый спирт.

Семейство Acetobacteriaceae представлено двумя родами — *Acetobacter* и *Glucopobacter*. Бактерии этих родов отличаются от вышеописанных организмов тем, что способны окислять этиловый спирт до уксусной кислоты. Они встречаются на цветах, плодах, овощах, пиве, вине и т. д.

Семейство Neisseriaceae состоит из четырех родов, куда относятся в основном паразитические (болезнетворные) формы.

Группа 4 — факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки. Бактерии этой группы объединены в два семейства — *Enterobacteriaceae* и *Vibrionaceae*, многие представители которых относятся к возбудителям инфекционных болезней человека и животных.

Семейство Enterobacteriaceae включает ряд организмов, обитающих в кишечнике человека и животных и вызывающих заболевания. Это микроорганизмы родов *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и др. Кроме того, в семейство *Enterobacteriaceae* входят роды *Proteus* и *Erwinia*, сапрофитные представители которых могут обитать в почве или на поверхности растений. Так, *Erwinia herbicola* — частый компонент эпифитной (поверхностной) микрофлоры растений.

Семейство Vibrionaceae объединяет несколько родов — *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* и *Photobacterium*, микроорганизмы, входящие в них, обычно встречаются в пресной или морской воде, иногда в организме рыб или человека. Среди них имеется ряд болезнетворных форм.

Группа 5 — анаэробные грамотрицательные прямые, изогнутые и спиральные палочки. Эта группа состоит из одного семейства *Bacteroidaceae*, которое объединяет три рода — *Bacteroides*, *Fusobacterium* и *Leptotrichia*. Бактерии семейства обитают в кишечнике человека и животных, в некоторых случаях могут вызывать заболевания желудочно-кишечного тракта.

В желудочно-кишечном тракте млекопитающих находятся бактерии рода *Selenomonas*. Клетки имеют форму почки или полумесяца, подвижные. Хемоорганотрофы. Сбраживают углеводы с образованием уксусной, пропионовой и молочной кислот и CO_2 . Играют определенную роль в питании животных.

Кроме того, к этой группе бактерий примыкает семь родов неопределенной систематической принадлежности. Среди них пред-

ставляют интерес бактерии рода *Desulfovibrio* — подвижные гнутые палочки, не образующие спор. Грамотрицательные. Хемоганотрофы. Восстанавливают сульфаты и другие соединения до H_2S . Фиксируют азот атмосферы. Строгие анаэробы. Обнаружены в почвах.

Группа 6 — грамотрицательные хемолитотрофные бактерии объединены в два семейства и 15 родов. Бактерии семейства *Nitrobacteriaceae* представлены палочковидными, эллипсоидальными, сферическими и спиральными клетками, не образуют спор, подвижные или неподвижные. Облигатные хемолитотрофы, энергию получают за счет окисления аммиака или нитрита, фиксируют углерод для удовлетворения потребностей в углероде. Облигатные аэробы. Распространены в почвах, в реках, морях и океанах.

Бактерии, окисляющие аммиак до нитрита, представлены родами *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus* и *Nitrosolobus*. Бактерии, окисляющие нитриты до нитратов, — родами *Nitrobacter*, *Nitrospira* и *Nitrococcus*. Роды различаются между собой формой клеток и их ультраструктурой. Организмы этого семейства участвуют в превращении в почвах аммиака в нитриты и нитраты.

К данной группе отнесены организмы, метаболизирующие серу и ее соединения. Род *Thiobacillus* представлен маленькими палочковидными клетками, имеющими один полярно расположенный жгутик. Спор не образуют. Облигатные аэробы. Облигатные и факультативные хемолитотрофы. Энергию получают за счет окисления восстанавливающих серосодержащих соединений, источником углерода служит CO_2 . Могут развиваться в сильноокислой среде. Распространены в почвах, водоемах, сточных водах, серных источниках. Описаны роды *Thiobacterium*, *Thiospira* и т. д.

Семейство *Siderocapsaceae* представлено бактериями, которые имеют сферические, эллипсоидальные или палочковидные клетки, покрытые капсулами. Эти организмы откладывают окислы железа (или) марганца на поверхности капсул, в капсулах или на внеклеточном материале. Хемоорганотрофы. Аэробы. Распространены в железосодержащих водах. В это семейство входят роды *Siderocapsa*, *Siderococcus* и др.

Группа 7 — скользящие бактерии. Сюда относят два порядка *Myxobacteriales* и *Cytophagales*.

В первый порядок — *Myxobacteriales* входят миксобактерии, образующие плодовые тела. Миксобактерии — это одноклеточные организмы, цилиндрические клетки которых имеют тупо закругленные концы или несколько суживаются к концам. Заключены в более или менее плотный слой слизи. Размножаются бинарным поперечным делением. Грамотрицательные.

Клеточная стенка у миксобактерий эластична, поэтому они отличаются гибкостью, при движении изгибаются, и форма их может меняться. Обладают способностью к скользящим движениям. На определенном этапе развития большинство миксобактерий приспосабливается к образованию плодовых тел. Вегетативные клетки сначала размножаются, а затем сползаются и образуют плотное, бесцветное

ное или, наоборот, яркоокрашенное плодовое тело. Форма и размеры плодовых тел очень различны у разных представителей миксобактерий. Клетки в плодовых телах становятся покоящимися формами — миксоспорами. Ряд миксобактерий образует микроцисты. В некоторых случаях миксоспоры заключены в спорангии определенной формы и могут возвышаться над субстратом на стебельках. Миксоспоры миксобактерий устойчивы к высушиванию, но не к нагреванию. При прорастании миксоспоры или микроцисты целиком превращаются в вегетативные клетки.

Миксобактерии — хемоорганотрофы, строгие аэробы. Распространены в почве, навозе, разлагающихся растительных остатках и т. д. Многие из них разлагают белки, полисахариды, целлюлозу и другие вещества растительного и животного происхождения.

В порядок входят: семейство Мухососсасеае с единственным родом Мухососсус, представители которого имеют вегетативные клетки с утонченными концами и образуют сферические или овальные микроцисты (рис. 13); семейство Archangiaceae, включающее в себя род Archangium (вегетативные клетки с конусовидными концами, микроцисты палочковидные); семейство Polyangiaceae, представленное родом Polyangium (цилиндрические клетки с тупыми концами, миксоспоры сходны с вегетативными клетками).

Представители второго порядка — *Cytophagales* плодовых тел не образуют, имеют клетки в виде палочек и нитей, передвигаются путем скольжения, граммотрицательные. Объединены в ряд семейств.

Семейство Cytophagaceae имеет шесть родов. Среди них род *Cytophaga*, например, включает в себя организмы с палочковидными клетками (или нитями), имеющими закругленные или конусовидные концы; эти организмы микроцист не образуют, являются строгими аэробами или факультативными анаэробами. Хемоорганотрофы, способны разлагать целлюлозу, хитин, агар и другие вещества, а род *Sporocytophaga* представлен организмами, образующими микроцисты.

Семейство Beggiatoaceae характеризуется организмами, имеющими бесцветные длинные неразветвленные нити (трихомы) различной толщины, состоящие

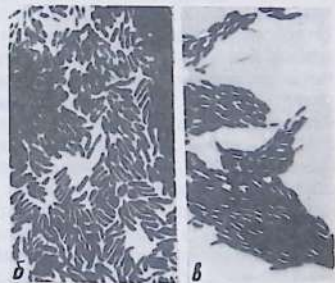
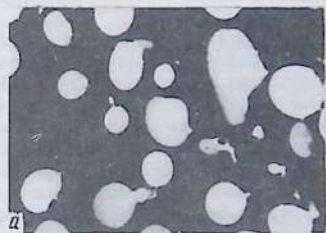


Рис. 13. Миксобактерии из рода Мухососсус:

а — плодовые тела (X 30); б, в — вегетативные клетки, среди которых видны округлые цисты (X 1000) (по Р. Стейнеру)

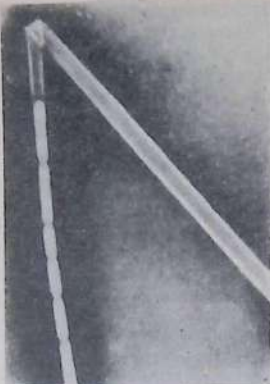


Рис. 14. Цепочка клеток *Sphaerotilus natans*, заключенная во влагалище (по Дж. Стоукес).

из ряда клеток в цепочках. Двигаются скользящими движениями, никогда не прикрепляясь к субстрату. Размножаются поперечным делением отдельных клеток. Грамотрицательные. Миксотрофы или хемоорганотрофы. Аэробы или микроаэрофилы. Род *Beggiatoa* образует трихомы, не прикрепленные к субстрату. Обитают в местах с высоким содержанием сероводорода — в малоподвижных водах. *Beggiatoaceae* окисляют сульфиды до сульфатов. Промежуточный продукт окисления сульфидов — элементарная сера — капливается внутри клеток в виде гранул и обуславливает белый цвет этих организмов.

Группа 8 — хламидобактерии (бактерии, имеющие чехлы, и др.)

влагалища). В эту группу входят семь родов. Род *Sphaerotilus* представлен одноклеточными, палочковидными грамотрицательными организмами, имеющими субполярно расположенные жгутики. Растут в виде длинных нитей, состоящих из цепочек клеток (рис. 14), соединенных между собой концами и покрытых чехлом во влагалище (слизистой капсулой). Чехлы обычно тонкие, без отложений окислов железа и марганца. Нить в некоторых случаях имеет длину в несколько миллиметров. Размножаются бактерии внутри влагалища делением. Образующиеся подвижные клетки либо выскальзывают из влагалища, либо освобождаются при его разрушении. Хемоорганотрофы, строгие аэробы. Представители этого рода обитают в пресных водах, загрязненных стоками бумажной и молочной промышленности. Обычно цепочки клеток, покрытых чехлом, с помощью специальных дисков прикрепляются в воде к какому-либо твердому предмету, образуя значительные скопления.

У организмов рода *Leptothrix* прямые палочки встречаются в цепочках, окруженных чехлом, или могут быть свободно плавающими в виде отдельных клеток или групп. Чехлы пропитываются или покрываются гидратами высших окислов железа или марганца. Имеют один полярный жгутик. Грамотрицательные. Хемоорганотрофы. Строгие аэробы. Обитают в пресных водах.

Известны также роды хламидобактерий *Streptothrix*, *Crenothrix*, *Clonothrix* и др.

Группа 9 — почкующиеся и(или) стебельковые бактерии объединены в 17 родов. Приведем характеристику некоторых из них.

Род Hyphomicrobium включает в себя микроорганизмы, имеющие палочковидные клетки с заостренными концами, овальной, яйцевидной или бобовидной формы. Образуют нитевидные отростки (гифы) различной длины. Размножаются почками, расположенными на кончиках гиф. После созревания почки становятся подвижными, отрываются и сами прикрепляются к какой-либо поверхности или другим клеткам. Хемоорганотрофы. Для роста необходим CO_2 . Аэробы.

Большинство почкующихся бактерий обладают специфическими особенностями, в частности отличаются весьма специализированным характером обмена. Обычно эти организмы не используют сахара (олигокарбофилы, то есть растущие без источника углерода), однако многие из них способны потреблять такие соединения, как формиат, ацетат, лактат и т. д.

Род Pedomicrobium. Бактерии этого рода также имеют определенный цикл развития. На материнской клетке овальной формы образуется подвижная клетка (зооспора) с полярным жгутиком, иногда с несколькими жгутиками. Образование дочерней клетки происходит почкованием. Отделившись от материнской клетки, дочерняя приступает к размножению только после созревания. Способны отлагать окислы железа и марганца на поверхности клеток. Широко распространены в почвах.

Представители *рода Caulobacter* — стебельковые бактерии, характеризуются палочковидными, веретеновидными или вибриоидными клетками со стебельком, отходящим от одного полюса. Встречаются стебельковые бактерии в виде одиночных клеток. Они размножаются путем поперечного асимметричного деления стебельчатых клеток пополам. Грамотрицательные. Хемоорганотрофы. Строгие аэробы. Распространены в пресных водоемах, почвах и других естественных субстратах.

К стебельковым бактериям относится *род Gallionella*, представители которого имеют палочковидные или округлые клетки, находящиеся на концах длинных стебельков. Последние состоят из пучков фибрилл, переплетенных одна вокруг другой и способных ветвиться. Стебельки часто покрыты гидроокисью железа. У этих организмов наблюдается бинарное деление, причем дочерние клетки после деления остаются на конце стебелька. Затем они отщепляются как зооспоры и могут передвигаться с помощью одного или двух полярно расположенных жгутиков. Грамотрицательные. Хемолитотрофы (окисляют двухвалентное железо в трехвалентное и используют CO_2). Микроаэрофилы. Обнаружены в водах, содержащих железо, и в почвах. Обуславливают, вместе с представителями *рода Leptothrix*, осаждение железа в водоемах.

Группа 10 — риккетсии и хламидии. Эта группа микроорганизмов представлена двумя порядками — Rickettsiales и Chlamydiales.

Порядок Rickettsiales состоит из трех семейств — Rickettsiaceae, Bartonellaceae и Anaplasmataceae, объединяющих большое количество непатогенных облигатных внутриклеточных паразитов (размножающихся только внутри клеток хозяина) и небольшую часть

бактерий, вызывающих у человека и животных заболевания, зываемые риккетсиозами.

Риккетсии представляют собой бактерии палочковидной, ковидной или нитевидной формы, неподвижные, спор не образуют, грамотрицательные. Размножаются бинарным делением в клетках хозяина. Некоторые риккетсии — симбионты насекомых. Типичный риккетсия — *Rickettsia prowazekii* — возбудитель сыпного тифа является также симбионтом платяной вши.

Порядок *Chlamydiales* имеет одно семейство *Chlamydiaceae*, которое входят болезнетворные для человека виды микроорганизмов.

КЛАСС II — АНОХУРНОТОВАКТЕРИЯ

Класс *Anoxiphotobacteria* — фототрофные бактерии — объединяет организмы с бескислородным типом фотосинтеза и делится на два порядка: *Rhodospirillales* (пурпурные бактерии) и *Chlorobiales* (зеленые бактерии).

Фототрофные бактерии представлены сферическими, палочковидными, вибриоидными и спиральными клетками. Как правило, они размножаются делением пополам, некоторые виды размножаются почкованием, грамотрицательны. Клетки могут содержать капельки серы. В клетках фототрофных бактерий имеются бактериохлорофиллы и каротиноидные пигменты. Осуществляют фотосинтез. Фототрофные бактерии для восстановления CO_2 в процессе фотосинтеза используют молекулярный водород, восстановленные соединения серы или органические вещества. Они являются фотолитотрофами и фотоорганотрофами. Облигатные анаэробы. Могут фиксировать молекулярный азот атмосферы. Фототрофы — преимущественно водные бактерии.

Порядок *Rhodospirillales* включает в себя два семейства *Rhodospirillaceae* и *Chromatiaceae*.

Семейство *Rhodospirillaceae* — пурпурные несерные бактерии — фотоорганотрофы, организмы, которые могут фотоассимилировать простые органические вещества. Пурпурные несерные бактерии не способны окислять сероводород и элементарную серу. Микроаэрофилы. К этому семейству относят роды *Rhodospirillum*, *Rhodospirillum rubrum* и *Rhodospirillum rubrum*.

Семейство *Chromatiaceae* — пурпурные серные бактерии — фотолитотрофы, способны к фотолитотрофной ассимиляции CO_2 в присутствии неорганических соединений серы (S , H_2S), которые окисляются в сульфат. Строгие анаэробы. В это семейство входят роды *Chromatium*, *Thiospirillum* и др.

Порядок *Chlorobiales* также объединяет два семейства: *Chlorobiaceae* и *Chloroflexaceae*. Семейство *Chlorobiaceae* — зеленые серные бактерии — фотолитотрофы. Способны к фотолитотрофной ассимиляции CO_2 в присутствии сульфида и серы, которые окисляются до сульфата. Строгие анаэробы. К данному семейству относится род *Chlorobium*.

КЛАСС III — ОХУРНОТОВАСТЕРИЯ

К классу Охурфотобактерия отнесены организмы, у которых фотосинтез сопровождается выделением молекулярного кислорода. Класс делится на два порядка: Суанобактерiales (цианобактерии) и Prochlorales (прохлорофиты).

Цианобактерии (сине-зеленые водоросли) — грамотрицательные прокариотные организмы, имеющие ригидную многослойную клеточную стенку с внутренним пептидогликановым слоем. В клетках цианобактерий имеется развитая система внутрицитоплазматических мембран (тилакоидов), где проходит фотосинтез. Для цианобактерий характерны фотопигменты: хлорофилл а, аллофикоцианин, фикоцианин и фикоэритрин.

Клетки покрыты слизистой капсулой, подвижны (обладают способностью к скользящему движению по твердому субстрату, без помощи жгутиков). Цианобактерии представлены одноклеточными, колониальными и многоклеточными организмами. Клетки имеют сферическую, палочковидную или изогнутую форму (рис. 15). Многоклеточные организмы отличаются нитевидным строением, получившим название трихом, или филамент. Некоторые цианобактерии при прохождении жизненного цикла образуют специализированные клетки или нити, которые могут служить организмам для размно-

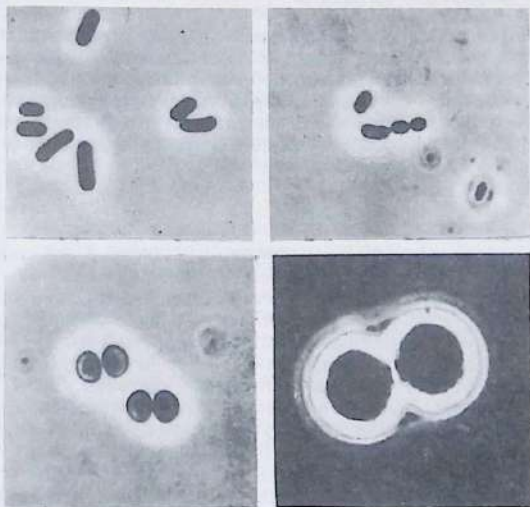


Рис. 15. Цианобактерии (по Р. Риппка, Р. Кунисава).

жения (баециты, гормогонии), выживания в экстремальных условиях (споры или акинеты) или азотфиксации (гетероцисты).

Размножаются цианобактерии разными способами: бинарным делением, почкованием, множественным делением. Нитевидные формы размножаются либо с помощью обрывков трихома, состоящих из одной клетки или ряда их, либо гормогониями — короткими подвижными цепочками клеток. Цианобактерии представляют собой большую группу бактерий (более 1000 видов), широко распространенных в почвах, водоемах и других субстратах. Многие представители цианобактерий (более 130 видов) способны к фиксации молекулярного азота атмосферы (последнее связывают с образованием специализированных клеток особого типа — гетероцист).

Прохлорофиты — это одноклеточные, симбиотические, грамотрицательные прокариотные организмы, сферической формы, неподвижные. Цитоплазма в большей своей части заполнена тилакоидами. Способны осуществлять фотосинтез с выделением молекулярного кислорода. Отличаются от цианобактерий составом пигментов и внутриклеточной организацией фотосинтетических мембран.

Прохлорофиты — внеклеточные симбионты (экзосимбионты) обитающие на телах морских животных — колониальных асцидий. Они представлены одним родом *Prochloron*.

ОТДЕЛ II — Firmicutes *

В отдел Firmicutes входят прокариоты, имеющие грамположительный тип клеточной стенки, кокки, палочки или нити. Некоторые являются подвижными и неподвижными, обычно размножаются бинарным делением, иногда — спорами, нефотосинтезирующие организмы — хемотрофы, аэробы, анаэробы и факультативные анаэробы. Отдел включает в себя неспорообразующие и спорообразующие бактерии, актиномицеты и близкие к ним организмы.

КЛАСС I — FIRMIBACTERIA

Группа 1 — грамположительные кокки объединены в три семейства: Micrococcaceae, Streptococcaceae и Peptococcaceae.

Бактерии семейства *Micrococcaceae* имеют сферические клетки, которые могут делиться в одной или нескольких плоскостях, что приводит к образованию правильных или неправильных групп или пакетов. Подвижные или неподвижные. Спор не образуют. Хемолитические организмы. Аэробы или факультативные анаэробы. Виды рода *Micrococcus* распространены в почвах и пресных водах. Род *Staphylococcus* представлен болезнетворными видами, встречающимися на коже и слизистых оболочках теплокровных организмов, а род *Planococcus* — видами, распространенными в морской воде.

Семейство *Streptococcaceae* имеет пять родов: *Streptococcus*

* Лат. firmus — крепкий, cutes — кожа.

Leuconostoc, *Pediococcus*, *Aerococcus* и *Gemella*, представители которых играют большую роль в получении кисломолочных продуктов, силоса и т. д. Организмы этого семейства представляют собой сферические или овальные клетки, соединенные в пары или цепочки разной длины, а также образующие тетрады. Неподвижны, спор не образуют. Хемоорганотрофы. Факультативные анаэробы. Сбраживают углеводы с образованием молочной, уксусной и муравьиной кислоты, этилового спирта и CO_2 . Широко распространены в почвах, на поверхности растений, в молоке и молочных продуктах.

Семейство Peptococcaceae объединяет четыре рода: *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus* и *Sarcina*. Клетки сферические, встречаются поодиночке, парами, цепочками или в виде тетрад и трехмерных кубических пакетов. Неподвижные. Спор не образуют. Хемоорганотрофы. Некоторые сбраживают углеводы. Анаэробы. Широко распространены в почвах, на поверхности растений, в желудочно-кишечном тракте животных и человека. Некоторые виды вызывают болезни человека. Представители рода *Ruminococcus* обнаружены в рубце жвачных животных, где имеют большое значение в сбраживании целлюлозы.

Группа 2 — палочки и кокки, образующие эндоспоры. Организмы этой группы объединены в семейство *Bacillaceae*, состоящее из пяти родов: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum* и *Sporosarcina*.

Клетки палочковидные (кроме представителей рода *Sporosarcina*). Подвижные, с перитрихально расположенными жгутиками (имеются неподвижные формы). Образуют споры. Споры бацилл могут располагаться в различных частях материнской клетки; при этом ее форма либо остается неизменной, либо приобретает вид булавы, веретена или барабанной палочки. У *Clostridium* споры часто бывают шире материнской клетки. Это обуславливает образование клостридиальной или плектридиальной формы клеток. Грамположительные. Аэробы (роды *Bacillus* и *Sporosarcina*), анаэробы (*Clostridium* и *Desulfotomaculum*) и факультативные анаэробы (*Sporolactobacillus*).

Широко распространены в почвах, воде, а также в пищеварительном тракте животных и человека. Сапрофиты. Принимают участие в разложении различных органических веществ. У родов *Bacillus* и *Clostridium* имеются виды, которые относятся к возбудителям болезней человека, животных, растений и насекомых. Род *Desulfotomaculum* представлен анаэробными спорообразующими бактериями, восстанавливающими сульфаты в сульфиды.

Группа 3 — грамположительные палочковидные бактерии, не образующие эндоспор. Бактерии этой группы входят в одно семейство *Lactobacillaceae*. Они представляют собой прямые или изогнутые палочки, одиночные или в цепочках. Спор не образуют. Неподвижные. Анаэробы или факультативные анаэробы. Сбраживают углеводы с образованием молочной кислоты. Распространены в почвах, на растениях, в желудочно-кишечном тракте животных, молочных продуктах и т. д.

К данному семейству относится род *Lactobacillus*, который включает 25 видов бактерий. Представителей его называют молочнокислыми бактериями, так как они вызывают молочнокислое брожение. Многие молочнокислые бактерии широко используются в пищевой промышленности для получения кисломолочных продуктов, сыра, а также при квашении овощей, силосовании и т. д. Подробно группа бактерий описана в разделе «Молочнокислое брожение».

КЛАСС II — TALLOBACTERIA

В класс *Tallobacteria* входят актиномицеты и родственные организмы. Все они составляют три различные группы бактерий.

Первая группа — **коринеформные бактерии**. Она представлена родами *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Cellulomonas* и *Kurthia*.

К роду *Corynebacterium* относятся грамположительные, неспорообразующие, неподвижные, не образующие спор бактерии, имеющие вид палочек с утолщениями на концах, напоминающих булаву. В определенных условиях им свойствен полиморфизм — они могут быть в виде больших палочек, которые по мере роста превращаются в короткие палочки, кокки. Это аэробные и факультативно-анаэробные бактерии. Хемоорганотрофы. Кислотоустойчивы. К роду *Corynebacterium* принадлежат виды — возбудители болезней человека, животных и растений.

Род коринеформных бактерий *Arthrobacter* представлен грамположительными, неспорообразующими, неподвижными организмами. Они характеризуются способностью к образованию кокковидных форм, но не дают ветвления, наблюдаемого у микобактерий. У *Arthrobacter* выявлено образование гигантских лимоновидных клубочков (рис. 16). Строгие аэробы. Хемоорганотрофы. Широко распространены в почвах, где участвуют в разложении органических веществ, главным образом гумусовых. Сапрофиты.

Бактерии рода *Cellulomonas* представляют собой неправильные палочки, иногда булавовидные, подвижные. Спор не образуют. Грамположительные. Хемоорганотрофы. Аэробы. Обладают способностью разлагать целлюлозу.

Ко второй группе относится семейство *Propionibacteriaceae*. Данное семейство представлено двумя родами: *Propionibacterium* и *Eubacterium*.

Клетки организмов рода *Propionibacterium* имеют вид ветвящихся или правильных палочек, булавовидных или образующих нити; иногда они кокковидные, раздвоенные и даже разветвленные. Неподвижные. Спор не образуют. Грамположительные. Анаэробы (однако некоторые представители этого рода могут расти при низком уровне кислорода). Хемоорганотрофы. Сбраживают углеводы, молочную кислоту и другие вещества. При брожении образуются пропионовая и уксусная кислоты и CO_2 . Широко распространены в молочных продуктах, на коже человека, в желудочно-кишечном тракте животных и человека. Некоторые виды *Propionibacterium*

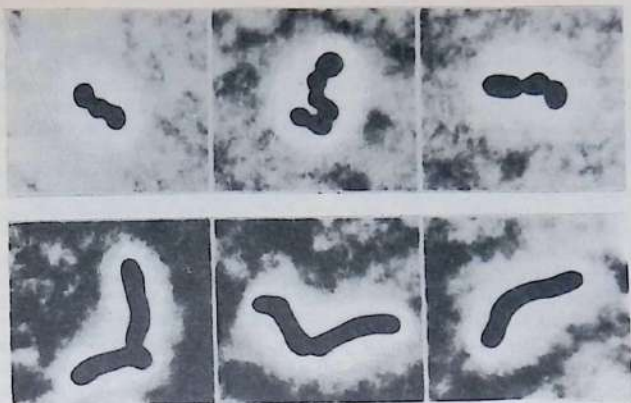


Рис. 16. Клетки *Arthrobacter atrocyaneus* в фазово-контрастном микроскопе (X 2100) (по М. П. Старру, Д. А. Куру).

используют при изготовлении твердых сыров. Другие виды могут вызывать заболевания человека и животных.

К роду *Eubacterium* относятся неспорообразующие, грамположительные бактерии, палочковидные, неправильной формы. Неподвижные или подвижные. Хемоорганотрофы. При сбраживании углеводов образуются масляная, уксусная или муравьиная кислоты. Obligatные анаэробы. Обнаружены в полостях тела человека и животных, в продуктах животного и растительного происхождения. Некоторые виды являются болезнетворными организмами.

Третья группа бактерий представлена порядком *Actinomycetales* (актиномицеты). Это группа грамположительных бактерий, обладающая способностью к образованию ветвящихся гиф, которые могут развиваться в мицелий. Гифы у актиномицетов одноклеточные, диаметром 0,5—2 мкм. У актиномицетов, растущих на агаровых питательных средах, различают субстратный и воздушный мицелий. На воздушном мицелии образуются воздушные гифы (спороносцы), от которых отщуриваются конидии, служащие для размножения. Большинство актиномицетов с мицелиальным строением размножаются спорами. На твердых питательных средах актиномицеты образуют плотные колонии, окрашенные в различные цвета.

К актиномицетам относят также организмы, у которых образование гиф почти не происходит, и они представляют собой ветвящиеся или слегка разветвленные палочки.

Все актиномицеты имеют типичную для прокариот структуру клетки. Актиномицеты — преимущественно аэробные организмы, однако встречаются анаэробные и факультативно-анаэробные формы. Обитают главным образом в почве, где участвуют в разложе-

нии многих органических соединений, в том числе высокомолекулярных.

Среди актиномицетов имеются не только сапрофитные формы и возбудители болезней человека и животных. Многие актиномицеты выделяют антибиотические вещества, которые используются для борьбы с бактериальными и вирусными заболеваниями человека, животных и растений.

Порядок Actinomycetales включает семейства: Actinomycetales, Mycobacteriaceae, Frankiaceae, Nocardiaceae, Streptomycetales, Micromonosporaceae и др. Ниже отмечены наиболее важные представители актиномицетов.

Семейство Actinomycetaceae представлено грамположительными бактериями, образующими разветвленные гифы, легко подверженные фрагментации, в результате чего возникают ветвящиеся палочки, кокки, дифтероидные клетки. Воздушный мицелий и споры не образуются. Неподвижные. Факультативные анаэробы и анаэробы. Хемоорганотрофы. Некоторые представители семейства Actinomycetaceae — возбудители различных болезней. В семейство входят роды Actinomyces, Actinomyces, Actinomyces и др.

Семейство Mycobacteriaceae включает в себя грамположительные, неподвижные палочки. Они отличаются некоторой изогнутостью клеток, ветвлением (характерно для молодых клеток). Образуют небольшой мицелий, короткие нити которого довольно быстро распадаются на отдельные фрагменты. Размножаются делением, споры не образуют. Аэробы. Хемоорганотрофы. Колонии микобактерий имеют пастообразную или полужидкую, слизистую консистенцию. Широко распространены в почвах, где разлагают разнообразные органические вещества. Ряд микобактерий являются возбудителями болезней животных и человека. Семейство представлено родом Mycobacterium, куда входит 27 видов.

Семейство Frankiaceae представлено видами, образующими тонкий мицелий, который септирован и ветвится. Гифы довольно тонкие (0,3—0,5 мкм в диаметре), у некоторых видов бывают толще. Эти бактерии вызывают образование клубеньков у большого числа небобовых двудольных растений (ольха, лох, облепиха и др.). В клетках клубенька, заполненных массой гиф, образуются сферические или булавовидные вздутия. Сферические тельца называются везикулами. Являются симбионтами растений и могут фиксировать в клубеньке молекулярный азот. Микроаэрофилы. Имеют стадийно-свободноживущую в почве. Семейство представлено родом Frankia, куда отнесено десять видов.

Семейство Nocardiaceae объединяет аэробных актиномицетов хорошо развитым субстратным мицелием, распадающимся вначале на палочковидные, а затем кокковидные клетки. Лишь некоторые ноккардии образуют слабо развитый воздушный мицелий, на котором образуются цепочки спор. Грамположительные. Неподвижные. Колонии ноккардий на твердых питательных средах имеют тестообразную консистенцию. Распространены в почвах. Разлагают сложные органические соединения, в том числе гумусовые вещества.

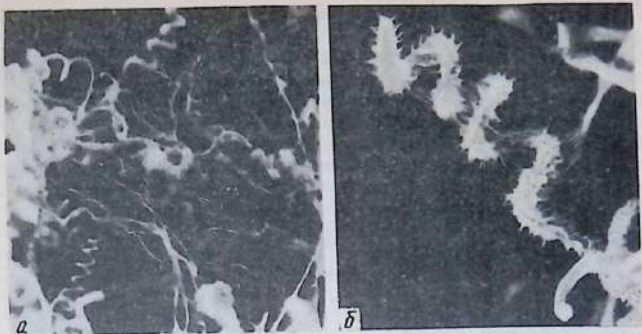


Рис. 17. Поверхность колонии актиномицетов из рода *Streptomyces* в сканирующем электронном микроскопе:
 а — общий вид воздушного мицелия (X 1740); б — цепочки спор (X 5800) (по С. Кимото, Дж. Кусс).

Семейство *Nocardiaceae* представлено родом *Nocardia*, куда отнесен 31 вид.

Семейство *Streptomycetaceae* включает организмы, образующие субстратный, хорошо развитый, разветвленный мицелий, состоящий из нефрагментированных нитей. На нем развивается воздушный мицелий, содержащий спороносцы со спорами. Споры образуются фрагментированием гиф воздушного мицелия, они могут иметь гладкую или узорчатую поверхность (рис. 17). Представители стрептомицетов образуют плотные, врастающие в субстрат, часто пигментированные колонии. Грамположительные. Хемоорганотрофы. Аэробы. Стрептомицеты — организмы, широко распространенные в почвах, где участвуют в разложении различных органических веществ. Стрептомицеты — продуценты многих высокоэффективных антибиотиков, используемых в медицине, ветеринарии, защите сельскохозяйственных растений от вредителей и болезней. Семейство имеет четыре рода, среди которых род *Streptomyces* представлен более чем 450 видами.

Семейство *Micromonosporaceae* объединяет организмы, которые имеют воздушный мицелий (кроме рода *Micromonospora*). Одиночные споры, пары или короткие цепочки образуются на воздушном или субстратном мицелии или на том и другом. Аэробы. Сапрофиты. Семейство представлено шестью родами. Род *Micromonospora* — это организмы, образующие одиночные споры непосредственно на субстратном мицелии. Воздушный мицелий не образуется. Микромоноспоры распространены в почвах, в разлагающемся иле и других субстратах. Способны вызывать трансформацию таких органических веществ, как белок, целлюлоза, хитин, гумусовые соединения и т. д. Известны также роды *Thermoactinomyces*, *Microbispora*, *Micropolyspora* и др.

ОТДЕЛ III — Tenericutes

Отдел объединяет грамотрицательных прокариот, не имеющих жесткой клеточной стенки, которые не синтезируют пептидогликан. Они имеют тонкую плазматическую мембрану. Это плеоморфные организмы, размножающиеся почкованием, фрагментацией и бинарным делением. Отдел включает в себя микоплазмы, которые могут быть сапрофитами, паразитами и возбудителями болезней животных и растений.



Рис. 18. Электронная фотография *Mycoplasma* ($\times 40000$) (по Х. П. Чю).

Микоплазмы — это прокариотические организмы, которые характеризуются отсутствием клеточной стенки. Клетки микоплазм окружены трехслойной цитоплазматической мембраной, имеют сферическую или овальную форму, некоторые из них представлены тонкими нитями, с тенденцией к образованию разветвленных мицелиевидных структур (рис. 18). Микоплазмы приближаются по размерам к самым мелким бактериям (125—250 нм). Они, подобно вирусам, проходят через бактериологические фильтры, задерживающие обычные бактерии. Размножение микоплазм происходит путем развития в нитях маленьких кокковидных структур (элементарных телец) с их последующим освобождением после разрушения нитей, а также бинарным делением, почкованием. Неподвижны. Грамотрицательные. Факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы.

Микоплазмы объединены в класс *Mollicutes**. Класс включает порядок *Mycoplasmatales*, который состоит из трех семейств — *Mycoplasmataceae*, *Acholeplasmataceae* и *Spiroplasmataceae*.

Семейство Mycoplasmataceae представлено родами *Mycoplasma* и *Ureaplasma*, виды которых широко распространены в природе (почвах, сточных водах и т. д.). Многие из них сапрофиты и паразиты, а также возбудители различных заболеваний человека и животных.

В *семейства Acholeplasmataceae* и *Spiroplasmataceae* входят роды *Acholeplasma* и *Spiroplasma*, представители которых, как правило, — сапрофиты, однако встречаются и паразиты млекопитающих и птиц.

ОТДЕЛ IV — *Mendosicutes*

К отделу *Mendosicutes* принадлежат прокариоты, обладающие несовершенной клеточной стенкой, которая не содержит пептидогликана (муреина); клетки имеют форму кокков, палочек и спиралей, а также пирамид, шестилучевой звезды, квадрата, мицелиальных ансамблей и т. д. Некоторые представители окрашиваются по Граму положительно, другие — отрицательно, эндоспор не образуют, многие подвижны.

Большинство бактерий — строгие анаэробы, однако некоторые относятся к аэробам. Обитают в экстремальных условиях внешней среды.

В отдел входит класс *Archeobacteria*. К этому классу относятся бактерии (называемые архебактериями), обладающие уникальными физиологическими, биохимическими свойствами и экологией, резко отличающимися их от остальных прокариот. В частности, они отличаются от других бактерий составом и первичной структурой рибосомальных 16S и 5S р-РНК, а также транспортных РНК; составом мембранных липидов и образованием однослойной липид-

* Лат. *mollis* — мягкий, *cutes* — кожа.

ной мембраны (у всех других бактерий липидные мембраны двойные); составом клеточных стенок (они состоят не из муреина, а из других биополимеров — кислых полисахаридов, белков и пептидов); способностью некоторых видов развиваться при температурах выше 100°C и другими признаками. Архебактерии делятся на пять групп: метанообразующие, аэробные сероокисляющие, аэробные серовосстанавливающие, галобактерии и термоацидофильные «микоплазмы».

Группа метанообразующих бактерий представлена рядом родов, в том числе *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcina* и др. Эти организмы имеют палочковидные или кокковые клетки, подвижные и неподвижные, грамположительные или грамотрицательные.

Спор не образуют. Строгие анаэробы. Облигатные и факультативные хемолитотрофы и хемоорганотрофы. Энергию получают путем восстановления CO_2 до метана с использованием H_2 либо путем сбраживания уксусной кислоты и метилового спирта с образованием метана и CO_2 .

Широко распространены в почвах, илах, желудочно-кишечном тракте животных и т. д.

Группа аэробных сероокисляющих бактерий представлена рядом родов *Sulfobolus*. Эти бактерии окисляют элементарную серу, используя ее в качестве источника энергии. Факультативные автотрофы. Аэробы.

Термофилы, развиваются при температуре 70—75°C, ацидофилы, оптимум $\text{pH} \approx 3$.

В *группе анаэробных серовосстанавливающих бактерий* выделяют роды *Thermoproteus*, *Thermophilum*, *Desulfurococcus* и др. Представители этой группы восстанавливают элементарную серу до H_2S .

Строгие анаэробы. Облигатные и факультативные хемолитотрофы и хемоорганотрофы. Экстремальные термофилы — оптимальная температура развития от 85 до 105°C. Распространены в гидротермальных источниках.

К *группе галобактерий* отнесены роды *Halococcus*, *Halobacterium*, «квадратная бактерия» и другие, отличающиеся способностью развиваться на средах с высокими концентрациями NaCl (20—25%).

Это так называемые экстремальные галофилы. Среди них имеются аэробы и факультативные анаэробы. Участвуют в превращении углерода и азота в засоленных почвах, водоемах и других субстратах.

Группа термоацидофильных «микоплазм» представлена родом *Thermoplasma*. Это хемоорганотрофы, развивающиеся при высокой температуре (60°C) и низком pH (около 1-2). Аэробы. Обнаружены в Японии в горячих источниках.

МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ДРУГИХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ

ВОДОРОСЛИ

Водоросли — эукариотические организмы, осуществляющие фотосинтез с выделением кислорода и имеющие хлоропласты. Известны одноклеточные, нитчатые, колониальные (циноцитные) формы, а также многоклеточные, состоящие из слабо дифференцированных клеток и тканей, которые образуют структуру, сходную с растениями, так называемый таллом, или слоевище. Слоевища могут быть различной формы: простые нити, шнуровидные тонкие нити, шаровидные образования, пластинчатые или кустистые с ложными листьями. Некоторые водоросли можно наблюдать только под микроскопом, размеры других достигают десятков метров.

Одноклеточные водоросли могут быть без жгутиков и со жгутиками, позволяющими им активно передвигаться в воде. Большинство одноклеточных водорослей имеют два жгутика. Колониальные водоросли состоят из нескольких или многих клеток, одинаковых по форме и функциям. Многоклеточные водоросли между клетками имеют плазмодесмы.

Клетки водорослей окружены клеточной стенкой, состоящей из целлюлозы с примесью пектиновых веществ. У одних водорослей стенки клеток покрыты толстым слоем смолистых (клейких) веществ, у других пропитаны кремнеземом. В клетке имеется цитоплазма, одно или много ядер, вакуоли и хлоропласты — органы фотосинтеза. У водорослей они бывают самой разнообразной формы и разной окраски, но обязательно содержат пигмент хлорофилл. Цвет их зависит и от других пигментов. У многих водорослей в хлоропластах содержатся особые белковые тельца — пиреноиды, около которых откладывается крахмал. Он может накапливаться и непосредственно в хлоропластах. Кроме крахмала, водоросли могут синтезировать другие полисахариды, а также моносахара и масла.

У водорослей отмечено три способа размножения: вегетативное, бесполое и половое. Водоросли широко распространены в природе. Их обнаруживают в реках, морях, океанах, озерах, болотах, почвах и других субстратах. Водоросли, обитающие в пресной или морской воде, в основном свободноживущие, однако некоторые одноклеточные водоросли могут вступать в симбиоз с морскими беспозвоночными (губками, коралловыми полипами и др.). Наземные водоросли обитают как на поверхности почв, так и в толще почвенного слоя, а также на коре деревьев, скалах и т. п. Некоторые из них (зеленые или сине-зеленые) вступают в симбиоз с грибами (аскомицетами), образуя лишайники — двухкомпонентные ассоциа-

ной мембраны (у всех других бактерий липидные мембраны двойные); составом клеточных стенок (они состоят не из муреина, а из других биополимеров — кислых полисахаридов, белков и пептидов); способностью некоторых видов развиваться при температурах выше 100°C и другими признаками. Архебактерии делятся на пять групп: метанообразующие, аэробные сероокисляющие, аэробные серовосстанавливающие, галобактерии и термоацидофильные «микоплазмы».

Группа метанообразующих бактерий представлена рядом родов, в том числе *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcina* и др. Эти организмы имеют палочковидные или кокковые клетки, подвижные и неподвижные, грамположительные или грамотрицательные.

Спор не образуют. Строгие анаэробы. Облигатные и факультативные хемолитотрофы и хемоорганотрофы. Энергию получают путем восстановления CO_2 до метана с использованием H_2 либо путем сбраживания уксусной кислоты и метилового спирта с образованием метана и CO_2 .

Широко распространены в почвах, илах, желудочно-кишечном тракте животных и т. д.

Группа аэробных сероокисляющих бактерий представлена рядом родов *Sulfolobus*. Эти бактерии окисляют элементарную серу, используя ее в качестве источника энергии. Факультативные автотрофы. Аэробы.

Термофилы, развиваются при температуре $70-75^{\circ}\text{C}$, ацидофилы, оптимум $\text{pH} \approx 3$.

В *группе анаэробных серовосстанавливающих бактерий* выделяют роды *Thermoproteus*, *Thermophilum*, *Desulfurococcus* и др. Представители этой группы восстанавливают элементарную серу до H_2S .

Строгие анаэробы. Облигатные и факультативные хемолитотрофы и хемоорганотрофы. Экстремальные термофилы — оптимальная температура развития от 85 до 105°C . Распространены в гидротермальных источниках.

К *группе галобактерий* отнесены роды *Halococcus*, *Halobacterium*, «квадратная бактерия» и другие, отличающиеся способностью развиваться на средах с высокими концентрациями NaCl (до 25%).

Это так называемые экстремальные галофилы. Среди них имеются аэробы и факультативные анаэробы. Участвуют в превращении углерода и азота в засоленных почвах, водоемах и других субстратах.

Группа термоацидофильных «микоплазм» представлена родом *Thermoplasma*. Это хемоорганотрофы, развивающиеся при высокой температуре (60°C) и низком pH (около 1-2). Аэробы. Обнаружены в Японии в горячих источниках.

МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА ДРУГИХ ГРУПП МИКРООРГАНИЗМОВ

ВОДОРОСЛИ

Водоросли — эукариотические организмы, осуществляющие фотосинтез с выделением кислорода и имеющие хлоропласты. Известны одноклеточные, нитчатые, колоннальные (циноцитные) формы, а также многоклеточные, состоящие из слабо дифференцированных клеток и тканей, которые образуют структуру, сходную с растениями, так называемый таллом, или слоевище. Слоевища могут быть различной формы: простые нити, шнуровидные тонкие нити, шаровидные образования, пластинчатые или кустистые с ложными листьями. Некоторые водоросли можно наблюдать только под микроскопом, размеры других достигают десятков метров.

Одноклеточные водоросли могут быть без жгутиков и со жгутиками, позволяющими им активно передвигаться в воде. Большинство одноклеточных водорослей имеют два жгутика. Колонии и альные водоросли состоят из нескольких или многих клеток, одинаковых по форме и функциям. Многоклеточные водоросли между клетками имеют плазмодесмы.

Клетки водорослей окружены клеточной стенкой, состоящей из целлюлозы с примесью пектиновых веществ. У одних водорослей стенки клеток покрыты толстым слоем смолистых (клейких) веществ, у других пропитаны кремнеземом. В клетке имеется цитоплазма, одно или много ядер, вакуоли и хлоропласты — органы фотосинтеза. У водорослей они бывают самой разнообразной формы и разной окраски, но обязательно содержат пигмент хлорофилл. Цвет их зависит и от других пигментов. У многих водорослей в хлоропластах содержатся особые белковые тельца — пиреноиды, около которых откладывается крахмал. Он может накапливаться и непосредственно в хлоропластах. Кроме крахмала, водоросли могут синтезировать другие полисахариды, а также моносахара и масла.

У водорослей отмечено три способа размножения: вегетативное, бесполое и половое. Водоросли широко распространены в природе. Их обнаруживают в реках, морях, океанах, озерах, болотах, почвах и других субстратах. Водоросли, обитающие в пресной или морской воде, в основном свободноживущие, однако некоторые одноклеточные водоросли могут вступать в симбиоз с морскими беспозвоночными (губками, коралловыми полипами и др.). Наземные водоросли обитают как на поверхности почв, так и в толще почвенного слоя, а также на коре деревьев, скалах и т. п. Некоторые из них (зеленые или сине-зеленые) вступают в симбиоз с грибами (аскомицетами), образуя лишайники — двухкомпонентные ассоциа-

ции, развивающиеся в крайне неблагоприятных условиях температуры и влажности.

Почвенные водоросли распространены повсеместно, главным образом в поверхностных слоях почвы, где условия (влажность, освещение) для них наиболее благоприятны. Влага — самый важный экологический фактор, определяющий распространение водорослей.

Морфологическое разнообразие водорослей очень велико, но почти все виды, встречающиеся в почве, имеют микроскопические размеры и состоят из одной клетки. Почвенные водоросли — простейшие одноклеточные организмы, нити или колонии.

Потребность водорослей в питательных веществах очень разная. На свету водоросли благодаря наличию хлорофилла используют углерод CO_2 . Источником азота для водорослей служат минеральные формы этого элемента. Нитраты водоросли усваивают, а также другие соединения. Водоросли, живущие в темноте (в глубоких слоях почвы), нуждаются в источниках органического углерода и используют его из растительных остатков или из продуктов обмена веществ бактерий. В этих условиях лучший источник азота для них — аммонийный азот. Для водорослей благоприятно высокое содержание органических веществ, поэтому они в больших количествах встречаются в окультуренных и садовых почвах.

Водоросли активно участвуют в процессах превращения азота. Они используют минеральный (нитратный и аммонийный) азот и переводят его в органические соединения, входящие в состав протоплазмы. Водоросли играют весьма важную роль в круговороте веществ на Земле, так как они продуцируют и накапливают органическое вещество, особенно в формирующихся почвах.

Классификация водорослей основывается на таких признаках, как химический состав клеточной стенки, строение и расположение жгутиков у подвижных клеток, характер фотосинтетических пигментов, а также природа образуемых клеткой запасных органических веществ. На основании этих признаков водоросли делят на несколько крупных самостоятельных групп. Остановимся только на нескольких группах, которые достаточно широко распространены в почвах.

Зеленые водоросли (Chlorophyta). Это самая обширная и разнообразная группа водорослей. Они представлены одноклеточными формами, а также многоклеточными, образующими нитчатые и плоские листовидные талломы. Зеленые водоросли очень разнообразны по морфологии клеток и организации таллома. Так, одноклеточные водоросли порядка *Chloococcales* могут иметь круглую, серповидную или веретеновидную форму. В ряде случаев они образуют колонии, состоящие из 3—4 клеток. Многие зеленые водоросли обладают жгутиками, но некоторые виды неподвижны. Одноклеточные жгутиковые водоросли относят к порядку *Chlamydomonadales*. Клетки их имеют два жгутика, однако при неблагоприятных условиях проходят пальмелевидную стадию — теряют жгутики и выделяют слизь, но продолжают делиться. Эта стадия весьма характерна для обитателей почвы. Зеленые водоросли поряд

Ulotrichales характеризуются образованием талломов, имеющих нитчатое или пластинчатое (возникшее из нитчатого) строение. Размножаются зеленые водоросли как бесполом путем — делением и образованием бесполов спор — неподвижных (автоспоры) и подвижных (зооспоры), так и половым — конъюгацией двух клеток, слиянием их ядер с образованием половых спор, впоследствии прорастающих в новые нити.

Желто-зеленые водоросли (Xanthophyta). В почвах встречаются одноклеточные и нитчатые формы этих водорослей, обнаружен вид с сифональной структурой таллома (представляет собой одну сильно разросшуюся многоядерную клетку). Наиболее характерный признак желто-зеленых водорослей — наличие разных жгутиков у многих одноклеточных форм и у зооспор. Обычно один жгутик длиннее другого. Оболочка у водорослей часто составная из H-половинок, способных иногда разделяться. Размножение вегетативное, бесполое (зооспорами и автоспорами), очень редко наблюдается половой процесс — изогамия.

В почвах широко распространены одноклеточные водоросли родов *Bumilleria*, *Characiopsis* и *Pleurochloris*, нитчатые родов *Heterothrix* и *Tribonema*. Представитель рода *Botrydium* (*B. granulatum*) имеет неклеточное строение таллома. Это пузыревидная водоросль величиной до 1 мм, обитающая на поверхности сырой, хорошо удобренной почвы. К почве прикрепляется бесцветными ветвящимися ризоидами.

Диатомовые водоросли (Chrysophyta) представлены одноклеточными формами. Их клеточные стенки содержат кремний и состоят из двух створок, заходящих одна за другую, подобно двум частям коробки. Клеточные стенки диатомовых водорослей имеют характерный для каждого вида рисунок (тонкие ребрышки, линии, поры и т. п.). Эти водоросли способны к скользящему движению, которое осуществляется благодаря особому току протоплазмы, выпускаемой через шов (поясок) на поверхности клеточной стенки. В клетках они откладывают запасные питательные вещества, главным образом в виде жира, а не крахмала. Диатомовые водоросли размножаются бесполом или половым путем. В почвах распространены водоросли родов *Hantzschia*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Pinnularia* и др.

ПРОСТЕЙШИЕ

Простейшие — наиболее многочисленная и повсеместно распространенная в почвах группа одноклеточных микроскопических организмов. Размеры их 5—20 мкм, клетки могут быть шаровидной, овальной, сплюснутой или разветвленной формы. Простейшие обычно подвижны и пластичны, то есть легко изменяют форму. Для простейших, обитающих в почве, характерна способность образовывать цисты, устойчивые к неблагоприятным условиям. Цисты отличаются высокой сопротивляемостью и жизнестойкостью, они выживают даже после длительного высушивания, обработки кислотами и т. п.

Простейшие обычно — паразиты и хищники, но имеются и сафаги.

Число простейших в почве зависит от ее типа, содержания органического вещества, влажности, сезона года, растительности, других факторов, колеблется в значительных пределах и может достигать нескольких миллионов в 1 г абсолютно сухой почвы. Средняя масса живых клеток на 1 га колеблется от нескольких килограммов в лесных подзолистых почвах до нескольких тонн на выщелоченных сероземах под люцерной и хлопчатником. Биомасса простейших уступает биомассе микрофлоры.

Сложные отношения складываются у простейших с другими почвенными микроорганизмами. Большинство видов почвенных простейших — бактериядные формы. Они обладают определенной избирательностью в питании бактериями. Так, почвенные амебы, кроме других бактерий, активно поглощают клетки азотобактера. Выедая часть клеток, простейшие поддерживают численность азотобактера на определенном уровне; кроме того, биологически активные вещества простейших положительно влияют на фиксацию азота атмосферы почвенными микроорганизмами. Некоторые виды почвенных грибов и актиномицетов подавляют развитие простейших. В свою очередь, определенные формы простейших пробурывают стенки конидий грибов, используя их содержимое в качестве пищевого материала.

Простейшие стимулируют рост и развитие высших растений. Они оказывают положительное действие на растения непосредственно, например, выделяя продукты обмена веществ, которые обогащают ризосферу азотсодержащими соединениями; способствуют разложению сложных органических соединений, переводя их в более простые, доступные для растений. Простейшие могут воздействовать на растения и косвенно, влияя на численность, видовой состав и жизнедеятельность микробного населения почвы.

В настоящее время в почвах Советского Союза обнаружено 560 видов простейших, относящихся к 166 родам классов жгутиконосцев, саркодовых и инфузорий.

Жгутиконосцы (*Mastigophora*, *Flagellata*) — жгутиковые простейшие, имеющие один или несколько жгутиков. При размножении клетки жгутиковых простейших делятся в продольном направлении. Некоторые виды жгутиконосцев содержат в своих клетках пигменты, в том числе хлорофилл, и способны к фотосинтезу. Типичный представитель этих растительных жгутиконосцев, или фитомаселенингов, — эвглена зеленая (*Euglena viridis*). Данные организмы занимают промежуточное положение между растениями и животными.

В некоторых случаях зеленые жгутиконосцы, например эвглены, могут менять свой тип питания на осмотрофный в результате потери в темноте хлорофилла. Поэтому их можно отнести к миксотрофам — организмам со смешанным типом питания. В почвах встречаются также зеленые *Chlamydomonas*, бурые *Cryptomonas*, желтые *Ochromonas* жгутиконосцы. Бесцветные жгутиконосцы, на-

зоомастигины, представлены как сапротрофами, так и формами с голозойным типом питания. Сюда относятся виды родов *Vodo*, *Sarcomonas*, *Oicomonas*, *Monas* и др.

Саркодовые (*Sarcodina*). Среди представителей саркодовых, обитающих в почвах, следует отметить корненожек — голых и раковинных амёб. Это простейшие, у которых превалирует амёбный способ передвижения, хотя некоторые из этих организмов способны также образовывать жгутики. Характерная особенность амёб — непостоянство формы их тела. Они не обладают жесткой клеточной стенкой и могут образовывать временные протоплазматические отростки — псевдоподии, которые служат им для передвижения и для «заглатывания» пищи. Обычно одна или две псевдоподии выдвигаются, окружая и поглощая бактериальную или дрожжевую клетку, другое простейшее или очень мелкое многоклеточное животное.

Раковинные амёбы относятся главным образом к сапрофитам. Часть тела этих амёб заключена в панцирь, или раковину. У этих организмов псевдоподии вытягиваются наружу через отверстие (устье), а раковина играет защитную роль. Строение панциря, имеющего весьма характерную форму, положено в основу классификации раковинных амёб. Эти амёбы обитают (преимущественно виды рода *Plagiopyxis*) в различных почвах, особенно много их в болотных почвах.

Инфузории, или ресничные (*Ciliata*), очень большая и разнообразная группа простейших, широко распространенных в пресных водоемах. В почве этих организмов значительно меньше, чем жгутиковых и амёб. Инфузории, в отличие от амёб, имеют определенную и постоянную форму, округлую спереди и заостренную сзади, благодаря плотной, хотя и гибкой, наружной оболочке. Поверхность клетки покрывают многочисленные реснички (около 2500), сгруппированные в продольные косые или спиральные ряды. С помощью ресничек происходит движение клеток и подведение пищи к ротовому отверстию — цитостому. Клетки инфузорий достаточно сложны: в цитоплазме различают экто- и эндоплазму, имеется два типа ядер — макро- и микронуклеус, пищеварительные и сократительные вакуоли и различные включения. Клетка делится в поперечном направлении, а не в продольном, как у жгутиковых.

Представителей почвенных инфузорий относят к подклассам:

Holotricha (*Colpoda*, *Paramaesium*) с равномерным расположением ресничек по всей поверхности клетки;

Spirotricha, имеющих спиральные ряды ресничек от заднего конца клеток к ротовому отверстию (*Stylonichia*);

Peritricha, клетки которых поперечно как бы «срезаны» в месте, где имеется ротовое отверстие, причем ротовая ямка окружена двумя рядами укороченных ресничек. Среди этих инфузорий имеются прикрепленные формы со стебельком (*Vorticella*).

ГРИБЫ

Грибы — низшие эукариотические одноклеточные и мицелиальные хемоорганотрофные организмы. Их относят к особому царству — Мусота. Представителей грибов делят на макро- и микромицеты. Макромицеты образуют крупные плодовые тела, отсутствующие у микромицетов. У последних на протяжении всего жизненного цикла имеются только микроскопические структуры.

Длинные разветвленные нити, или гифы, составляют тело гриба, называемое мицелием, или грибницей. У некоторых грибов гифы представляют собой нити без поперечных перегородок. Большинство грибов имеют гифы с поперечными перегородками (септами), разделяющими их на участки. На основании этих морфологических отличий грибы делят на низшие — несептированные и высшие — септированные.

По размерам грибы значительно крупнее бактерий и актиномицетов. Диаметр их гиф колеблется от 5 до 50 мкм и более.

Клеточная стенка большинства грибов содержит хитин или близкие к нему соединения. Под клеточной стенкой находится цитоплазма зернистой структуры. Она, видимо, содержит гранулы рибосом, состоящие почти из одной РНК и являющиеся основным местом синтеза белка. В цитоплазме грибов имеются митохондрии, в которых локализируются дыхательные ферменты; могут быть также включения волютина и жиров. В клетках грибов находится четко дифференцированное ядро, окруженное мембраной. Несептированный мицелий грибов содержит несколько ядер.

Наличие мицелия — один из отличительных признаков грибов. Отдельные участки мицелия грибов могут превращаться в различные специальные образования, служащие для сохранения или размножения вида.

Способы размножения грибов весьма разнообразны. Это вегетативное, бесполое и половое размножение. Их специфичность достаточно трудно определить систематическое положение того или иного гриба.

Грибы относятся к весьма широко распространенной в природе группе организмов. Их обнаруживают во всех естественных субстратах (почвах, растительных и животных остатках и т. п.), продуктах питания и т. д. Среди грибов имеются не только сапрофиты, но и паразиты и даже хищники. В почве эти организмы разлагают различные органические вещества, в том числе такие сложные соединения, как целлюлоза, лигнин и др. Грибы могут вызвать порчу пищевых продуктов, деревянных построек, изделий из каучука, резины, нефтепродуктов и т. д. Кроме того, некоторые из них являются возбудителями болезней растений, животных и человека.

Рассмотрим некоторых представителей грибов, которые имеют значение в сельском хозяйстве или промышленности.

В царство Мусота входят собственно грибы, или истинные грибы (*Eumycota*) и слизевики, или миксомицеты (*Mycetozoa*).

Миксомицеты — это своеобразные организмы, напоминающие по некоторым свойствам грибы, но в определенные периоды цикла своего развития сходные с амебами. Встречаются они в виде слизистой массы и передвигаются, подобно амебам, выпуская псевдоподии. В этой массе, не разделенной на клетки, много ядер. Миксомицеты могут размножаться простым делением. Однако в определенный период времени отдельные слизистые массы соединяются друг с другом, образуя плодовое тело, в котором возникают споры. Последние, попадая в благоприятную среду, прорастают, а затем начинают делиться, образуя амебоидные клетки. Некоторые из таких клеток (гамет) сливаются друг с другом, образуя зиготу, которая делится и разрастается до многоядерной слизистой массы. Среди миксомицетов есть паразиты растений. Они вызывают, например, килу капусты (*Plasmodiophora brassicae*).

Истинные грибы делят на шесть классов, краткая характеристика которых приведена ниже.

Класс Chytridiomycetes характеризуется или полным отсутствием мицелия, или ценоцитным (неклеточным) мицелием. Представители этого класса размножаются бесполом (зооспорами) или половым путем. Зооспоры и гаметы (планогаметы) имеют один задний жгутик, построенный по типу кнута. Многие Chytridiomycetes — типичные водные организмы, однако некоторые из них обитают в почве, а также в тканях растений, как паразиты, или на отмерших растительных остатках.

Класс Oomycetes представляет собой группу организмов с характерным половым процессом — оогамией и подвижными зооспорами (с двумя жгутиками) — элементами бесполого размножения. Многие оомицеты — наземные облигатные паразиты, которые проводят полный жизненный цикл на растении-хозяине.

К классу оомицетов относятся многие фитопатогенные грибы, например *Pithium*, *Phytophthora*, вызывающие болезни сельскохозяйственных растений.

Класс Zygomycetes — группа организмов, полностью утративших подвижные стадии в своем развитии. У представителей этого класса наиболее часто отмечается половое размножение. Бесполое размножение осуществляется неподвижными спорангиеспорами или конидиями.

В класс Zygomycetes в числе прочих входит порядок Mucogales, многочисленные организмы которого широко распространены в почвах. Грибы порядка Mucogales имеют хорошо развитый и разветвленный одноклеточный мицелий, над которым возвышаются плодоносящие гифы — спорангиеносцы. Размножение бесполом путем происходит при помощи неподвижных спорангиеспор, образующихся внутри спорангиев. Порядок Mucogales имеет несколько семейств, в которые входят грибы, часто встречающиеся в почве. Среди них можно отметить роды *Mucog*, *Thamnidium*, *Rhizopus* и др.

Класс Ascomycetes. Аскомицеты, или сумчатые грибы, представляют собой самый обширный класс грибов. Имеют сильно раз-

ветвленный, многоклеточный мицелий. Размножение происходит обычно при помощи конидий. Кроме того, они размножаются половым путем — аскоспорами, которые образуются после слияния половых клеток (гамет) в сумке (аске). В аске образуется 4—6—8 аскоспор.

Аски располагаются в образованиях различной формы в аскокарпиях (клеистоотекках) — вместилищах без отверстий, перитециях — вместилищах с отверстием или апотециях, имеющих форму чаши или куба.

К аскомицетам, часто встречающимся в почве, относятся в основном роды *Aspergillus*, *Penicillium* и *Chaetomium*. Обычно этим грибам свойственно размножение при помощи конидий, но иногда образуют сумки. К этому классу относятся и спорынья.

Класс Basidiomycetes. Вегетативная часть тела этих грибов представлена мицелием, состоящим из многоклеточных гиф. Ядро дифференцированное. Половое размножение осуществляется базидиями — образованиями, сходными по функциям с сумками аскомицетов. Каждая базидия образуется после слияния ядер гамет и представляет собой цилиндрическую клетку, на конце которой развиваются четыре базидиоспоры. Последние отделяются, попадая в благоприятные условия, дают новый мицелий.

К базидиомицетам относятся вредители сельскохозяйственных растений, например возбудители ржавчины и головни, вредители древесины (домовой гриб — *Serpula lacrymans*), многие высшие грибы, в том числе съедобные грибы, а также разнообразные сапрофиты, активно участвующие в разложении органических остатков.

Класс Deuteromycetes (Fungi imperfecti) — несовершенные грибы, их тело состоит из расчлененных прозрачных или окрашенных многоклеточных гиф и иногда из почкующихся клеток. Размножаются исключительно бесполом путем, при котором образование конидий происходит на изолированных или расположенных группами конидиеносцах или в специальных образованиях, называемых пикнидами.

К этому классу относятся три порядка: *Sphaeropsidales*, *Melanconiales* и *Hymenomycetales (Moniliales)*, представители которых широко распространены в почве.

Грибы порядка *Sphaeropsidales* характеризуются конидиями, которые образуются в пикнидах, остающихся закрытыми или вскрывающихся наружу порами или трещинами. Сюда входят *Phoma* и др.

Виды рода *Phoma* образуют микоризу с корнями некоторых растений.

В порядок *Melanconiales* входят организмы, которые не имеют пикнид. Конидии расположены на конидиеносцах, соединенных с особыми образованиями — ацервулами.

Грибы порядка *Hymenomycetales* имеют расчлененные, разветвленные, прозрачные или темноокрашенные гифы. Их весьма разнообразные конидии находятся на конидиеносцах, последние расположены по одному или группами.

В почве имеются многие представители данного порядка — *Serphalosporium*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium* и др.

Несовершенные грибы подразделяются на семейства, различающиеся между собой типом мицелия и формой конидиеносцев.

К классу несовершенных грибов относят и группу грибов с неустановленным способом полового и бесполого размножения (порядок *Mycelia sterilia* — грибы со стерильным мицелием). Сюда входит ряд грибов (*Sclerotium*, *Rhizoctonia* и др.), имеющих значение в почвенных процессах.

Дрожжи и дрожжеподобные грибы относятся к сумчатым, базидиомицетам и несовершенным грибам — *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes*.

В класс *Ascomycetes* входит порядок *Endomycetales* — дрожжеподобные сумчатые грибы, образующие эндоспоры. К этому порядку относится семейство *Saccharomycetaceae*, представители которого имеют скудный мицелий или совсем лишены его. Это одноклеточные организмы овальной формы. Размножаются почкованием или делением.

К данному семейству принадлежит хорошо изученный род *Saccharomyces*, многие виды его (например, *Saccharomyces cerevisiae*) имеют большое значение в пищевой промышленности. Эти дрожжи размножаются почкованием. Род *Schizosaccharomyces*, также относящийся к этому семейству, включает в себя дрожжи, которые размножаются делением.

Среди микроорганизмов семейства имеются возбудители спиртового брожения и дрожжи, вызывающие порчу вин.

К рассматриваемому семейству относятся и многие другие роды дрожжей. Некоторые из них (например, *Nadsonia*) обуславливают порчу пищевых продуктов.

К аскомицетам принадлежат также наиболее типичные почвенные дрожжи рода *Lipomyces*.

Класс *Basidiomycetes* представлен дрожжами, образующими половые структуры базидиального типа (базидиоспоры). Большая часть этих дрожжей родственна головневому грибу. К ним принадлежат красные дрожжи рода *Rhodosporeidium* и розовые — рода *Sporobolomyces*, обитающие на поверхности листьев растений. Дрожжи рода *Sporobolomyces* в бесполой стадии размножаются баллистоспорами.

К классу *Deuteromycetes* относятся дрожжеподобные организмы, не образующие эндоспор. Они размножаются почкованием. Некоторые из них (например, *Torula*) вызывают спиртовое брожение. Представитель класса *Rhodotorula* образует розовый пигмент и служит причиной порчи пищевых продуктов. Имеются и болезнетворные организмы, например некоторые виды *Candida*.

В почве обычно встречается значительное количество дрожжей, основная масса которых не вызывает спиртового брожения. Дрожжей — возбудителей брожения чаще всего можно обнаружить в почвах виноградников.

ВИРУСЫ

Вирусы — группа ультрамикроскопических, облигатных внутриклеточных паразитов, способных размножаться только в клетках живых организмов (многоклеточных и одноклеточных). Они являются возбудителями заболеваний человека, животных, растений и насекомых, простейших и микроорганизмов.

Вирусы были открыты в 1892 г. Д. И. Ивановским при изучении причин гибели табака от мозаичной болезни, выражающейся в появлении пятен на листьях растений. Д. И. Ивановский обнаружил, что здоровое растение можно заразить соком больного даже после пропускания этого сока через бактериологические фильтры задерживающие всех бактерий. Таким образом, было показано, что болезнь передается организмом, который может проходить через бактериологические фильтры. Эти организмы получили название «фильтрующиеся вирусы», а затем просто «вирусы».

Вирусы обладают следующими характерными особенностями отличающими их от других микроорганизмов:

- не задерживаются бактериологическими фильтрами;
- не имеют клеточного строения;
- не способны к росту и бинарному делению;
- не имеют собственных метаболических систем;
- содержат нуклеиновые кислоты только одного типа — ДНК или РНК;

для их воспроизводства нужна только нуклеиновая кислота; используют рибосомы клетки-хозяина для образования собственных белков;

не размножаются на искусственных питательных средах и могут существовать только в организме восприимчивого хозяина.

Следовательно, вирусы — это такие организмы, для размножения которых необходимы живые клетки хозяина.

Один из наиболее хорошо изученных фитопатогенных вирусов — вирус табачной мозаики (ВТМ). В 1935 г. У. Стенли выделил и получил его в кристаллической форме. При введении в растение табака эти кристаллы вызвали симптомы мозаичной болезни. С тех пор в кристаллическом виде были получены многие другие вирусы.

Изучение вирусов в электронном микроскопе показало, что они имеют весьма разнообразную форму и довольно сложное строение. Различают следующие формы вирусов: палочковидную, при которой вирус имеет вид прямого цилиндра (вирус табачной мозаики); нитевидную, представляющую собой эластичные изгибающиеся нити (вирусы растений и бактерий); сферическую, схожую с многогранниками (вирусы животных и человека); кубовидную, имеющую вид параллелепипедов с закругленными краями (вирусы животных и человека), и, наконец, булавовидную, которая характеризуется наличием головки и отростка (вирусы бактерий и актиномицетов).

Внеклеточная форма существования вируса — вирион — состоит из нуклеиновой кислоты и белка. Нуклеиновая кислота, представленная одной молекулой ДНК или РНК, уложена в виде спирали, и окружена белковой оболочкой, называемой капсидом. Последний состоит из большого числа субъединиц белка — капсомеров, которые, в свою очередь, представлены одной или несколькими молекулами белка. Белковый капсид и нуклеиновая кислота (ДНК или РНК) носят название нуклеокапсида. По способу укладки капсомеров выделяют капсиды, построенные по спиральному или кубическому типу симметрии. В первом случае капсид имеет цилиндрическую форму, во втором — форму многогранника. К вирусам со спиральным типом симметрии относится вирус табачной мозаики (рис. 19).

Для многих вирусов бактерий (фагов) характерен так называемый сложный тип симметрии: головка фага представляет собой многогранник (кубическая симметрия), а хвостовой отросток имеет форму цилиндра (спиральная симметрия).

Величину вирусов определяют различными способами: по размеру пор фильтров, пропускающих вирусы, по скорости осаждения вирусов при центрифугировании и с помощью фотографий, полученных в электронном микроскопе. Размеры вирионов различных вирусов колеблются в довольно широких пределах — от 15—18 до 300—400 нм. В обычный световой микроскоп отдельные вирусные частицы не видны, но в пораженных вирусом клетках часто можно различить «тельца-включения», представляющие собой, как считают, гигантские колонии вирусов.

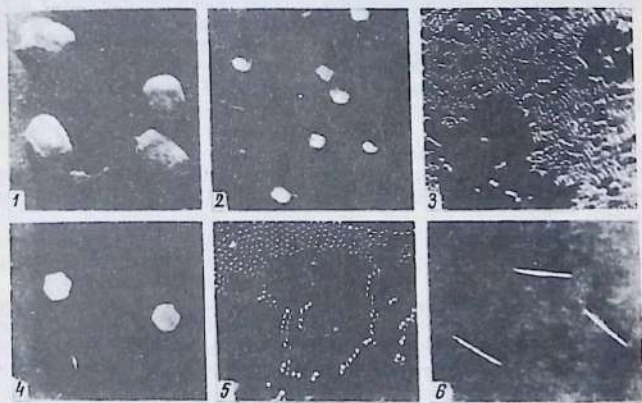


Рис. 19. Вирусы животных (1—4) и растений (5—6) ($\times 50000$):

1 — коровьей ослы; 2 — гриппа, тип А; 3 — полимиелита, тип II; 4 — вызывающий заболевание насекомых; 5 — мозаики табака; 6 — поражающий кустарники.

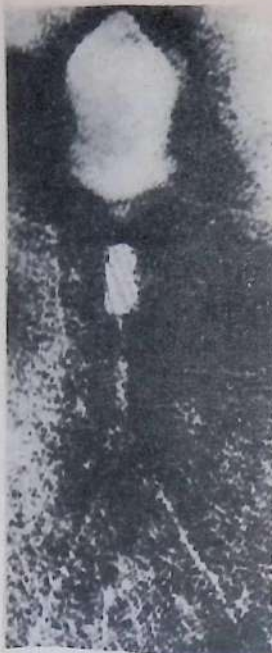


Рис. 20. Электронная фотография Т-бактериофага (по С. Бреннеру).

микроорганизмов — были открыты в 1915 г. Ф. Туортом и в 1917 г. Ф. Д. Эррелем независимо друг от друга. Фаги обычно имеют многогранную призматическую головку и отросток (рис. 20). Длина головки достигает 60—100 нм, отростка — 100—200 нм. Призматическая головка фага покрыта оболочкой из упорядоченно расположенных капсомеров. Внутри головки имеются одна или две нити ДНК.

Отросток представляет собой белковый стержень, покрытый сверху чехлом из спирально расположенных капсомеров, способных к сокращению. Обычно отросток оканчивается базальной пластинкой с 5—6 выростами. От этой пластинки отходят тонкие нити — органы адсорбции. Через отросток ДНК из головки фага переходит в клетку пораженного микроорганизма.

В настоящее время подробно изучен механизм проникновения бактериофага в бактерии. Обычно фаг адсорбируется чувствительной к нему клеткой бактерии. Затем содержимое головки фага

Вирусы паразитируют только на определенных хозяевах — растениях, животных или микроорганизмах. Эта специфичность обуславливает распределение вирусов на группы на основе типа хозяев (в последнее время привлекают во внимание и строение вирусов, чувствительность их к внешним факторам и т. д.). Выделяют группы вирусов, патогенных для растений, животных и наконец, для микроорганизмов. Вирусы бактерий и актинобактерий названы фагами — бактериофагами и актинобактериофагами. В настоящее время известны субмикроскопические агенты, поражающие грибы (микозофаги) и водоросли (например, цианофаги, паразитирующие на цианобактериях).

Вирусы не размножаются в почве, но могут долго сохраняться в ней, если условия исключают их инактивацию (вирусы мозаичной болезни пшеницы, овса и табака, кольцевой пятнистости картофеля и др.). Некоторые вирусы человека и животных, попадая в почву, остаются инфекционными в течение нескольких месяцев.

Фаги — облигатные паразиты

(ДНК) переходит в бактерию, а оболочка фага остается вне ее. После нападения фага бактерия утрачивает способность к делению, перестает двигаться. Метаболизм бактериальной клетки прерывается под влиянием ДНК фага таким образом, что она производит не вещества собственной клетки, а бактериофага, то есть в клетке идет интенсивное образование частиц бактериофага. Наконец, клеточная стенка бактерии растворяется, и из нее выходят зрелые бактериофаги. Одна клетка бактерии служит источником нескольких сотен и даже тысяч бактериофагов.

При росте бактерий на питательном агаре лизирующее действие бактериофага видно по образованию прозрачных зон, а на жидкой среде — по уменьшению мутности бактериальной суспензии.

Растворять (лизировать) бактерии способен только вирулентный фаг. Нередко, однако, бактериальная клетка инфицируется недостаточно активным фагом, который может в ней существовать, не вызывая лизиса. При размножении бактерии инфекционное начало переходит в дочерние клетки. Бактериофаги такого характера называются умеренными, а бактерии — переносчики этих фагов — лизогенными. При определенных условиях лизогенные культуры бактерий могут быть лизированы находящимся в них фагом.

Следует отметить специфичность действия этих фагов. Каждый фаг способен поражать или один вид, или группу близких видов микроорганизмов.

Исследовано большое число фагов, поражающих различных микроорганизмов. Известны фаги, лизирующие бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, актиномицеты рода *Streptomyces*; микобактерии рода *Mycobacterium* и многие другие.

Фаги встречаются в воде, почве и других природных объектах. Некоторых фагов используют в медицине для профилактики заболеваний.

Глава 4

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ФАКТОРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Сохранение специфических структурных и функциональных свойств организмов, то есть постоянство признаков на протяжении многих поколений, называют наследственностью. Изучение передачи признаков и закономерностей наследования составляет содержание одного из разделов биологической науки — генетики.

Впервые материалы для познания механизма наследственности были получены в XVII в. в связи с открытием спермы и яйца. Роль

этих клеток (гамет) в половом жизненном цикле высших организмов была постепенно изучена, и стало ясно, что свойства родителей передаются потомку посредством физического «вещества», реносимого в спермиях и яйцах. Дальнейшие наблюдения выявили, что эти генетические детерминанты (факторы) содержатся в ядрах гамет как у растений, так и у животных.

* В настоящее время установлено, что в эукариотических клетках — ядра, а в прокариотических — нуклеоиды служат местонахождения генетического материала, который представлен дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) с молекулярной массой $2,9 \cdot 10^9$ а. е. м.* и длиной молекулы 1100—1400 мкм. Молекулы ДНК бактерий имеют вид длинных двойных цепей полимеров — полинуклеотидов, состоящих из мономеров — нуклеотидов.

Каждый моонуклеотид состоит из одного из четырех азотистых оснований — аденина, гуанина, цитозина или тимина, а также одной молекулы сахара пентозы и фосфорной кислоты. Обычно молекула ДНК состоит из двух комплементарных нитей, которые образуют двойную спираль. При этом аденин одной нити находится в паре с тимином другой, а гуанин связан с цитозином. Последовательность азотистых оснований в молекуле ДНК несет информацию, необходимую для синтеза белков. Кроме того, выяснено, что ДНК в бактериальной клетке имеет форму нити, замкнутой в виде кольца. Эта нить называется бактериальной хромосомой. Хромосома имеет отдельные участки — гены (фрагменты молекулы ДНК), дискретно расположенные и несущие генетическую информацию относительно всех признаков, присущих клетке. Ген — главный фактор, обуславливающий наследственные свойства микроорганизмов. Каждый наследственный признак контролируется соответствующими генами. Совокупность генов составляет геном* микроорганизма.

Генетические исследования показали также, что конкретные признаки микроорганизмов обуславливают ферменты. Это послужило основанием для теории «один ген — один фермент», которая утверждает, что каждый ген определяет образование специфического фермента. Следовательно, каждый ген контролирует лишь одну химическую реакцию, катализируемую соответствующим ферментом. Гены, которые несут информацию о синтезируемых микроорганизмами ферментах (или структурных белках), называются структурными генами. Транскрипция структурных генов регулируется определенными регуляторными генами.

Генетический материал у микроорганизмов может находиться не только в хромосоме, но и во внехромосомных структурах — плазмидах, которые могут находиться либо автономно в цитоплазме, либо в интегрированном с хромосомой состоянии. Плазмиды построены из молекул ДНК, которые представлены в бактериальных клетках в виде закрытых и открытых кольцевидных форм.

* а.е.м. — атомная единица массы, равная $1,66057 \cdot 10^{-27}$ кг.

МЕХАНИЗМЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ИЗМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Наследственная информация передается от одного поколения микроорганизмов к другому большим числом генов, содержащихся в нуклеоиде каждой клетки. Информация, заключенная в гене, считывается и используется для синтеза специфического ферментного белка. Наличие этого ферментного белка создает химическую основу для проявления определенного признака у микроорганизма. В итоге все наследственные признаки микроорганизмов являются конечными продуктами биохимических процессов, что в равной мере применимо и к физиологическим особенностям, и к морфологическим признакам.

Один ген может контролировать наследование одного признака или определять несколько или многие признаки, затрагивающие различные части клетки микроорганизма. В других случаях несколько генов могут совместно контролировать проявление какого-либо одного признака. В бактериальной хромосоме все гены расположены в линейной последовательности. Гены определенных признаков лежат в соответствующих местах хромосомы, называемых локусами. Бактерии обычно гаплоидны: у них имеется только один набор генов.

Полный набор генов, которым обладает клетка микроорганизма, представляет собой генотип данного микроорганизма. Проявление наследуемых морфологических признаков и физиологических процессов у индивидуумов называется фенотипом (от греч. *φαίνω* — проявлять, показывать). Сходные по генотипу микроорганизмы могут существенно различаться по фенотипу, то есть по способу проявления наследственных признаков. Фенотипические различия между микроорганизмами, одинаковыми по генотипу, называются модификациями (фенотипическими адаптациями). Таким образом, взаимодействие генетических задатков с внешней средой может быть причиной возникновения различных фенотипов, даже если генотипы идентичны. Однако потенциальный размах таких фенотипических различий контролируется генотипом.

Модификации, как правило, существуют до тех пор, пока действует вызвавший их специфический фактор внешней среды, — они не передаются потомкам и не наследуются ими. Так, обработка фенолом бактерий со жгутиками препятствует развитию жгутиков у этих организмов. Однако у потомства обработанных фенолом безжгутиковых бактерий, выращенного на среде без фенола, образуются нормальные жгутики.

Установлено, что практически все морфологические и физиологические признаки микроорганизмов прямо или косвенно контролируются генетической информацией, заключенной в ДНК.

Информация, которую несет ДНК не является чем-то абсолютно стабильным и неизменным. Если бы информация, передаваемая от одного поколения к другому, не была способна к изменению, то

диапазон реакций близкородственных организмов на факторы внешней среды был бы также постоянным и любое внезапное изменение, оказавшееся вредным для микроорганизмов с заданным генотипом, могло бы привести к исчезновению вида. Следовательно, информация, передающаяся от поколения к поколению, является абсолютно стабильной, что оказывается полезным для выживания вида.

Изменения генотипа, называемые мутациями (от лат. mutare — изменять), происходят спонтанно, то есть случайно. Такие мутации вызывают резкие изменения единичных генов, ответственных за содержащуюся в клетке информацию. Как правило, редкие ошибки репликации ДНК не сопровождаются массивными изменениями информации, вовлекающими большое число различных признаков. Однако у организмов развились другие механизмы, способствующие возникновению в потомстве резко измененной наследственности. Эти механизмы заключаются в обмене генов, принадлежащих близкородственным, но генотипически различным организмам. При генетической рекомбинации в хромосоме одной микробной клетки, служащей реципиентом*, встраиваются фрагменты хромосомы микроорганизма, являющегося донором.

У микроорганизмов способность к рекомбинации генов может быть представлена в виде следующей схемы:

донор	а б в г д е ж з	
реципиент	А Б В Г Д Е Ж З	рекомбинант АБвгДЕЖЗ

В настоящее время у микроорганизмов известны три типа передачи признаков от донора к реципиенту: трансформация, конъюгация и трансдукция.

МУТАЦИИ

Мутации — это внезапные, скачкообразные изменения гена. Процесс мутирования генов приводит к таким изменениям, которые передаются по наследству и сохраняются даже тогда, когда исчезавший их фактор перестает действовать. Мутация происходит, если в ДНК химически изменяется или выпадает нуклеотид, также если включается лишний нуклеотид. При этом нарушается последовательность нуклеотидов в гене, что обуславливает появление измененной информации, а следовательно, измененного белка и соответственно измененного признака организма. Выделяют генные и хромосомные мутации, различающиеся по числу мутировавших генов и характеру изменений в первичной структуре ДНК. Генные мутации обычно затрагивают только один ген, а хромосомные распространяются на несколько генов. Генные мутации, при которых происходит химическое изменение лишь одного нуклеотида, называются точечными.

*Реципиент — клетка, воспринимающая генетический материал.

**Донор — клетка, передающая генетический материал.

ковые мутации разбивают на несколько классов, которые различаются по характеру изменений в ДНК, обусловленных мутагенным фактором. При мутациях, называемых транзигциями, пурин в одной из цепей ДНК замещается другим пурином, а пиримидин в комплементарной цепи — другим пиримидином. Изменения, при которых происходит замена пурина пиримидином, именуют трансверсиями. К точковым мутациям относится также вставка лишнего нуклеотида. Такие мутации составляют группу так называемых мутаций со сдвигом рамки, при которых происходит нарушение нормальной последовательности нуклеотидов в ДНК.

Хромосомные мутации связаны с крупными перестройками в отдельных фрагментах ДНК. Они проявляются в результате выпадения меньшего или большего числа нуклеотидов (делеция), или поворота участка ДНК на 180° (инверсия), или повторения какого-нибудь фрагмента ДНК (дубликация).

Особой формой изменчивости, в основе которой лежат мутации, является диссоциация бактерий. Диссоциация (расщепление) характеризуется образованием двух типов колоний при расसेве чистой культуры бактерий на твердой питательной среде. Первый тип — *R*-колонии (англ. rough — неровный), имеющие неровные края и шероховатую поверхность, и второй тип — *S*-колонии (англ. smooth — гладкий) круглой формы с гладкой поверхностью.

В процессе диссоциации изменяется не только морфология колоний, но и физиолого-биохимические и другие свойства бактерий.

Мутации, вызванные искусственно, с помощью химических или физических агентов, которые поддаются контролю, называются индуцированными мутациями. Впервые индуцированные мутанты дрожжей были получены с помощью рентгеновских лучей в 1925 г. Г. А. Надсоном и Г. С. Филипповым.

В тех случаях, когда фактор, вызвавший мутацию, неизвестен, мутация считается спонтанной. Вызывать мутации могут различные мутагены: а) химические вещества: алкилирующие соединения (этил- и метилметансульфонат, диметил- и диэтилсульфат), этиленимин, азотные и серные аналоги иприта, аналоги оснований, соединения мышьяка и хрома, уретан, креозот, деготь, органические перекиси, минеральные масла, половые гормоны, растительные ауксины, ростовые вещества бактерий и растений и другие; б) радиация — рентгеновские, ультрафиолетовые излучения, γ -лучи и т. д. Механизм действия мутагенов различен.

До последнего времени геном бактерий рассматривали в определенной степени как пассивную мишень, подвергаемую повреждающему действию мутагенных факторов. Сейчас в исследованиях с бактериями выявлено, что их клетки обладают специальными системами, которые восстанавливают повреждения ДНК. Восстановление (репарацию) поврежденной ДНК осуществляют ферменты, которые находятся под контролем специальных генов. Клетки бактерий могут репарировать повреждения ДНК, вызван-

ные как излучениями, так и химическими мутагенными веществами.

Единичный мутант у бактерий выявляют путем культивирования популяций в обстановке, благоприятствующей его росту. В практических условиях отбор измененного типа проводят путем посева культуры на агаровую среду, где возможен рост только мутанта. Можно также подобрать жидкую избирательную среду, на которой мутант становится преобладающей частью популяции. В некоторых случаях мутации встречаются в достаточно большом количестве, и их возможно обнаружить без использования отбора.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОМБИНАЦИИ

Генетические рекомбинации у эукариот — это образование индивидуумов с новым сочетанием признаков в результате полового процесса. Новая особь получает несколько генов от одного родителя и несколько от другого, генетически отличающегося родителя. Благодаря процессу рекомбинации увеличивается число наследственных изменений, на которые может воздействовать отбор.

У прокариот генетическая рекомбинация относится к так называемым парасексуальным процессам. У этих организмов известны три процесса, посредством которых генетический материал от двух различных родителей может рекомбинироваться. Это трансформация, конъюгация и трансдукция. Однако ни в одном из этих процессов не происходит истинного слияния клеток или полного слияния нуклеоидов. Лишь часть генетического материала клетки-донора передается клетке-реципиенту. Реципиент таким образом, становится диплоидным, потому что часть генетического материала дополняется генетическим материалом донора.

В такой неполной зиготе, называемой мерозиготой, сформированной в результате переноса генов, генетический материал реципиентной клетки называется эндогенным, а генетический фрагмент, переданный из донора, — экзогенным. Обычно экзогенная и эндогенная части соединяются и обмениваются сегментами немедленно после переноса.

Трансформация — это процесс переноса генов, при котором часть ДНК клетки-донора, полученная либо эстрагированием, либо в естественном лизисе клеток, может проникать в родственную (того же вида или близкородственных видов) бактериальную клетку-реципиент. В результате происходит включение в ДНК реципиента фрагментов хромосомы ДНК донора, что обуславливает изменение признаков бактерии-реципиента.

Процесс трансформации можно подразделить на несколько стадий: 1 — контакт ДНК с поверхностью клетки; 2 — проникновение ДНК в клетку; 3 — соединение трансформирующей ДНК соответствующим фрагментом хромосомы реципиента. Дальнейший процесс связан с рекомбинацией части экзогенной молекулы трансформирующей ДНК с реципиентной эндогенной хромосомой.

ДНК. Последняя стадия — репликация включенной в хромосому новой информации.

В лабораторных условиях трансформация осуществляется следующим образом. ДНК определенного штамма бактерий извлекают, очищают и смешивают с клетками бактерий другого штамма, отличающегося от первого одним или несколькими наследственными свойствами. Культуру подопытного микроорганизма оставляют расти. Среди потомства можно обнаружить небольшое количество клеток с некоторыми свойствами штамма, из которого была извлечена ДНК.

Очень редко бывает, что единичная бактериальная клетка приобретает в результате трансформации более чем одно новое свойство. Передача через ДНК большего числа признаков наблюдается лишь в том случае, если культура микроба-донора генетически близка к клеткам микроба-реципиента.

С помощью трансформирующей ДНК могут передаваться такие признаки, как капсулообразование, синтез необходимых клетке веществ, ферментативная активность, устойчивость к ядам, антибиотикам и другим лекарственным веществам.

Трансформацию наблюдали у многих бактерий, в частности у представителей родов *Bacillus*, *Rhizobium*, *Streptococcus* и др.

Конъюгация — процесс, при котором сблизившиеся родительские клетки соединяются обычно с помощью конъюгационных мостиков, через последние происходит обмен генетическим материалом. Конъюгацию исследовали у различных бактерий (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas*), в частности она хорошо изучена у *Escherichia coli*.

Возможность клетки стать донором определяется специфическим половым фактором F (от англ. fertility — плодovitость), который при конъюгации переносится из одной бактериальной клетки в другую. Эти клетки были названы F⁺-клетками. Клетки бактерий, не имеющие F-фактора, являются реципиентами генетического материала и обозначаются F⁻. Половой фактор F относится к числу конъюгативных плазмид и представляет собой циркулярно замкнутую молекулу ДНК с молекулярной массой 64×10^6 а.е.м. F-плазида обуславливает образование на поверхности клетки одной или двух так называемых половых фимбрий, или F-pili, способствующих соединению клеток-доноров с клетками-реципиентами, а также независимую от хромосомы репликацию собственной ДНК и образование продуктов, которые обеспечивают перенос генетического материала как самой F-плазмиды, так и хромосомы клетки. F-плазида располагается в цитоплазме автономно, вне бактериальной хромосомы. Однако она обладает способностью включаться (интегрировать) в определенные места бактериальной хромосомы и становиться ее частью.

В результате интеграции F-плазмиды в состав бактериальной хромосомы образуется так называемый Hfr-штамм (High frequency of recombination — высокая частота рекомбинации). Когда происходит скрещивание Hfr-штамма с F⁻-бактериями, то, как

ные как излучениями, так и химическими мутагенными веществами.

Единичный мутант у бактерий выявляют путем культивирования популяций в обстановке, благоприятствующей его росту. В практических условиях отбор измененного типа проводят путем посева культуры на агаровую среду, где возможен рост только мутанта. Можно также подобрать жидкую избирательную среду, на которой мутант становится преобладающей частью популяции. В некоторых случаях мутации встречаются в достаточно большом количестве, и их возможно обнаружить без использования отбора.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОМБИНАЦИИ

Генетические рекомбинации у эукариот — это образование индивидуумов с новым сочетанием признаков в результате полового процесса. Новая особь получает несколько генов от одного родителя и несколько от другого, генетически отличающегося родителя. Благодаря процессу рекомбинации увеличивается число наследственных изменений, на которые может воздействовать отбор.

У прокариот генетическая рекомбинация относится к называемым парасексуальным процессам. У этих организмов известны три процесса, посредством которых генетический материал от двух различных родителей может рекомбинироваться. Это трансформация, конъюгация и трансдукция. Однако ни в одном из этих процессов не происходит истинного слияния клеток или полного слияния нуклеоидов. Лишь часть генетического материала клетки-донора передается клетке-реципиенту. Реципиент таким образом, становится диплоидным, потому что часть генетического материала дополняется генетическим материалом донора.

В такой неполной зиготе, называемой мерозиготой, сформированной в результате переноса генов, генетический материал реципиентной клетки называется эндогенным, а генетический фрагмент, переданный из донора, — экзогенным. Обычно экзогенная и эндогенная части соединяются и обмениваются сегментами немедленно после переноса.

Трансформация — это процесс переноса генов, при котором часть ДНК клетки-донора, полученная либо эстрагированием, либо естественном лизисе клеток, может проникать в родственную (того же вида или близкородственных видов) бактериальную клетку-реципиент. В результате происходит включение в ДНК реципиента фрагментов хромосомы ДНК донора, что обуславливает изменение признаков бактерии-реципиента.

Процесс трансформации можно подразделить на несколько стадий: 1 — контакт ДНК с поверхностью клетки; 2 — проникновение ДНК в клетку; 3 — соединение трансформирующей ДНК с соответствующим фрагментом хромосомы реципиента. Дальнейший процесс связан с рекомбинацией части экзогенной молекулы трансформирующей ДНК с реципиентной эндогенной хромосомой.

ДНК. Последняя стадия — репликация включенной в хромосому новой информации.

В лабораторных условиях трансформация осуществляется следующим образом. ДНК определенного штамма бактерий извлекают, очищают и смешивают с клетками бактерий другого штамма, отличающегося от первого одним или несколькими наследственными свойствами. Культуру подопытного микроорганизма оставляют расти. Среди потомства можно обнаружить небольшое количество клеток с некоторыми свойствами штамма, из которого была извлечена ДНК.

Очень редко бывает, что единичная бактериальная клетка приобретает в результате трансформации более чем одно новое свойство. Передача через ДНК большего числа признаков наблюдается лишь в том случае, если культура микроба-донора генетически близка к клеткам микроба-реципиента.

С помощью трансформирующей ДНК могут передаваться такие признаки, как капсулообразование, синтез необходимых клетке веществ, ферментативная активность, устойчивость к ядам, антибиотикам и другим лекарственным веществам.

Трансформацию наблюдали у многих бактерий, в частности у представителей родов *Bacillus*, *Rhizobium*, *Streptococcus* и др.

Конъюгация — процесс, при котором сблизившиеся родительские клетки соединяются обычно с помощью конъюгационных мостиков, через последние происходит обмен генетическим материалом. Конъюгацию исследовали у различных бактерий (*Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas*), в частности она хорошо изучена у *Escherichia coli*.

Возможность клетки стать донором определяется специфическим половым фактором F (от англ. fertility — плодovitость), который при конъюгации переносится из одной бактериальной клетки в другую. Эти клетки были названы F⁺-клетками. Клетки бактерий, не имеющие F-фактора, являются реципиентами генетического материала и обозначаются F⁻. Половой фактор F относится к числу конъюгативных плазмид и представляет собой циркулярно замкнутую молекулу ДНК с молекулярной массой 64×10^6 а.е.м. F-плазида обуславливает образование на поверхности клетки одной или двух так называемых половых фимбрий, или F-pili, способствующих соединению клеток-доноров с клетками-реципиентами, а также независимую от хромосомы репликацию собственной ДНК и образование продуктов, которые обеспечивают перенос генетического материала как самой F-плазмиды, так и хромосомы клетки. F-плазида располагается в цитоплазме автономно, вне бактериальной хромосомы. Однако она обладает способностью включаться (интегрировать) в определенные места бактериальной хромосомы и становиться ее частью.

В результате интеграции F-плазмиды в состав бактериальной хромосомы образуется так называемый Hfr-штамм (High frequency of recombination — высокая частота рекомбинации). Когда происходит скрещивание Hfr-штамма с F⁻-бактериями, то, как

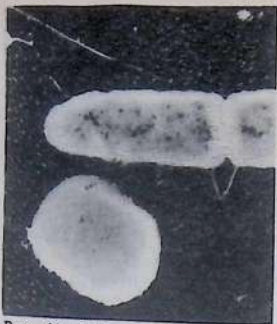


Рис. 21. Электронно-микроскопическая картина конъюгации *Escherichia coli*. Продолговатая клетка — F^+ ; круглая — F^- (по Андерсон).

правило, F-фактор не передается гены хромосомы бактерий. В начале процесса конъюгации клетки-доноры F^+ и реципиенты (благодаря наличию пилей *F-pili*). Впоследствии между клетками образуется конъюгационный мостик и через него из клетки-донора в клетку-реципиент, передается генетический материал или F-плазмиды, хромосомы. Обычно при конъюгации передается только одна цепь ДНК-донора, а вторая цепь (плементарная) достраивается в клетке реципиента. Передача, по правилу, начинается с одного

фрагмента хромосомы и продолжается с последующим переносом других участков ее (рис. 21).

Переносу генетического материала можно препятствовать в любое время, разделяя конъюгирующие пары с помощью сильного встряхивания суспензии микроорганизмов, находящихся в жидкой среде. В этом случае только некоторые свойства мужских клеток переносятся в женскую клетку и могут проявиться в потомстве. Рано или поздно перенос прекращается в большинстве конъюгирующих пар и тогда, когда их искусственно не разделяют. Это происходит потому, что конъюгационный мостик непрочен и легко разрушается, не влияя на жизнеспособность клеток.

Таким образом, в результате конъюгации реципиентная клетка F^- превращается в мерозиготу, содержащую из-за самопроизвольного прерывания переноса генетического материала только часть хромосомы-донора F^+ в дополнение к собственной хромосоме. В результате процесса кроссинговера (перекрест хромосом, при котором гены меняются местами), наблюдающегося и у других организмов, образуется новая комбинация генетического материала. В зависимости от места расположения подвергающегося мутации генетического материала в потомстве могут возникнуть рекомбинанты разного типа.

Трансдукция — процесс переноса генетического материала от одной бактериальной клетки к другой посредством бактериофага. Другими словами, фаг при этом играет как бы роль гамет, перенося в клетку-реципиент фрагмент ДНК клетки-донора. Трансдукция происходит при участии умеренных фагов.

Известны три главных типа трансдукции: общая (неспецифическая), локализованная (специфическая) и abortивная. При специфической трансдукции происходит передача различных фрагментов ДНК от бактерий-доноров к бактериям

реципиентам с помощью умеренных трансдуцирующих фагов. При этом принесенный фагом фрагмент ДНК донора способен включаться в гомологическую область ДНК клетки-реципиента путем рекомбинации.

Специфическая трансдукция характеризуется способностью фага переносить от бактерий-доноров к бактериям-реципиентам только определенные гены. Это обусловлено тем, что образование трансдуцирующего фага происходит в результате соединения его ДНК со строго определенными бактериальными генами, расположенными на хромосоме клетки-донора. Считают, что каждая частица фага переносит или только один бактериальный ген, или несколько близлежащих генов.

При абортивной трансдукции принесенный фагом фрагмент хромосомы клетки-донора не включается в хромосому клетки-реципиента, а располагается в ее цитоплазме автономно и в таком виде может функционировать. В процессе деления клетки-реципиента трансдуцированный фрагмент ДНК-донора может передаваться только одной из двух дочерних клеток, то есть наследуется однолинейно, в связи с чем утрачивается в потомстве.

При трансдукции возможен перенос генов, контролирующих питательные особенности бактерий, их устойчивость к лекарственным веществам, ферментативную активность, двигательный аппарат (жгутики) и другие свойства.

Перенос признаков с помощью процесса трансдукции обнаружен у представителей родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Escherichia* и др.

ПЛАЗМИДЫ БАКТЕРИЙ

Плазмиды — это внехромосомные наследственные детерминанты, то есть независимые от хромосомы двухцепочечные кольцевидные молекулы ДНК различной молекулярной массы, обладающие свойствами репликона — способностью к независимой репликации. Плазмиды не являются обязательным генетическим материалом бактерий, необходимым для проявления их жизнедеятельности. В то же время плазмиды могут определять весьма важные свойства бактерий, например способность к передаче генетического материала от донорских F^+ -клеток к реципиентным F^- -клеткам при конъюгации (F -плазида); устойчивость к антибиотикам, сульфаниламидным препаратам (R -плазмиды); способность к синтезу токсинов (Ent -плазида); образование фимбрий, которыми энтеробактерии прикрепляются к кишечному эпителию и др.

Все известные плазмиды разделяют на конъюгативные и неконъюгативные. Конъюгативные плазмиды переносят собственную ДНК от клетки-донора в клетку-реципиент при конъюгации. Неконъюгативные плазмиды не обладают способностью к конъюгационному переносу из одной клетки в другую. Молекулярная масса конъюгативных плазмид составляет от 26 до $75 \cdot 10^6$, а неконъюгативных — не более $10 \cdot 10^6$ а. е. м. Некоторые

плазмиды, например F-плазида, обладают способностью существовать в клетках бактерий в двух состояниях: в физически независимом от хромосомы и в интегрированном с хромосомой. Другие плазмиды также могут интегрироваться в хромосому бактерий, как правило, только в определенных условиях. В случае конъюгативная плазида интегрирована в хромосому бактерий формируются Hfr-клетки, которые способны передавать генетический материал хромосомы при конъюгации с клеткой-реципиентом.

Обычно родственные плазмиды не могут сосуществовать в одной бактериальной клетке. Это явление, получившее название несовместимости, стало одним из главных признаков классификации плазмид.

При делении бактериальной клетки плазмиды, как правило, равномерно распределяются между дочерними клетками. Наследование плазмид в процессе жизненного цикла популяции бактерий обуславливается полуконсервативной репликацией плазмидной ДНК. Репликация плазмидной ДНК тесно связана с системой репликации и деления клеток бактерий, поэтому плазмиду рассматривают как автономный репликон в структурном, но не функциональном отношении.

Установлено, что плазмиды широко распространены у бактерий. Их считают факторами, увеличивающими жизнеспособность бактерий в организме хозяина и в окружающей среде.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДОСТИЖЕНИЙ ГЕНЕТИКИ МИКРООРГАНИЗМОВ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В МИКРОБИОЛОГИИ

Развитие генетики, открывшей методы получения наследственно измененных форм микроорганизмов, расширило возможности использования микроорганизмов в сельскохозяйственном и промышленном производстве, а также в медицине. Основной из этих методов — это индуцированное получение мутантов воздействием различными мутагенами (излучениями и химическими веществами) на дикие, существующие в природе культуры микроорганизмов. Таким методом удается создать мутанты, которые дают в десятки и сотни раз большее количество ценных продуктов (антибиотиков, ферментов, витаминов, аминокислот и т. д.) по сравнению с дикими формами микроорганизмов.

Процесс получения высокопродуктивных штаммов микроорганизмов состоит из многих этапов. На культуру микроорганизмов воздействуют различными мутагенными факторами с последующим отбором наиболее продуктивного штамма. Этот мутантный штамм может подвергнуться дальнейшему воздействию мутагенов и дальнейшему отбору еще более продуктивных мутантов. Часто из тысячи бесполезных мутантов отбирают только один высокопродуктивный штамм. В последние годы методом радиационного химического мутагенеза микроорганизмов получено большое число

промышленных штаммов микроорганизмов — продуцентов антибиотиков, ферментов, витаминов, ценных пищевых аминокислот, ростовых и других веществ.

Особенно широкие перспективы переделки наследственной природы организмов сулит развитие генной, или генетической, инженерии. Это раздел молекулярной генетики, который разрабатывает методы создания новых генетических структур, несущих заданную информацию, и способов их переноса в клетки прокариот и эукариот.

Полученные методом генной инженерии новые генетические молекулы представляют собой рекомбинантные ДНК, включающие два компонента — вектор (переносчик) и клонируемую «чужеродную» ДНК. Так как переносчик должен обладать свойствами репликона и обуславливать репликацию вновь созданной рекомбинантной ДНК, то в качестве вектора обычно используют такие репликоны, как плазмиды, умеренные фаги и вирусы животных. Все эти переносчики имеют циркулярно замкнутую структуру ДНК. Клонированная ДНК — это фрагмент ДНК, который несет необходимый ген (или гены), контролирующий образование нужного вещества.

Имеются различные приемы получения рекомбинантных молекул ДНК. Наиболее простой из них сводится к обработке изолированных молекул ДНК-вектора и ДНК, несущей необходимый ген, ферментами рестриктазами (эндонуклеазы рестрикции), расщепляющими взятые молекулы ДНК в строго определенном месте с образованием односторонних комплементарных друг другу концов, так называемых липких концов. Это первый этап получения рекомбинантных ДНК — «разрезание» молекул ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции. Второй этап заключается в обработке полученных линейных молекул ДНК ферментом полинуклеотидлигазой, которая «сшивает» две разные молекулы в одну рекомбинантную ДНК. На третьем этапе рекомбинантные молекулы вводят в клетки тех или иных бактерий методом трансформации. На завершающем, четвертом, этапе проводят клонирование трансформированных клеток.

В настоящее время методом генной инженерии получены рекомбинантные молекулы ДНК, несущие информацию для образования таких важных веществ, как интерферон, инсулин, гормон роста человека и другие в клетках кишечной палочки (*E. coli*). По-видимому, методом генной инженерии можно будет создать и такие бактерии, которые, потеряв свою болезнетворность, помогут выработать иммунитет против многих инфекционных болезней животных и человека. В промышленности, благодаря использованию генной инженерии, появятся высокопродуктивные микроорганизмы, создающие белки, ферменты, витамины, антибиотики, ростовые вещества и другие нужные продукты.

Будут получены новые сорта растений и породы животных, устойчивые к заболеваниям и наделенные особенно выгодными для сельского хозяйства свойствами.

Возможно, методом генной инженерии будут созданы растения, обладающие способностью к связыванию молекулярного азота атмосферы. Такие растения, вероятно, можно будет получить после введения в их геном генов от микроорганизмов, фиксирующих азот из воздуха.

Нет сомнения в том, что в связи с разработкой и совершенствованием методов генной инженерии, показавших возможность передачи не только естественных генов живых организмов, но и искусственно синтезированных, открываются блестящие перспективы для научно-технического прогресса не только в медицине и промышленности, но и в сельскохозяйственном производстве.

Глава 5

МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Условия внешней среды имеют большое значение для жизни микроорганизмов. Температура и влажность, наличие кислорода, освещенность и другие факторы среды влияют на рост микроорганизмов и распространение их в природе.

Влажность. Микроорганизмы могут жить и размножаться только в присутствии свободной воды, находящейся в среде главным образом в капельно-жидком виде. Растворенные в такой воде питательные вещества могут поступать в микробную клетку.

Большое влияние на рост микроорганизмов оказывает концентрация растворенных в воде соединений. Если их содержится мало, раствор называется гипотоническим. При оптимальной концентрации вещества создаются условия для лучшего роста микроорганизма. Увеличение концентрации вещества приводит к задержке роста организма в связи с повышением осмотического давления в окружающей среде. Раствор с высоким осмотическим давлением называется гипертоническим.

В растворах, имеющих более высокое осмотическое давление, чем внутри микробной клетки, последние не могут жить. Это объясняется тем, что вода выходит из клетки наружу, клетка обезживается, и протопласт сжимается. Данное явление носит название плазмолиза. В среде с очень низким осмотическим давлением вода будет поступать внутрь клетки, оболочка которой может лопнуть. При этом наблюдается плазмолиз.

Осмотическое давление клетки у грамположительных бактерий достигает $3 \cdot 10^6$ Па, у грамотрицательных — $4 \cdot 10^5$ — $8 \cdot 10^5$ Па. Следовательно, в растворах с высоким осмотическим давлением (около $9 \cdot 10^6$ — 10^7 Па (15—20%-ный NaCl) — создаются условия, невозможные для роста бактерий и ряда других организмов. Высокое осмотическое давление среды не препятствует росту некоторых микроорганизмов, называемых осмофильными.

есть «любящими» высокое осмотическое давление. Так, многие плесени из родов *Aspergillus* и *Penicillium* могут расти на едва увлажненных субстратах. Осмотическое давление в их клетке достигает $2 \cdot 10^5$ — $2,5 \cdot 10^5$ Па. Мед иногда разлагается дрожжами, которые растут при содержании сахара 70—80%. Некоторые из этих осмофильных дрожжей развиваются только при высокой концентрации сахара, но не выносят высокой концентрации солей.

Имеются организмы, которые могут жить лишь при очень высоких концентрациях солей (NaCl). Это галофильные, то есть «любящие» высокую концентрацию солей, организмы (лат. halo — соль).

Они представлены двумя основными типами: умеренными галофилами, которые развиваются при содержании соли 1—2%, хорошо растут в среде с 10% соли, но могут выносить даже 20%-ное ее содержание (большинство бактерий не переносят концентрации NaCl выше 5%) и экстремально галофильными бактериями родов *Halobacterium* и *Halococcus*, которые требуют около 12—15% солей и способны хорошо расти в насыщенном растворе NaCl — при 32%-ной концентрации соли.

Действие высоких концентраций солей на микроорганизмы может быть обусловлено как самим растворенным веществом, так и его влиянием на активность воды (a_w). Любое вещество, которое содержится в растворителе, притягивает молекулы этого растворителя и, следовательно, снижает их подвижность. Активность воды определяют по уравнению:

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{n_2}{n_1 - n_2},$$

где P и P_0 — соответственно давление пара раствора и растворителя (чистой воды); n_1 и n_2 — соответственно число молей растворителя и растворенного вещества.

Величины a_w , лимитирующие рост различных бактерий, колеблются в пределах от 0,75 до 0,96. Считают, что не всегда можно заранее сказать, будет ли растворенное вещество оказывать на бактерии специфическое действие или влиять на доступность воды.

Неспособность микроорганизмов расти на средах с высокими концентрациями солей (например, NaCl) или сахаров успешно используют в пищевой промышленности для консервирования различных продуктов.

Большое внимание уделяют установлению значения воды для микроорганизмов в засушливых условиях и роли воды в жизнедеятельности микроорганизмов в природе. обстоятельные исследования влияния недостатка воды (водного стресса) или высушивания на живые организмы были проведены на грибах, бактериях, водорослях и др. Установлено, что большинство микроорганизмов переносят высушивание хорошо. Наиболее устойчивые к обезвоживанию компоненты почвенного микробоценоза — грибы. Способность грибов переносить водный стресс и функционировать при низком

Возможно, методом генной инженерии будут созданы растения, обладающие способностью к связыванию молекулярного азота атмосферы. Такие растения, вероятно, можно будет получить при введении в их геном генов от микроорганизмов, фиксирующих азот из воздуха.

Нет сомнения в том, что в связи с разработкой и совершенствованием методов генной инженерии, показавших возможность передачи не только естественных генов живых организмов, но и искусственно синтезированных, открываются блестящие перспективы для научно-технического прогресса не только в медицине и промышленности, но и в сельскохозяйственном производстве.

Глава 5

МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Условия внешней среды имеют большое значение для жизни микроорганизмов. Температура и влажность, наличие кислорода, освещенность и другие факторы среды влияют на рост микроорганизмов и распространение их в природе.

Влажность. Микроорганизмы могут жить и размножаться только в присутствии свободной воды, находящейся в среде главным образом в капельно-жидком виде. Растворенные в такой воде питательные вещества могут поступать в микробную клетку.

Большое влияние на рост микроорганизмов оказывает концентрация растворенных в воде соединений. Если их содержится мало, раствор называется гипотоническим. При оптимальной концентрации вещества создаются условия для лучшего роста микроорганизма. Увеличение концентрации вещества приводит к задержке роста организма в связи с повышенным осмотическим давлением в окружающей среде. Раствор с высоким осмотическим давлением называется гипертоническим.

В растворах, имеющих более высокое осмотическое давление, чем внутри микробной клетки, последние не могут жить. Это объясняется тем, что вода выходит из клетки наружу, клетка обезживается, и протопласт сжимается. Данное явление по названию плазмолита. В среде с очень низким осмотическим давлением вода будет поступать внутрь клетки, оболочка которой может лопнуть. При этом наблюдается плазмолиз.

Осмотическое давление клетки у грамположительных бактерий достигает $3 \cdot 10^6$ Па, у грамотрицательных — $4 \cdot 10^5$ — $8 \cdot 10^5$ Па. Следовательно, в растворах с высоким осмотическим давлением около $9 \cdot 10^6$ — 10^7 Па (15—20%-ный NaCl) — создаются условия невозможные для роста бактерий и ряда других организмов. Высокое осмотическое давление среды не препятствует росту некоторых микроорганизмов, называемых осмофильными.

водном потенциале* имеет большое значение для поддержания непрерывности круговорота питательных веществ в природе.

Устойчивость к обезвоживанию у разных бактерий весьма различна. Например, численность жизнеспособных клеток *Pseudomonas*, внесенных в воздушно-сухую почву, после их выдерживания в течение месяца, снижается в 100 раз. В то же время *Azotobacter* остается жизнеспособным в почве даже через десятки лет ее хранения в воздушно-сухом состоянии. Интересны исследования, показавшие, что водный стресс приводит к возрастанию процентного содержания актиномицетов среди всех групп микроорганизмов, обнаруживаемых в почве. Это связано с большей выживаемостью актиномицетов в почве по сравнению с грибами и бактериями. Следовательно, выживаемость микроорганизмов в сухой почве существенно возрастает, если определенный организм формирует те или иные устойчивые формы. Так, вегетативные клетки *Pseudomonas* обладают довольно высокой чувствительностью к водному стрессу, в то время как цисты азотобактера и споры актиномицетов значительно более устойчивы.

Снижение водного потенциала обуславливает подавление в почве таких важных процессов, как нитрификация и симбиотическая азотфиксация. Поэтому при оценке влияния засухи на сельскохозяйственные растения не следует недооценивать и воздействие водного стресса на почвенные микроорганизмы и на процессы, ими осуществляемые.

При дефиците влаги микроорганизмы не размножаются. В целом ряде высушенных пищевых продуктов (рыба, мясо, фрукты и др.) хотя и имеется много живых микроорганизмов, но развиваться они не могут. При увлажнении высушенных продуктов начинается интенсивное размножение микроорганизмов, что часто приводит к порче продуктов.

Высушивание микроорганизмов в глубоком вакууме обеспечивает сохранение их в живом состоянии в течение многих лет, так как в клетках таких высушенных организмов биологические процессы резко замедлены. В настоящее время метод быстрого высушивания в условиях вакуума (в средах специального состава) широко используют для сохранения производственных и музейных культур микроорганизмов. Существует метод получения сухих культур микроорганизмов путем высушивания из замороженного состояния (-76°C) под высоким вакуумом. Этот процесс называется лиофилизацией. Споры не только бактерий, но и других микроорганизмов хорошо переносят высушивание.

Влияние воды на развитие микроорганизмов связано с ее поверхностным натяжением. Последнее служит показателем силы

* Водный потенциал — количество термодинамической работы, которая должна быть затрачена организмом для извлечения воды. Потенциал воды обычных растворов по отношению к чистой воде имеют отрицательные потенциалы, выражаемые в отрицательных барах.

го поля поверхности воды. Поверхностное натяжение воды при 20°C равно $7,3 \cdot 10^{-2}$ Н/м.

Существует очень мало веществ, способных повышать поверхностное натяжение, но много — обуславливающих его понижение. Это так называемые поверхностно-активные вещества. Они снижают поверхностное натяжение благодаря тому, что не образуют с водой гомогенных растворов, а находятся на ее поверхности в значительно более высокой концентрации, чем в массе воды. Снижение поверхностного натяжения зависит непосредственно от соотношения концентрации этого вещества на поверхности и в массе воды.

Мыльные растворы или другие вещества, понижающие поверхностное натяжение, например алифатические спирты с длинной цепью или желчные кислоты, токсичны для микроорганизмов.

Снижение поверхностного натяжения питательных сред приводит к изменениям физиологических процессов в клетке микроорганизмов, что проявляется в изменении клеточной проницаемости (разрушение осмотического барьера), остановке процессов размножения и роста микроорганизмов.

На средах с низким поверхностным натяжением размножение некоторых видов бактерий приостанавливается, при этом образуются очень крупные деформированные клетки, задерживается или даже полностью прекращается образование спор. Ряд бактерий вообще не растет на средах с низким поверхностным натяжением.

Многие поверхностно-активные вещества добавляют к дезинфицирующим средствам для повышения их смачивающей способности. Например, смесь мыла (поверхностно-активное вещество), фенола и крезола (обладают бактерицидными свойствами) — весьма эффективное дезинфицирующее средство.

Температура. Микроорганизмы лишены механизмов, регулирующих температуру, поэтому их существование определяется температурой окружающей среды. Как и для всех живых организмов, для них имеется свой температурный диапазон, ограниченный минимальными и максимальными температурами.

Микроорганизмы становятся недеятельными, если температура окружающей среды опускается несколько ниже 0°C, большинство их не может жить при температуре выше 40°C, в то же время некоторые размножаются при 70—75 и даже 105°C.

По отношению к температуре микроорганизмы могут быть разделены на группы, приведенные в таблице 1.

Психрофилы (от греч. психрос — холод) — «холодолюбивые» организмы. К психрофилам относятся некоторые почвенные и морские бактерии, а также болезнетворные для рыб и водных растений микроорганизмы.

Многие психрофилы хорошо размножаются при температурах, благоприятных для мезофилов. Однако они могут расти, хотя и медленно, при 0°C и ниже, их называют факультативными психрофилами.

1. Распределение микроорганизмов по их отношению к температуре

Группа	Температура, °C		
	минимум	оптимум	максимум
Психрофилы облигатные	0 и ниже	5—15	20—
» факультативные	0	25—30	30—
Мезофилы	10—15	30—45	35—
Термофилы	40—45	55—75	60—

Другие микроорганизмы из этой группы приспособились к существованию при более низких температурах (около 0°C и ниже), при 25°C и выше они погибают. Температурный оптимум у них лежит между 5 и 15°C. Подобные микроорганизмы относятся к облигатным психрофилам.

Выделяют и так называемых психротрофов, которые могут расти при 5°C или ниже независимо от максимальных или оптимальных для них температур роста.

Среди психрофилов имеются бактерии и грибы. Психрофилы встречаются главным образом в холодных районах земного шара с устойчивым температурным режимом.

Мезофилы (от греч. мезос — средний, промежуточный) имеют температурный оптимум 30—45°C, а минимум 10—15°C. Большинство микроорганизмов относятся к этой группе, в том числе и болезнетворные. Патогенные для человека и теплокровных животных микробы имеют оптимум около 37°C.

Термофилы (от греч. термо — тепло) — теплолюбивые микроорганизмы, развиваются в зоне высоких температур. Минимум не ниже 35—40°C, оптимум 55—75°C. Облигатные термофилы не растут уже при 37°C, но факультативные формы способны развиваться при 30—35°C и даже при более низкой температуре.

Способность некоторых неспорообразующих бактерий горячих источников существовать при температурах от 40 до 93°C и выше дало основание для выделения этих организмов в новую группу экстремально-термофильных бактерий. Возможности существования термофилов при высокой температуре обусловлены особым составом липидных компонентов клеточных мембран, высокой термостабильностью белков и ферментов, термостабильностью клеточных ультраструктур.

В природе термофильные микроорганизмы обитают в горячих источниках и принимают непосредственное участие в процессе самонагрева навоза, сена, зерна и т. д.

Термофильные формы имеются у бактерий, актиномицетов, грибов, простейших.

Микроорганизмы по-разному относятся к предельным (низким и высоким) температурам. Если низкие температуры, такие, как —190°C (жидкий воздух) или —252°C (жидкий водород), микробные клетки переносят, после размораживания сохраняя спо-

ность к росту, то под влиянием высоких температур они довольно быстро погибают. Высокие температуры (60°C и выше) вызывают коагуляцию белков и инактивацию ферментов у психрофильных и мезофильных микроорганизмов. Обычно при $60\text{--}70^{\circ}\text{C}$ погибают вегетативные клетки этих организмов. Споры бактерий могут выдерживать температуру кипения воды в течение нескольких часов.]

Нагревание до температуры $100\text{--}120^{\circ}\text{C}$ используют в микробиологии для полного уничтожения вегетативных форм микроорганизмов и их спор. Это наиболее удобный и надежный способ стерилизации различных предметов (лат. *sterilis* — бесплодный). Имеется несколько способов стерилизации с использованием высокой температуры. Наиболее широко применяется стерилизация сухим жаром (для сухих объектов) при температуре 160°C в течение 2 ч и стерилизация паром в автоклаве (для влажных объектов) при 120°C в течение 15—20 мин.

Кислотность среды. Реакция среды, в которой обитают микроорганизмы, оказывает на них большое влияние. Это один из наиболее важных факторов, от которых зависит рост и размножение микроорганизмов, так как он определяет доступность для организма различных веществ и неорганических ионов.

Напомним, что активная реакция среды является функцией ионов водорода, их активности и концентрации. Кислотность среды выражается символом рН. Значения рН лежат в интервале от 0 до 14 и представляют собой десятичный логарифм концентрации водородных ионов, взятый с обратным знаком. Значения рН кислых сред находятся в пределах 0—6, щелочных — 8—14, нейтральная точка соответствует рН 7,07.

Для большинства микроорганизмов оптимальное значение рН — около 7. Очень кислая или очень щелочная реакция среды обычно токсичны для бактерий. Предельные значения рН, выше и ниже которых известные в настоящее время микроорганизмы прекращают рост и размножение, приблизительно равны 1 и 11. При рН 1 могут существовать лишь немногие бактерии и грибы, при рН 11 — только некоторые водоросли, грибы и бактерии. За редкими исключениями, бактерии не способны расти при рН ниже 4. Большая часть бактерий не размножается при рН выше 9. Следовательно, диапазон рН, при котором они развиваются, колеблется в пределах 4—9.

Имеются бактерии, которые лучше растут при щелочной реакции (рН 10 и выше). Такие организмы называются алкалофильными. Найдены также бактерии, способные развиваться в очень кислой среде, это ацидофильные микроорганизмы. Они облигатно нуждаются для роста в очень низких значениях рН (3 и менее).

Некоторые микроорганизмы (например, молочнокислые, маслянокислые и др.) производят так много кислоты в процессе обмена веществ, что это приводит к остановке роста, а иногда и к гибели их.

Известны микроорганизмы, которые растут при экстремальных значениях рН. Например, представитель облигатных экстремальных ацидофилов *Thiobacillus thiooxidans* может развиваться при рН 0,9—4,5 (оптимум 2,5).

Грибы и дрожжи хорошо размножаются и при низком (рН 2—3), и довольно высоком значении рН (8—10). Многие грибы предпочитают кислую среду и имеют тенденцию расти лучше при рН 5—6.

Значительная часть бактерий, несмотря на то что не растет при рН ниже 4,5, может выносить такие низкие рН, как 1 или даже 0, не подвергаясь заметному отрицательному влиянию. Это так называемые кислотоустойчивые микроорганизмы. К ним принадлежат тионовые бактерии, окисляющие сероводород и серу, а также некоторые другие микроорганизмы.

Среди бактерий обнаружено несколько организмов, устойчивых к щелочной среде с рН 10 и выше. Сюда следует отнести *Bacillus pasteurii*, бактерию, расщепляющую мочевины и хорошо растущую при рН, близком к 11. Выделены и другие бациллы, очень устойчивые к щелочной среде.

В процессе своей жизнедеятельности некоторые микроорганизмы могут не только подкислять среду, но и вырабатывать щелочные продукты. Например, при разложении мочевины и белков образуется аммиак, подщелачивающий среду.

Отрицательное влияние кислотности среды на большинство микроорганизмов используется в практике консервирования пищевых продуктов, при приготовлении маринадов, силоса, квашеной капусты и т. д.

Влияние кислорода. Большинству живых существ необходим кислород. Микроорганизмы, нуждающиеся для жизни в кислороде, получили название облигатных (строгих) аэробов. К ним относится большая часть бактерий и грибов.

Некоторые микроорганизмы совсем не используют кислород. Это анаэробы. Они бывают двух типов: облигатные анаэробы, для них кислород токсичен, и аэротолерантные анаэробы, которые не погибают при контакте с кислородом.

Токсичность кислорода для облигатных анаэробов определяется тем, что эти организмы не имеют окислительных ферментов — супероксиддисмутазы и каталазы, обычно содержащихся в клетках аэробов и аэротолерантных анаэробов и защищающих организм от токсичных продуктов кислородного обмена (H_2O_2 и др.). К облигатным анаэробным микроорганизмам относятся, например, бактерии рода *Clostridium*, ряд представителей которого может фиксировать азот атмосферы, вызывать некоторые болезни (газовую гангрену и т. д.), а также анаэробные актиномицеты.

Существуют факультативные анаэробы — микроорганизмы, имеющие анаэробный тип метаболизма, но в то же время нечувствительные к кислороду. К ним относятся некоторые кишечные бактерии, представители рода *Serratia* и др. Факультативно анаэробные микроорганизмы в зависимости от условий среды мо-

гут иметь или окислительный, или бродильный тип обмена. Так, многие дрожжи способны при доступе воздуха окислять сахар до CO_2 и H_2O , а в анаэробных условиях они вызывают спиртовое брожение. Сахар при этом превращается в этиловый спирт и углекислоту.

К факультативно-анаэробным бактериям относятся представители родов *Bacillus*, *Vibrio*, *Escherichia*, патогенные бактерии из родов *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* и др.

В природе имеются микроорганизмы, удовлетворяющиеся небольшими количествами кислорода, — микроаэрофилы. Они лучше растут при парциальном давлении кислорода, значительно более низком, чем в воздухе.

Гидростатическое давление. Обычное давление не оказывает существенного влияния на микробные клетки. Однако очень высокое гидростатическое давление может остановить рост микробов. Так, при давлении выше $5 \cdot 10^7$ Па большинство микроорганизмов не растут.

Умеренное давление ($1 \cdot 10^7$ — $5 \cdot 10^7$ Па) обычно угнетает рост и размножение микроорганизмов. В то же время существуют микроорганизмы, обитающие в грунтах и водах океана, которые могут размножаться при высоком давлении. Многие из этих микроорганизмов совершенно не размножаются при обычном атмосферном давлении, их называют барофильными. Существуют также баротолерантные микроорганизмы, которые размножаются при нормальном атмосферном давлении, но хорошо переносят высокое давление.

В настоящее время возникло новое направление в микробиологии — баробиология микроорганизмов, которая изучает роль гидростатического давления как экологического фактора, оказывающего влияние на распространение и активность микроорганизмов в глубине морей и океанов.

Химические факторы. Химические ядовитые вещества, попадая в бактериальную клетку, взаимодействуют с теми или иными важными составными компонентами ее и нарушают функции бактерий. Это приводит к остановке роста организма (бактериостатический эффект) или его гибели (бактерицидный эффект).

Действие химических веществ на микроорганизмы зависит от природы вещества, особенностей микроорганизма и факторов внешней среды таких как температура, состав среды, время воздействия и т. д.

По характеру действия химические соединения делят на несколько групп:

поверхностно-активные вещества — жирные кислоты, мыла, детергенты, вызывающие повреждение клеточной стенки;

фенол, крезол и их производные, не только повреждающие клеточную стенку, но и воздействующие на белки цитоплазмы;

акридины (вещества типа дибензопиридина), обладающие сродством к нуклеиновым кислотам и нарушающие процессы клеточного деления;

формальдегид (40%-ный раствор формалина), вызывающий денатурацию белков;

соли тяжелых металлов, приводящие к коагуляции белков, поэтому обуславливающие гибель не только микроорганизмов, и вирусов.

Характер действия ядовитого вещества — бактерицидный и бактериостатический — зависит от его концентрации, то есть его токсичность определяется дозой. Кроме того, среди микроорганизмов имеются формы, устойчивые к действию общих клеточных метаболических ядовитых веществ (фенол, окись углерода, сероводород и др.), а некоторые обладают способностью использовать их в качестве источников питания.

Для ряда ядовитых веществ выявлен механизм их противомикробного действия. Растворы токсических соединений применяются в качестве дезинфицирующих средств в медицине, пищевой промышленности. В сельском хозяйстве их используют для химической дезинфекции (протравливания) семян и почвы. Такого рода дезинфекция обычно направлена против определенного возбудителя заболевания и называется частичной дезинфекцией.

Радиация (излучение). Свет — необходимый фактор для роста фотосинтезирующих зеленых и пурпурных бактерий, которые имеют пигменты, обеспечивающие им возможность поглощать энергию светового луча и превращать ее в химическую. Для большинства других бактерий радиация, видимая и невидимая, является или бесполезной, или вредной.

Энергия излучения переносится порциями, называемыми квантами. Количество энергии изменяется в зависимости от длины волны: большая длина волны дает немного энергии. Так, инфракрасные лучи с большой длиной волны характеризуются низким содержанием энергии, а короткие ультрафиолетовые и рентгеновские лучи обладают высокой энергией.

Действие, производимое квантом на материю, является функцией заключенной в нем энергии и, следовательно, длины его волны. Кванты инфракрасного света, имеющего длину волны более 1200 нм, содержат такое незначительное количество энергии, что они не способны вызывать химических изменений в поглощающей материи, и их энергия превращается в тепло. Этим объясняется хорошо известный тепловой эффект инфракрасных ламп. Энергия радиации с длиной волны от 1200 (близкая к инфракрасным лучам) до 200 нм (ультрафиолетовые лучи) достаточна для того, чтобы произвести фотохимические изменения в поглощающих молекулах или атомах. При длине волны 200 нм и менее (рентгеновские лучи, α -частицы, космические лучи) энергия квантов столь высока, что молекулы ионизируются. Этот род радиации часто относят к ионизирующей.

Живая материя содержит многие виды молекул, химическая структура которых способствует поглощению лучистой энергии. Такие молекулы могут подвергаться фотохимическим реакциям. Нуклеиновые кислоты и белки — важнейшие составные части жи-

вой материи — обладают структурами, допускающими очень сильное поглощение ультрафиолетового света, и фотохимические изменения, возникающие при этом, очень вредны для живых клеток. Следовательно, ультрафиолетовый свет — сильный бактерицидный агент. Наиболее эффективная область спектра имеет длину волны около 260 нм и поглощается нуклеиновыми кислотами. Вероятно, гибель клетки от ультрафиолетового излучения почти всецело происходит за счет фотохимического разрушения этих соединений. Когда воздействие ультрафиолетового света недостаточно сильное, чтобы убить клетку, он может вызывать мутации. В практических целях ультрафиолетовые лампы используют для стерилизации воздуха.

Видимая часть света оказывает некоторое отрицательное действие на микроорганизмы, особенно лишенные пигмента. Микробы, живущие на субстратах, которые подвергаются воздействию солнечных лучей, содержат в своих клетках каротиноидные пигменты. Эти пигменты обладают защитным свойством против ультрафиолетовых лучей и видимого излучения. Многие микрококки и сарцины, обнаруживаемые в воздухе, также содержат каротиноидные пигменты и поэтому не гибнут на солнечном свете.

Ионизирующая радиация (рентгеновские лучи, α -частицы, γ -излучение и др.) при низких дозах оказывает мутагенный эффект, а при высоких — обладает летальным действием на микроорганизмы, что позволяет использовать ее для стерилизации различных материалов, консервирования пищевых продуктов и т. д. При этом свойства стерилизуемого материала не изменяются.

Взаимодействие факторов внешней среды. Мы рассмотрели влияние различных физических и химических факторов внешней среды на микроорганизмы. Однако в действительности влияние одного фактора весьма редкое явление. В природной обстановке, а нередко и в условиях искусственной культуры на микроорганизмы оказывают воздействие многие факторы среды одновременно. Подчас это резко влияет на эффективность действия основного фактора. Так, рН среды изменяет летальный эффект температуры. Бактерии гораздо легче могут быть уничтожены при нагревании в кислой среде, чем в нейтральной или щелочной. Летальный эффект рентгеновских лучей очень сильно повышается в присутствии молекулярного кислорода. Бактерии могут быть защищены от воздействия рентгеновских лучей, если они облучаются в среде, компоненты которой находятся в восстановленном состоянии. Потребности микроорганизмов в ростовом факторе могут увеличиваться с повышением температуры и т. д.

Таким образом, термины «оптимальная температура» или «оптимальный рН» для роста данной бактерии имеют реальное значение, если все другие факторы внешней среды известны.

Сложность взаимодействия между различными факторами внешней среды чрезвычайно затрудняет определение оптимальных условий роста микроорганизмов. Тем не менее этот вопрос имеет не только большое теоретическое, но и практическое значение.

Взаимоотношения микроорганизмов. Микроорганизмы в природной обстановке живут в тесной взаимосвязи друг с другом и со всем населением окружающей среды. Взаимоотношения между микроорганизмами бывают либо благоприятными, то есть приносящими взаимную пользу, либо вредными, антагонистическими. Между этими типами взаимоотношений можно провести лишь условную границу, они могут меняться в результате изменения окружающей среды.

В ряде случаев наблюдаются ассоциативные взаимоотношения между микроорганизмами. Изменяя компоненты среды, микроорганизмы могут создавать обстановку для благоприятного существования других микроскопических существ. Так, аэробы, поглощая кислород, благоприятствуют развитию анаэробов.

Нередко продукты жизнедеятельности одних видов микроорганизмов служат источником энергии или питательных веществ для других (явление метабиоза). Нитрифицирующие бактерии получают необходимую им энергию при окислении аммиака, образующегося в результате жизнедеятельности аммонифицирующих бактерий. Для других микробов аммиак служит источником азота. Продукты обмена веществ бактерий, расщепляющих клетчатку, используются фиксаторами азота и т. д.

Существуют ассоциации двух разных видов микроорганизмов (или микро- и макроорганизмов) в условиях тесного и длительного пространственного контакта, когда оба партнера взаимно адаптируются к совместному существованию. Такие взаимоотношения между организмами называют симбиозом.

Типы симбиоза между микроорганизмами, а также между микроорганизмами и растениями (животными) делят на две категории: эктосимбиоз и эндосимбиоз. При эктосимбиозе микроорганизм занимает внешнее положение по отношению к клеткам организма-хозяина (более крупного из двух симбионтов), а при эндосимбиозе микроорганизм растет и развивается внутри клеток хозяина.

Разные типы симбиоза существенно отличаются и по относительной выгоде, которую получает каждый из партнеров ассоциации. При мутуалистическом, или взаимовыгодном, симбиозе оба партнера извлекают пользу от ассоциативного существования; при паразитическом симбиозе пользу получает только один из партнеров, в то время как второй не получает ничего, а часто даже приобретает различной степени повреждения. Следует отметить, что тип симбиоза может измениться при смене условий окружающей среды и взаимоотношения, бывшие вначале взаимовыгодными, могут стать паразитическими, и наоборот.

По степени взаимозависимости партнеров выделяют факультативный и облигатный симбиоз. При факультативном симбиозе партнеров можно культивировать друг без друга. В случае если симбионтов нельзя культивировать в изолированном виде, то симбиоз называют облигатным.

Можно привести несколько примеров мутуалистического симбиоза. Так, развитие или половое размножение некоторых дрожжей и грибов идет лишь в присутствии других микроорганизмов. Взаимоотношения подобного рода обуславливаются, по всей вероятности, образованием микробами-спутниками веществ типа ауксинов, или факторов роста, которые нужны для прохождения определенных фаз развития. Многие бактерии, нуждающиеся в витамине В₁₂, получают его от других микробов, которые обладают способностью синтезировать это соединение. Известны и такие взаимоотношения, как симбиоз гриба с растением при образовании микориз; симбиоз клубеньковых бактерий с бобовыми растениями; симбиоз целлюлозоразлагающих бактерий, обитающих в рубце животных, с животным и др.

Паразитический симбиоз широко распространен в мире микроорганизмов. Так, некоторые миксобактерии способны лизировать клетки бактерий и питаться их содержимым.

В 1963 г. немецкий микробиолог Штольп открыл очень мелкую бактерию, названную им *Bdellovibrio bacteriovorus* (вибриопиявка), являющуюся облигатным паразитом бактерий. Сначала этот паразит прикрепляется к клеточной стенке бактерии, затем проникает внутрь ее, быстро увеличивается в размерах и размножается. Когда содержимое клетки переварено, клеточная стенка пораженной бактерии разрушается, вибрионы выходят наружу и поражают новые бактериальные клетки. Существует ряд *Bdellovibrio*, каждый из которых поражает определенные виды бактерий. Они паразитируют преимущественно на грамотрицательных бактериях, в частности на псевдомонадах и энтеробактериях. *Bdellovibrio* встречаются в почве и воде.

Некоторые бактерии и грибы образуют специальные приспособления для захвата микроорганизмов и мелких животных. Запутавшиеся в них существа погибают и лизируются, после чего служат источником питания. Ряд видов грибов живет за счет грибов других видов. Иногда мицелий грибов разрушается актиномицетами.

Примером паразитического симбиоза может служить и инфекционная болезнь, при которой хозяин постепенно ослабевает и в конце концов может погибнуть.

Бактерии служат пищей для основной массы простейших, причем набор используемых для питания бактерий у различных простейших варьирует.

Антагонизм между микроорганизмами может быть вызван следующими причинами: 1) конкуренцией за питательные вещества; 2) действием антибиотиков, вырабатываемых некоторыми микроорганизмами; 3) уничтожением одних микроорганизмов другими.

Уровень питательных веществ имеет большое значение для сохранения тех или иных видов микроорганизмов в почве. Например, опыты, проведенные в Московской сельскохозяйственной академии имени К. А. Тимирязева, показали, что в длительно па-

рующей почве исчезают многие сапрофитные бактерии. Это результат непоступления в почву свежих растительных остатков. В подобной обстановке вымирают типичные сапрофиты и конкурентоспособными оказываются микроорганизмы, использующие иерогонные соединения почвы. По этой же причине в почве отмирают многие грибные фитопаразиты.

Определенные виды микроорганизмов могут погибать или угнетаться антибиотиками микробного происхождения. Антибиотики — химические вещества, образующиеся в процессе жизнедеятельности микроорганизмов, обладающие способностью подавлять рост микробов и даже убивать их. Известны антибиотики, вырабатываемые грибами (пенициллин, аспергиллин), актиномицетами (стрептомицин) и бактериями (грамцидин С). Антибиотики широко применяются в медицине и в сельском хозяйстве.

Глава 6

ПИТАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Способы питания. Микроорганизмы, как и все другие живые существа, нуждаются в пище. Последняя поступает в их клетки из внешней среды. Пищей обычно называются вещества, которые, попав в живой организм, служат либо источником энергии для процессов жизнедеятельности, либо материалом для построения составных частей клетки.

Свою потребность в питательных веществах микроорганизмы могут удовлетворять или непосредственно усваивая их, или предварительно изменяя и делая их доступными для использования. Известны два способа питания живых существ — голозойный и голофитный.

При голозойном способе питания живой организм захватывает или заглатывает плотные частицы пищи, которая затем переваривается в пищеварительном тракте. Этот способ питания характерен для животных (от высших до простейших).

При голофитном способе питания живые существа, не имеющие специальных органов для заглатывания и пищеварения, используют питательные вещества, всасывая их в виде относительно небольших молекул из водного раствора. Этот способ питания свойствен растениям и микроорганизмам.

Большинство органических соединений представляет собой полимеры (например, полисахариды и белки), они не могут быть поглощены и использованы непосредственно в обмене веществ клетки. Такие вещества вначале должны быть расщеплены на простые соединения, для которых клеточная мембрана проницаема. Крупные молекулы расщепляются экзоферментами, которые экскретируются клетками микроорганизмов в среду. Это так называемое внешнее, или внеклеточное, переваривание, свойственное только микроорганизмам.

Поступление питательных веществ в клетку микроорганизма. Поступление воды и растворенных в ней питательных веществ из окружающей среды внутрь микробной клетки, а также выход продуктов обмена происходит через клеточную стенку, капсулу и слизистые слои. Капсула и слизистые слои представляют собой достаточно рыхлые образования, и они, возможно, не оказывают значительного влияния на транспорт веществ, тогда как клеточная стенка может служить существенным барьером для поступления питательных соединений в клетку.

Активная роль в процессе поступления в клетку питательных веществ принадлежит также цитоплазматической мембране. Последняя должна быть проницаемой для питательных веществ и кислорода, поступающих в клетку, а также для отходов, выходящих наружу, что обеспечивает нормальную жизнедеятельность клетки микроорганизма. Поступление воды и растворенных в ней веществ через цитоплазматическую мембрану — динамический процесс: живая микробная клетка никогда не находится в равновесии с веществами окружающей среды, проходящими через ее мембрану.

Выделяют четыре различных механизма, с помощью которых вещества из окружающей среды проходят через цитоплазматическую мембрану: пассивную диффузию, облегченную диффузию, активный транспорт и перенос групп.

При пассивной диффузии транспорт вещества происходит через цитоплазматическую мембрану под действием разности концентраций (в случае неэлектролитов) или электрических потенциалов (в случае ионов) по обе стороны мембраны. Экспериментами показано, что, за исключением воды, только кислород и некоторые ионы проходят через цитоплазматическую мембрану путем пассивной диффузии. Скорость такого переноса веществ весьма незначительна.

Транспорт большинства растворенных веществ осуществляется через мембрану с помощью специальных механизмов переноса. Это молекулы-переносчики, циркулирующие между внешним и внутренним пограничными слоями цитоплазматической мембраны. Считают, что эти расположенные в мембране переносчики связывают молекулы растворенных веществ на ее внешней стороне и транспортируют их к внутренней, откуда они поступают в цитоплазму без изменения. Такие связанные с цитоплазматической мембраной переносчики, представляющие собой субстратспецифические связывающие белки, называются пермеазами. Известны два типа процессов транспорта растворенных веществ, осуществляемых переносчиками. Первый тип — облегченная диффузия. Движущей силой этого процесса является разница в концентрации какого-либо вещества по обе стороны мембраны. Молекула вещества соединяется с молекулой-переносчиком у наружной поверхности мембраны, и образовавшийся комплекс диффундирует через мембрану к ее внутренней стороне. Там он диссоциирует, и освобожденное вещество оказывается внутри клетки.

Затем переносчик диффундирует обратно к наружной поверхности и сразу может присоединить к себе другую молекулу вещества. Облегченная диффузия не требует расхода энергии, если наружная концентрация вещества выше внутренней, и вещество, таким образом, перемещается «вниз» по химическому градиенту. Скорость ее зависит от концентрации веществ в наружном растворе. Предполагают, что выход продуктов обмена веществ из микробной клетки происходит по типу облегченной диффузии при участии переносчиков.

Второй тип называется активным транспортом. В этом случае растворенные вещества переносятся в клетки микроорганизмов «вверх» по химическому градиенту (или против градиента концентрации). Считают, что большинство веществ проникает в клетку микроорганизма в результате активного транспорта. Такой транспорт веществ нуждается в энергии (АТФ), получаемой в результате дыхания или брожения. Необходимость использования энергии для поддержания активного транспорта объясняется теми изменениями, которые претерпевает переносчик в своей работе,— когда обращен к внешней стороне мембраны, он обладает высоким сродством к субстрату, а когда обращен к ее внутренней поверхности — низким сродством к субстрату. Возможность транспортировать вещества против градиентов концентрации часто используется клетками бактерий для получения этих веществ из окружающей среды, где их концентрация очень мала, что обычно для природных условий. При отсутствии источников энергии накопления веществ внутри цитоплазмы не происходит.

Подсчитано, что перенос молекулы триолактозида через цитоплазматическую мембрану кишечной палочки (*Escherichia coli*) требует затраты одной молекулы АТФ. Предполагая, что активный перенос других соединений связан с подобным же расходом АТФ, можно считать, что растущий и размножающийся микроорганизм потребляет значительное количество энергии на транспорт веществ в клетку. В отдельных случаях на активный транспорт может затрачиваться почти вся энергия, вырабатываемая в микробной клетке.

Количество пермеазных белков в цитоплазматической мембране микроорганизмов может быть значительным. Так, на одну клетку кишечной палочки приходится около 8000 молекул пермеазы, служащей переносчиком лактозы.

У многих микроорганизмов сахара транспортируются в клетку путем переноса групп. Этот процесс отличается от активного транспорта тем, что субстрат появляется внутри бактериальной клетки в химически модифицированной форме — чаще всего в виде фосфатного эфира. Движущая сила рассматриваемого процесса состоит в том, что внутри цитоплазматической мембраны сахар связывается в результате реакции с фосфорилированным ферментом и образующийся в итоге фосфатный эфир освобождается и поступает в цитоплазму. Химическая природа транспортируемого вещества при переносе не изменяется.

Таким образом, пищевые потребности микроорганизмов зависят не только от внутреннего комплекса ферментов, необходимого для утилизации определенных соединений, но и от действия специфического транспортного механизма.

Пищевые потребности микроорганизмов. Основную часть микробной клетки составляет вода (80—90% общей массы клетки). В состав клеток микроорганизмов входят следующие элементы (в % от массы сухого вещества): углерод—50, кислород—20, азот—14, водород—8, фосфор—3, сера—1, калий—1, натрий—1, кальций—0,5, магний—0,5, хлор—0,5, железо—0,2, другие элементы—0,3. Как видно, некоторые элементы—углерод, кислород и азот—находятся в клетках в больших количествах. Значительно беднее представлены сера и фосфор. Еще меньше содержится калия, натрия, кальция, магния, железа и хлора. В виде следов в состав клетки входят микроэлементы (цинк, медь, кобальт, стронций, марганец и др.).

Для биосинтеза основных макромолекул клетки, из которых формируются клеточная стенка, мембраны, нуклеоид, цитоплазма и другие компоненты, микроорганизмы должны получать в качестве источников питания углерод, азот, фосфор, серу, кислород, железо, кальций, магний, калий, натрий, хлориды и другие элементы в виде более или менее сложных соединений. Микроорганизмы нуждаются также в микроэлементах—марганце, цинке, меди, боре, молибдене, йоде и стронции.

Помимо питательных элементов, используемых для построения структурных частей клетки, микроорганизмы нуждаются также в постоянном источнике энергии, которая расходуется на биосинтез различных соединений, транспорт веществ и другие жизненные процессы в клетке.

Среди всех питательных элементов наибольшее значение имеет углерод, которого в сухом веществе клеток микроорганизмов содержится около 50%. Он входит в состав всех органических веществ, имеющих в микробных клетках.

Потребности различных микроорганизмов в источниках углерода весьма разнообразны. Фотосинтезирующие организмы, использующие энергию солнечного света, и бактерии, получающие энергию при окислении неорганических веществ, потребляют наиболее окисленную форму углерода— CO_2 как единственный или главный источник клеточного углерода. Превращение CO_2 в органические соединения клетки представляет собой восстановительный процесс, который идет со значительным потреблением энергии. Поэтому значительную часть энергии, получаемой от солнечного света или от окисления восстановленных неорганических соединений, эти физиологические группы микроорганизмов расходуют на восстановление CO_2 до уровня органического вещества.

Все другие организмы получают углерод главным образом из органических веществ, а необходимую им энергию—путем окисления органических соединений. Следовательно, органические ве-

щества служат одновременно и источником углерода, и источником энергии.

Питательная ценность источников углерода зависит от строения их молекул. Для большинства микроорганизмов лучшие источники углерода — органические соединения, содержащие частично окисленные атомы углерода (CНОН , $\text{СН}_2\text{ОН}$, СОН). Отсюда можно сделать вывод о высокой питательной ценности веществ, содержащих спиртовые группы. Значительно хуже ассимилируются вещества с большим количеством полностью восстановленных углеродов (радикалы СН_3 и СН_2). К числу соединений, содержащих метиловые и метиленовые радикалы, относятся газообразные углеводороды, парафин, высшие жирные кислоты и т. д. Почти совсем не усваиваются органические соединения, содержащие углерод только в форме карбоксила — СООН (например, щавелевая кислота).

Считают, что питательная ценность органических соединений связана с легкостью их перехода в углеводы или близкие к ним соединения, которые затем превращаются в вещества с тремя атомами углерода. Усвояемость органических соединений зависит не только от их растворимости и степени окисленности атомов углерода, но и пространственной конфигурации их молекул. Большинство активных компонентов клетки микроорганизма — соединения оптически деятельные, причем клетка обычно усваивает только определенные оптические изомеры, например сахара, относящиеся к *D*-ряду, аминокислоты — к *L*-ряду. Очень мало микроорганизмов обладают ферментами, превращающими один оптический изомер в другой.

Поглощенные микробной клеткой органические вещества вовлекаются в сопряженные окислительно-восстановительные процессы. Часть атомов углерода окисляется до СО — и СООН , из которых затем образуется СО_2 , другая часть, восстановившись до $-\text{СН}_3$, $-\text{СН}_2$ и $-\text{СН}$, входит в состав таких соединений, как аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, высшие жирные кислоты и т. д.

Микроорганизмы значительно различаются способностью усваивать разные соединения углерода и синтезировать из них составные части клетки. Некоторые виды удивительно всеядны и могут использовать для питания разнообразные соединения. С другой стороны, известно множество различных специализированных типов микробов, которые нуждаются в специфических соединениях. Существуют микробы, использующие нефть, газообразные углеводороды, парафины. Даже резина, гудрон, капрон и многие другие синтетические материалы, а также пестициды и т. д. после попадания в почву начинают разлагаться микроорганизмами. Практически не существует органических соединений, которые не усваивались бы микроорганизмами.

Специфичность набора органических соединений, свойственная каждому виду микроорганизмов, используется для физиологической характеристики вида и для классификации микроорганизмов.

Ряд микроорганизмов, использующих углерод органических соединений, нуждаются также в CO_2 , как в питательном веществе, однако в очень небольших количествах, потому что это соединение потребляется в немногих биосинтетических реакциях. Так как CO_2 нормально продуцируется в больших количествах организмами, использующими органические вещества, их биосинтетические потребности могут удовлетворяться в процессе метаболизма. Тем не менее полное удаление CO_2 из среды, в которой культивируют микроорганизмы, часто задерживает или прекращает их рост. Некоторые бактерии и грибы требуют для своего роста относительно высокие концентрации CO_2 в атмосфере (от 5 до 10%).

Микроорганизмы нуждаются в источниках азотного питания, которые служат материалом для образования аминных — NH_2 и иминных — NH -групп в молекулах аминокислот, пуринов и пиримидинов, нуклеиновых кислот и других веществ, входящих в состав клетки. Самый доступный источник азота для многих микроорганизмов — ионы аммония (NH_4^+) и аммиак (NH_3), они достаточно быстро проникают в клетку микроорганизма и трансформируются в имино- и аминогруппы.

Аммонийные соли органических кислот более благоприятны для питания, чем минеральные аммонийные соли. Последние являются физиологически кислыми — при потреблении NH_3 в среде накапливаются минеральные анионы (SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , Cl^-), что влечет за собой сильное снижение pH.

Соли азотной кислоты в противоположность минеральным аммонийным солям не обладают физиологической кислотностью, и после использования NO_3^- микробами остаются ионы металлов (K^+ , Mg^{2+} , Na^+), что способствует подщелачиванию среды. Не все микроорганизмы могут восстанавливать окисленные соединения азота и питаться нитратами или нитритами. Большинство микробов ассимилируют минеральные формы азота.

Существуют микроорганизмы, способные усваивать молекулярный азот воздуха и строить из него необходимые компоненты клетки. Эти виды имеют большое значение в обогащении пахотного слоя связанными соединениями азота. В настоящее время известно большое число групп микроорганизмов (бактерий, актиномицетов, цианобактерий) с азотфиксирующей способностью.

Наряду с минеральными источниками азота многие микроорганизмы могут потреблять азот органических соединений, которые одновременно служат и источником углерода.

Потребление органических источников азота связывается обычно с отщеплением от них NH_3 и поглощением последнего микробной клеткой. Некоторые микроорганизмы могут ассимилировать аминокислоты, используя их как строительные блоки.

Усвояемость органических источников азота весьма различна. Белки, представляющие собой высокомолекулярные соединения, не проникают в клетку микробов. Поэтому белками могут питаться только микроорганизмы, выделяющие в среду экзоферменты,

расщепляющие молекулы белков до пептидов и аминокислот. Этими свойствами обладают многие микроорганизмы.

Обычно микроорганизмам, питающимся только органическими соединениями азота — аминокислотами и т. п., требуется определенный набор этих веществ. Высокая чувствительность подобных организмов к наличию в среде некоторых аминокислот позволила разработать микробиологический метод их качественного и количественного определения.

Сера, как и азот, — необходимый компонент клеточного материала для всех организмов, в которых она встречается главным образом в восстановленной форме, в виде сульфидной группы. Зеленые растения ассимилируют соединения серы в окисленном состоянии в виде сульфатов и восстанавливают их для включения в биосинтез.

Большинство микроорганизмов может использовать сульфаты в качестве питательного вещества, но имеются бактерии, требующие для биосинтеза источники восстановленной серы. Для таких организмов источником серы могут служить неорганические сульфиды, тиосульфаты и содержащие серу органические соединения.

Наряду с углеродом, азотом и серой микроорганизмы используют значительные количества калия и фосфора и небольшие — натрия, магния, кальция, железа.

Фосфор входит в состав ряда важных органических соединений клетки (нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферментов и др.). Ряд органических соединений фосфора (АТФ, АДФ) используется в живых организмах в качестве аккумуляторов энергии, высвобождающейся в ходе окислительных процессов. Без фосфора микроорганизмы не развиваются. В противоположность азоту и сере фосфор встречается в составе органических веществ только в окисленном состоянии (в форме H_3PO_4). Он никогда не вступает в прямое соединение с углеродом, соединяясь с ним только по типу эфирной связи через кислородный мостик —O—. Фосфор поступает в клетки микроорганизмов в виде молекулы фосфорной кислоты и в неизменной форме участвует в различных биохимических превращениях. Наилучший источник фосфора — различные соли ортофосфорной кислоты.

Калий необходим для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов. Он играет существенную роль в углеводном обмене и синтезе клеточного вещества.

Магний входит в состав бактериохлорофилла у зеленых и пурпурных бактерий, серобактерий и хлорофилла у цианобактерий и также служит активатором ряда ферментов. Магний находится в клетке главным образом в ионном состоянии или в составе нестойких органических соединений.

Источниками калия и магния являются их соли.

Кальций необходим для роста некоторых бактерий (например, *Azotobacter*, *Clostridium pasteurianum* и др.). Источником кальция служат его водорастворимые соли.

Железо относится к числу незаменимых питательных элементов, хотя и требующихся микроорганизмам в небольших количествах. Железо входит в состав особой органической группировки (геминной) кофермента некоторых важных ферментов (геминный фермент, цитохромы), участвующих в дыхании микроорганизмов. Источником железа могут служить сернокислые и другие его соли.

Микроорганизмам необходимы и микроэлементы, которые хотя и потребляются в малых количествах, но имеют особое значение. Без микроэлементов невозможно осуществление важнейших жизненных функций, так как они входят в состав ферментов — сложных белковых образований, являющихся регуляторами и участниками обмена веществ у живых организмов. Например, медь входит в состав порфиринов, играющих роль переносчиков кислорода в процессах дыхания, а молибден в составе фермента нитрогеназы принимает участие в процессе фиксации азота из атмосферы.

Кроме основных питательных веществ, почти все группы микроорганизмов нуждаются в небольшом количестве соединений, получивших название факторов роста. К ним относятся витамины и витаминоподобные вещества, пурины и пиримидины, аминокислоты и ряд других соединений.

Типы питания. В соответствии с принятой сейчас классификацией микроорганизмов по типу питания разделяют на ряд групп в зависимости от источников энергии и источника углерода.

По использованию различных источников энергии микроорганизмы делятся на фототрофы, потребляющие солнечный свет, и хемотрофы, энергетическим материалом для которых служат разнообразные органические и неорганические вещества.

В зависимости от того, в какой форме микроорганизмы получают из окружающей среды углерод, их подразделяют на две группы: автотрофные микроорганизмы («сами себя питающие»), использующие в качестве единственного источника углерода углекислоту, из которой они могут синтезировать необходимые углеродсодержащие соединения, и гетеротрофные микроорганизмы («питающиеся за счет других»), получающие углерод в виде довольно сложных восстановленных органических соединений.

Следовательно, по способу получения энергии и углерода микроорганизмы могут быть разделены на фотоавтотрофов, фотогетеротрофов, хемоавтотрофов и хемогетеротрофов. Каждая из этих групп микроорганизмов, в свою очередь, подразделяется в зависимости от природы окисляемого субстрата, называемого донором электронов (—Н-донором), используемого в обмене веществ, на органотрофы, потребляющие как энергетический источник органические вещества, и литотрофы (от греч. литос — камень), получающие энергию за счет окисления неорганических веществ. Поэтому в зависимости от используемого микроорганизмами источника энергии и донора электронов следует различать фотоорганотрофы, фотолитотрофы, хемоорганотрофы и хемолитотрофы.

2. Возможные типы питания микроорганизмов (по Е. Н. Кондратьевой, 1983)

Источник энергии	Окисляемый субстрат (донор водорода)	Источник углерода	
		органические соединения	углекислота
Свет	Органические соединения Неорганические соединения	Фотоорганогетеротрофия Фотолитогетеротрофия	Фотоорганоавтотрофия Фотолитоавтотрофия
Органические соединения Неорганические соединения	Органические соединения Неорганические соединения	Хемоорганогетеротрофия Хемолитогетеротрофия	Хемоорганоавтотрофия Хемолитоавтотрофия

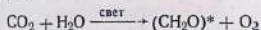
Таким образом, выделяют восемь возможных типов питания (табл. 2).

Каждый тип питания характерен для большего или меньшего числа микроорганизмов. Ниже приведено описание наиболее распространенных типов питания и краткий перечень микроорганизмов, их осуществляющих.

Фототрофия (источник энергии — солнечный свет).

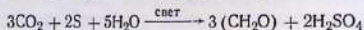
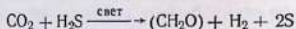
1. **Фотолитоавтотрофия** — тип питания, характерный для микроорганизмов, использующих энергию света для синтеза веществ клетки из CO_2 и неорганических соединений (H_2O , H_2S , S), то есть осуществляющих фотосинтез. К данной группе относятся цианобактерии, пурпурные серные бактерии и зеленые серные бактерии.

Цианобактерии, так же как зеленые растения, восстанавливают CO_2 до органического вещества фотохимическим путем с помощью водорода воды, то есть осуществляют реакцию:



Пурпурные серные бактерии (сем. Chromatiaceae) содержат бактериохлорофиллы *a* и *b*, обуславливающие способность их к фотосинтезу, и различные каротиноидные пигменты.

Пурпурные серные бактерии для восстановления CO_2 в органическое вещество используют водород, входящий в состав H_2S . При этом в их цитоплазме накапливается сера в виде гранул, которая затем окисляется до серной кислоты, то есть протекают следующие реакции:



Пурпурные серные бактерии в большинстве случаев являются облигатными анаэробами.

Зеленые серные бактерии (сем. Chlorobiaceae) содержат зеленые бактериохлорофиллы *c* и *d* и в небольшом количестве бактериохлорофилл *a*, а также различные каротиноиды. Как и пурпурные серные бактерии, они являются строгими анаэробами и способны окислять в процессе фотосинтеза серо-

* Символом (CH_2O) в приводимых уравнениях обозначено органическое вещество, уровень восстановленности которого соответствует углеводам.

водород, сульфиды и сульфиты, накапливая серу, которая в большинстве случаев окисляется до SO_4^{2-} .

2. *Фотоорганогетеротрофия* — тип питания, характерный для микроорганизмов, которые для получения энергии, помимо фотосинтеза, могут использовать еще и простые органические соединения. К этой группе относятся пурпурные несерные бактерии.

Пурпурные несерные бактерии (сем. Rhodospirillaceae) содержат бактериохлорофиллы а и в, а также различные каротиноиды. Они не способны окислять сероводород (H_2S), накапливать серу и выделять ее во внешнюю среду.

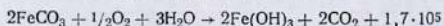
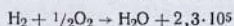
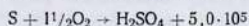
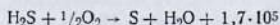
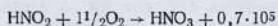
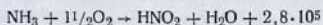
Хемотрофия (энергетический источник — неорганические и органические соединения).

1. *Хемолитоавтотрофия* — тип питания, характерный для микроорганизмов, получающих энергию при окислении неорганических соединений, таких как H_2 , NH_4^+ , NO_2^- , Fe^{2+} , H_2S , S^0 , SO_3^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, CO и др. Этот процесс называется хемосинтезом. Углерод для синтеза всех компонентов клеток хемолитоавтотрофы получают из углекислоты.

Явление хемосинтеза у микроорганизмов (железобактерий и нитрифицирующих бактерий) было открыто в 1887—1890 гг. известным русским микробиологом С. Н. Виноградским.

Хемолитоавтотрофия осуществляется нитрифицирующими бактериями (окисляющими аммиак или нитриты), серными бактериями (окисляющими сероводород, элементарную серу и некоторые простые неборганические соединения серы), бактериями, окисляющими водород до воды, железобактериями, способными окислять соединения двухвалентного железа, и т. д.

Представление о количестве энергии (в джоулях), получаемой при процессах хемолитоавтотрофии, вызываемых указанными бактериями, дают следующие реакции:



2. *Хемоорганогетеротрофия* — тип питания, характерный для микроорганизмов, получающих необходимую энергию и углерод из органических соединений. Сюда относятся многие аэробные и анаэробные микроорганизмы, обитающие в почвах и других субстратах.

Среди хемоорганогетеротрофов выделяют сапрофитов, живущих за счет мертвых органических материалов, и паразитов, растущих и развивающихся в тканях живых организмов. В последнем случае имеются в виду паратрофия и паратрофы, облигатные

внутриклеточные паразиты, которые вне клетки хозяина не растут (риккетсии и др.).

Считают, что из известных типов питания наиболее широко распространены в живом мире два типа — фотолитоавтотрофия и хемоорганогетеротрофия. Первый тип питания характерен для высших растений, водорослей и ряда бактерий, второй — для животных, грибов и многих микроорганизмов. Остальные типы питания присущи некоторым группам бактерий, живущим в особых, специфических условиях среды.

Для многих микроорганизмов установлена способность переходить с одного типа питания на другой. Например, водородокисляющие бактерии в соответствующих условиях (при наличии O_2 , на средах с углеводами или органическими кислотами) способны переключаться с хемолитоавтотрофии на хемоорганогетеротрофию. Поэтому их называют факультативными хемолитоавтотрофами. Микроорганизмы, которые не могут расти в отсутствие специфических неорганических доноров электронов (например, нитрифицирующие и некоторые другие бактерии), называются облигатными хемолитоавтотрофами.

У микроорганизмов отмечена и так называемая миксотрофия. Это такой тип питания, когда микроорганизм — миксотроф — одновременно использует свои различные возможности, например сразу окисляя органические и минеральные соединения, или источником углерода для него одновременно может служить углекислота и органическое вещество и т. д.

В природе широко распространены микроорганизмы, использующие для роста в качестве источников энергии и углерода одноуглеродные соединения (метан, метанол, формиат, метиламины и др.). Эти микроорганизмы называют C_1 -использующими формами, или метилотрофами, а тип питания — метилотрофией.

Метилотрофные бактерии подразделяют на облигатные и факультативные. Первые способны расти в результате использования только одноуглеродных соединений, а вторые растут на средах и с другими веществами. К метилотрофам относятся микроорганизмы разных систематических групп.

Глава 7

МЕТАБОЛИЗМ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПОНЯТИЕ О КАТАБОЛИЗМЕ И БИОСИНТЕЗЕ

Попав внутрь клетки микроорганизма, питательное вещество участвует во множестве разнообразных химических реакций. Эти реакции, а также все остальные химические проявления жизнедеятельности микроорганизмов носят общее название метаболизма (обмена веществ). Метаболизм включает в себя две группы жизненно важных процессов — катаболизм и биосинтез.

Катаболизм (энергетический обмен) — это процессы расщепления пищевых веществ — углеводов, жиров и белков, которые происходят в основном за счет реакций окисления, в результате чего выделяется энергия. У микроорганизмов различают две основные формы катаболизма — аэробное дыхание и брожение. При аэробном дыхании осуществляется полное разрушение органических веществ с выходом большого количества энергии и образованием бедных энергией конечных продуктов (CO_2 и H_2O). При брожении происходит неполный распад органических веществ с высвобождением незначительного количества энергии и накоплением богатых энергией конечных продуктов (этилового спирта, молочной, масляной и других кислот). Высвобождающаяся при катаболизме органических веществ свободная энергия аккумулируется в форме энергии фосфатных связей аденозинтрифосфата (АТФ).

Биосинтез (конструктивный обмен) объединяет процессы синтеза макромолекул клетки (нуклеиновых кислот, белков, полисахаридов и т. д.) из более простых соединений, присутствующих в окружающей среде. Процессы биосинтеза связаны с потреблением свободной энергии, которая вырабатывается в результате аэробного дыхания или брожения (или при фотосинтезе, или хемосинтезе) и поставляется в форме АТФ. Катаболизм и биосинтез протекают одновременно, многие реакции и промежуточные продукты являются для них общими.

ФЕРМЕНТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Более глубокое понимание процессов метаболизма микроорганизмов вряд ли возможно без предварительного знакомства с ролью и значением ферментов.

Ферменты — биологические катализаторы. Они катализируют тысячи химических реакций, из которых складывается метаболизм микроорганизма. В настоящее время известно около двух тысяч ферментов.

Ферменты представляют собой белки с молекулярной массой от 10 000 до нескольких миллионов. Название ферменту дается по веществу, на которое он действует с изменением окончания на «аза». Например, целлюлаза катализирует гидролиз целлюлозы до целлобиозы, уреазы катализирует гидролиз мочевины (*urea*) до аммиака и CO_2 и т. п. Однако чаще фермент получает название, которое указывает на природу катализируемой им химической реакции.

Современная классификация ферментов также строится с учетом природы катализируемых ими реакций. Согласно разработанной комиссией по ферментам Международного биохимического союза классификации, они подразделяются на шесть главных классов.

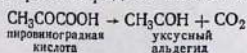
Оксидоредуктазы — это ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Они играют большую роль в процессах биологического получения энергии. К ним относятся де-

гидрогеназы (НАД, НАДФ, ФАД), цитохромы (b , c , c_1 , a , a_3) — ферменты, участвующие в переносе водорода, электронов и кислорода, и др.

Трансферазы катализируют перенос отдельных радикалов, частей молекул или целых атомных группировок от одних соединений к другим. Например, ацетилтрансферазы переносят остатки уксусной кислоты — CH_3CO , а также молекул жирных кислот; фосфотрансферазы, или киназы, обуславливают перенос остатков фосфорной кислоты $\text{H}_2\text{PO}_3^{2-}$. Известны многие другие трансферазы (аминотрансферазы, фосфорилазы и т. д.).

Гидролазы катализируют реакции расщепления и синтеза таких сложных соединений, как белки, жиры и углеводы, с участием воды. К этому классу относятся протеолитические ферменты (или пептидгидролазы), действующие на белки или пептиды; гидролазы глюкозидов, осуществляющие каталитическое расщепление углеводов и глюкозидов (β -фруктофуранозидаза, α -глюкозидаза, α - и β -амилаза, β -галактозидаза и др.); эстеразы, катализирующие расщепление и синтез сложных эфиров (липазы, фосфатазы).

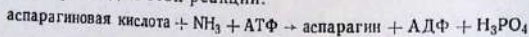
Лиазы включают в себя ферменты, катализирующие отщепление от субстратов определенных химических групп с образованием двойных связей или присоединение отдельных групп или радикалов к двойным связям. Так, пируватдекарбоксилаза катализирует отщепление CO_2 от пировиноградной кислоты:



К лиазам относится также фермент альдолаза, расщепляющий шестуглеродную молекулу фруктозо-1,6-дифосфата на два трехуглеродных соединения. Альдолаза имеет большое значение в процессе обмена веществ.

Изомеразы осуществляют превращение органических соединений в их изомеры. При изомеризации происходит внутримолекулярное перемещение атомов, атомных группировок, различных радикалов и т. п. Изомеризации подвергаются углеводы и их производные, органические кислоты, аминокислоты и т. д. Ферменты этой группы играют большую роль в ряде процессов метаболизма. К ним относятся триозофосфатизомераза, глюкозофосфатизомераза и др.

Лигазы катализируют синтез сложных органических соединений из простых. Например, аспарагинсинтетаза осуществляет синтез амида аспарагина из аспарагиновой кислоты и аммиака с обязательным участием аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), дающей энергию для этой реакции:



К группе лигаз относятся также карбоксилазы, катализирующие присоединение CO_2 к различным органическим кислотам. Например, фермент пируваткарбоксилаза катализирует синтез щавелевоуксусной кислоты из пировиноградной и CO_2 .

В соответствии со строением ферменты делятся на два больших класса: 1) представляющие собой простые белки, 2) являющиеся сложными белками. К первому классу относятся гидролитические ферменты, ко второму, более многочисленному классу, — ферменты, осуществляющие функции окисления и участвующие в реакциях переноса различных химических групп. Ферменты второго класса, кроме белковой части, называемой апоферментом, имеют и небелковую группу, определяющую активность фермента, — кофактор. В отдельности эти части (белковая и небелковая) лишены ферментативной активности. Они приобретают характерные свойства ферментов только после соединения. Комплекс апофермента с кофактором называется холоферментом.

Кофакторами могут быть либо ионы металлов (Fe, Cu, Co, Zn, Mo и др.), либо сложные органические соединения, называемые коферментами, либо те и другие. Коферменты обычно играют роль промежуточных переносчиков электронов, атомов, групп, которые в результате ферментативной реакции перемещаются с одного соединения на другое. Некоторые коферменты прочно связаны с ферментным белком; их называют протетической группой фермента. Многие коферменты или идентичны определенным витаминам группы В, или являются их производными.

К коферментам относятся, например, активные группы дегидрогеназ — никотинамидадениндинуклеотид (НАД) или никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ). В эти коферменты входит никотиновая кислота — один из витаминов группы В. Витамины имеются в составе и других коферментов. Так, тиамин (витамин В₁) входит в состав тиаминпирофосфокиназы, участвующей в обмене пировиноградной кислоты, пантотеновая кислота является составной частью кофермента А, а рибофлавин (витамин В₂) представляет собой протетическую группу флавопротенновых ферментов. Важное значение витаминов в питании живых организмов обусловлено именно тем, что они находятся в составе коферментов.

По современным представлениям, ферменты ускоряют химические реакции, понижая свободную энергию активации (количество энергии, необходимое для перевода при данной температуре всех молекул одного моля вещества в активированное состояние).

Главное свойство ферментов, отличающее их от других катализаторов, — это специфичность катализируемых ими ферментативных реакций. Каждый фермент катализирует только одну определенную реакцию.

В связи с высокой специфичностью ферментативных реакций полагают, что участок молекулы фермента, называемый каталитическим центром, к которому присоединяется молекула субстрата, обладает определенной пространственной конфигурацией, которая «впору» лишь молекуле субстрата и не соответствует никаким другим молекулам.

Активность ферментов зависит от различных факторов: оптимальной концентрации фермента и субстрата, температуры, рН и др. Для каждого фермента существует свой оптимум температуры и рН. Многие ферментативные реакции обратимы, хотя активность фермента редко бывает одинаковой в обоих направлениях.

Несмотря на незначительные размеры, каждая клетка микроорганизма может производить множество отличных друг от друга ферментов, обладающих различными функциями. Обычно ферменты, участвующие в метаболизме, содержатся в клетке микроорганизма и поэтому называются внутриклеточными ферментами, или эндоферментами. Некоторые ферменты выделяются клетками микроорганизмов в окружающую среду и называются внеклеточными ферментами, или экзоферментами. Как правило, во внешнюю среду выделяются гидролитические ферменты, разлагающие соединения с большой молекулярной массой, которые не могут проникнуть в клетку микроорганизма. Продукты же разложения легко поглощаются клеткой и используются ею в качестве питательных веществ.

Ферменты играют значительную роль в питании микроорганизмов. Большое число разнообразных ферментов, синтезируемых клетками микроорганизмов, позволяет им использовать для питания многочисленные соединения (углеводы, белки, жиры, воски, нефть, парафины и т. д.) путем их расщепления.

В этом заключается огромная роль микроорганизмов как участников круговорота веществ в природе.

АККУМУЛЯЦИЯ ЭНЕРГИИ В КЛЕТКАХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Установлено, что микробная клетка запасается энергией в форме соединений, обладающих так называемыми макроэргическими связями. При гидролитическом расщеплении макроэргических связей энергия освобождается и может быть использована для биосинтетических реакций.

В качестве аккумуляторов и переносчиков энергии большое значение имеет ряд соединений — аденозинтрифосфат (АТФ), аденозиндифосфат (АДФ), цитозинтрифосфат (ЦТФ), уридинтрифосфат (УТФ), гуанозинтрифосфат (ГТФ), креатинфосфат, ацетилфосфат и другие соединения. К одному из важнейших переносчиков энергии относится АТФ.

Образование АТФ идет с расходом энергии. Эта реакция может происходить только в том случае, если она объединяется энергетически полезными реакциями: АТФ образуется в результате двух различных процессов клеточного метаболизма — субстратного фосфорилирования и транспорта электронов, которые будут рассмотрены ниже.

Энергетически богатые связи (макроэргические фосфатные связи) обозначаются символом $\sim\text{PO}_4$. Отщепление конечного фосфа

та сопровождается выделением $3,4 \cdot 10^4$ — $5,0 \cdot 10^4$ Дж вместо $1,3 \cdot 10^4$ Дж, выделяемых при разрыве обычных химических связей.

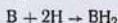
Таким образом, образование АТФ-соединений с макроэргическими связями представляет собой основной механизм, благодаря которому в клетках микроорганизмов запасается и сохраняется некоторое количество энергии, расходуемой по мере надобности для биосинтеза разнообразных соединений, необходимых для жизни.

ОКИСЛЕНИЕ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Биологическое окисление начали изучать в 1780 г., когда французский ученый А. Л. Лавуазье обнаружил, что животные поглощают кислород из воздуха и выделяют CO_2 . Этот процесс биологического окисления получил название дыхания. Он свойствен и высшим растениям. С того времени окислением стали называть процесс соединения вещества с кислородом, а восстановлением — процесс отщепления кислорода от вещества.

В настоящее время окислением принято считать процесс отнятия двух атомов водорода, что равносильно удалению двух электронов и двух протонов. Этот процесс носит название дегидрирования. В противоположность этому процессу, восстановление того или иного соединения представляет собой присоединение двух атомов водорода (двух электронов и двух протонов). Данный процесс называется гидрированием.

Окисление может быть представлено следующим образом:



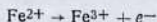
Сумма этих двух реакций показывает окисление AH_2 с помощью В:



В этой реакции AH_2 — восстановитель, или донор водорода, а В — окислитель, или акцептор водорода.

Понятие окисления применяется и к реакциям, связанным только с переносом электронов.

Процесс, в котором атомы или молекулы теряют электроны (e^-), называется окислением, а обратный процесс — присоединение электронов — восстановлением. Например, превращение закисного железа в окисное происходит с потерей электрона и представляет собой реакцию окисления:



Ни электроны, ни атомы водорода не могут накапливаться в среде как таковые. Они должны быть акцептированы каким-либо

3. Типы энергетических процессов, свойственные микроорганизмам

Донор водорода	Акцептор водорода	
	неорганический (O ₂)	органический
Неорганический	Дыхание	Не встречается
Органический	Дыхание	Брожение

другим химическим соединением. Поэтому каждое окисление обязательно сопровождается восстановлением.

Переносчиками водорода в реакциях биологического окисления и восстановления являются главным образом два пиридиновых нуклеотида (коферменты анаэробных дегидрогеназ) — никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотид-фосфат (НАДФ). Отнимая водород от окисляемого субстрата, они переходят в восстановленную форму (НАД·H₂ и НАДФ·H₂) и переносят водород на другой акцептор. НАД·H₂ передает водород главным образом на промежуточные продукты брожения или в дыхательную цепь, а НАДФ·H₂ участвует преимущественно в реакциях биосинтеза различных веществ, которые входят в состав клетки микроорганизма.

Известно большое число окислительно-восстановительных реакций, проводимых микроорганизмами. У микроскопических существ имеются механизмы для использования большого разнообразия окислительно-восстановительных процессов в качестве источников энергии. Классификация энергетических процессов по природе окислителя и восстановителя приведена в таблице 3.

БРОЖЕНИЕ

Брожение — это окислительно-восстановительный процесс, приводящий к образованию АТФ, при котором роль донора и акцептора атомов водорода (или соответствующих им электронов) играют обычно органические соединения, образуемые в ходе самого брожения. Следовательно, брожение представляет собой как бы внутренний окислительно-восстановительный процесс. При брожении субстрат разлагается до конечных продуктов, причем суммарная степень окисления продуктов брожения такая же, как и степень окисления сбраживаемых веществ. Необходимость точного окислительно-восстановительного равновесия обуславливает ограничение соединений, которые могут подвергаться брожению, — такие соединения не должны быть не очень восстановленными, не очень окисленными. Чаще всего в процессах брожения микроорганизмы используют углеводы, а также некоторые другие вещества (органические кислоты, аминокислоты, пурины и пиримидины). Образование АТФ при брожении происходит путем субстратного фосфорилирования.

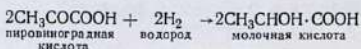
Процесс брожения вызывается облигатными анаэробами и может осуществляться только в строго анаэробных условиях. Как установил в 1860 г. Л. Пастер, брожение — это жизнь без кислорода. Согласно современным представлениям, живые организмы возникли в то время, когда кислорода в атмосфере Земли не было, а поэтому брожение необходимо рассматривать как простейшую форму биологического окисления, которое обеспечивает получение необходимой для жизни энергии из питательных веществ в анаэробных условиях.

В настоящее время известно много типов брожения. Каждый тип вызывается особой группой микроорганизмов и дает специфические конечные продукты. Многие виды брожения имеют важное значение в народном хозяйстве.

Любое брожение схематично может быть рассмотрено как процесс, проходящий в две стадии. Первая стадия (превращение глюкозы в пировиноградную кислоту) включает разрыв углеродной цепи глюкозы и отщепление двух пар атомов водорода. Это окислительная часть брожения, она может быть изображена следующим образом:



Во второй (восстановительной) стадии атомы водорода используются для восстановления пировиноградной кислоты или образванных из нее соединений. Например, при молочнокислом брожении пировиноградная кислота восстанавливается в молочную кислоту:

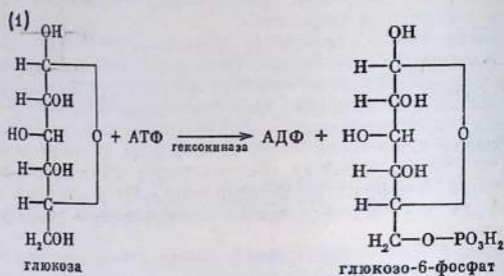


При других бродильных процессах (спиртовом, маслянокислом и т. д.) вторая стадия протекает иначе, что будет разобрано ниже.

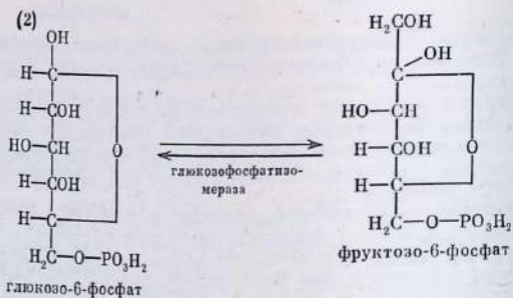
Процесс образования пировиноградной кислоты из углеводов совершается как серия последовательных реакций. Это катаболические реакции, общие для брожения и аэробного дыхания. У микроорганизмов известны три пути образования пировиноградной кислоты из углеводов.

Первый путь был впервые обнаружен у дрожжей и в мышцах животных, а затем — у бактерий; он присущ облигатным и факультативным анаэробам. Этот путь известен как путь Эмбдена — Мейергофа — Парнаса, или фруктозодифосфатный путь; его называют также гликолизом. Второй путь известен как пентозофосфатный. Он осуществляется у многих микроорганизмов — прокариот и эукариот. Третий путь называется путем Энтнера — Дудорова, он найден только у некоторых групп микроорганизмов, в основном у аэробных бактерий.

Путь Эмбдена — Мейергофа — Парнаса, или гликолиз, состоит из ряда реакций, каждая из которых катализируется специфическими ферментами. Гликолитические реакции в микробной клетке начинаются с фосфорилирования глюкозы (в форме фосфата сахара более реакционноспособны). При этом происходит взаимодействие глюкозы с АТФ под влиянием фермента гексокиназы в результате чего образуется глюкозо-6-фосфат (фосфатная группа присоединяется к шестому атому углерода) и АДФ. От АТФ переносится только концевая фосфатная группа и остается аденозиндифосфат:

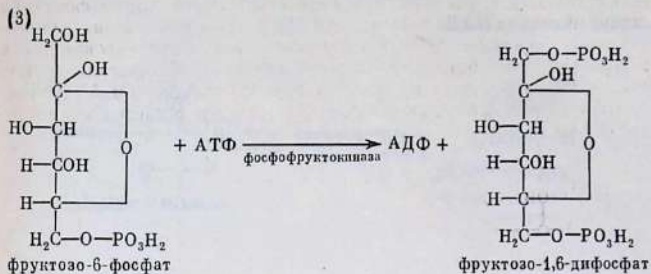


Глюкозо-6-фосфат под влиянием фермента глюкозофосфатизомеразы превращается в фруктозо-6-фосфат:

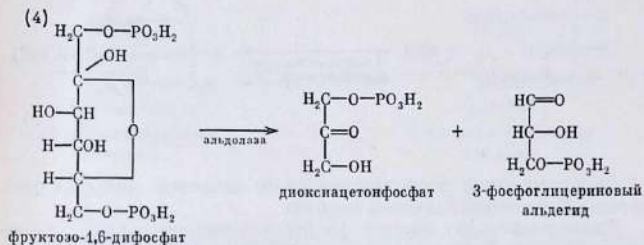


На образовавшийся фруктозо-6-фосфат, на первый атом углерода, ферментом фосфофруктокиназой переносится от АТФ вторая фосфатная группа (снова происходит фосфорилирование). Об

зуется фруктозо-1,6-дифосфат (фруктоза с фосфатными группами при первом и шестом атомах углерода):



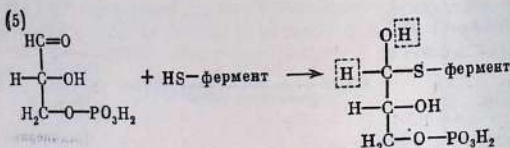
Следующей ступенькой является разрыв фруктозо-1,6-дифосфата ферментом альдолазой на два трехуглеродных сахара: 3-фосфоглицериновый альдегид и диоксиацетонфосфат, которые могут превращаться друг в друга под влиянием фермента триозофосфатизомеразы.



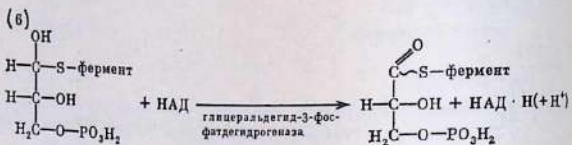
В связи с тем, что диоксиацетонфосфат подвергается превращению в 3-фосфоглицериновый альдегид, в дальнейших реакциях участвуют две молекулы 3-фосфоглицеринового альдегида.

В дальнейшем происходит окисление 3-фосфоглицеринового альдегида. Оно катализируется ферментом глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой. Этот фермент представляет собой белок, который отличается необычно высоким содержанием активных сульфгидрильных групп —SH. Фермент связан с коферментом никотинамидадениндинуклеотидом (НАД⁺). Вначале осуществляется связывание альдегидной группы 3-фосфоглицеринового аль-

дегида с SH-группой глицеральдегид-3-фосфатдеhydroгеназы. При этом образуется группировка $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$, способная отдавать электронную пару в молекуле НАД:

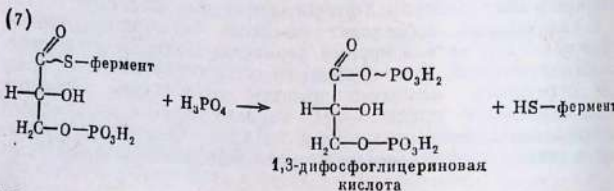


Затем наступает дегидрирование фосфоглицеринового альдегида, когда два атома водорода отщепляются от 3-фосфоглицеринового альдегида и переносятся на связанный с ферментом НАД:

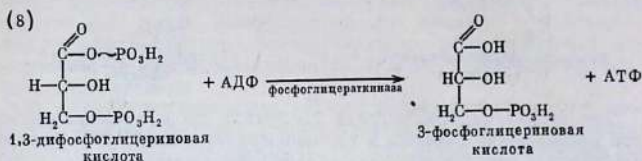


Дегидрирование фосфоглицеринового альдегида является окислительной реакцией, дающей энергию.

Далее происходит перенос фосфоглицеринового альдегида вместе с макроэргической связью на фосфорную кислоту, в результате чего образуется 1,3-дифосфоглицериновая кислота с макроэргической связью и свободный HS-фермент:



Фосфатная группа при первом углеродном атоме в цепи присоединена макроэргической связью и может реагировать под действием фосфоглицераткиназы с АДФ с образованием АТФ:

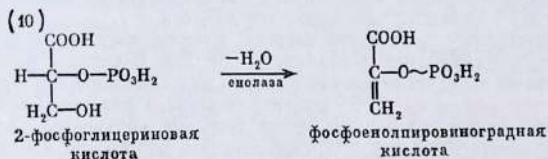


Таким образом, на данном этапе осуществляется фосфорилирование на уровне субстрата.

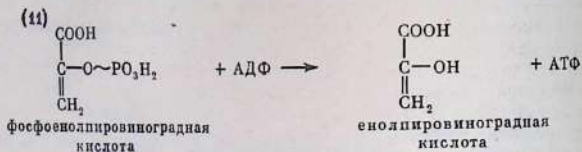
Затем 3-фосфоглицериновая кислота подвергается перестройке под влиянием фосфоглицеромутазы и изомеризуется в 2-фосфоглицериновую кислоту:



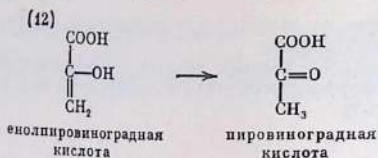
После этого при отщеплении молекулы воды (дегидратации) с участием фермента енолазы из 2-фосфоглицериновой кислоты образуется фосфоенолпировиноградная кислота, обладающая макроэргической связью:



Фосфоенолпировиноградная кислота под влиянием пируваткиназы отдает свою фосфатную группу и запас энергии молекуле АДФ с образованием АТФ и енолпировиноградной кислоты:



Это вторая макроэргическая фосфатная связь, образовавшаяся при превращении глюкозы в пировиноградную кислоту. Енолпировиноградная кислота самопроизвольно превращается в более устойчивую форму — пировиноградную кислоту:



При гликолизе атомы водорода, освобождающиеся при сбраживании углевода, не попадают непосредственно на конечный акцептор, а переносятся на НАД; всего образуется две молекулы НАД·Н. Так как НАД присутствует в клетке в очень небольших количествах, брожение может продолжаться, если восстановленный НАД·Н снова окисляется. Последнее происходит во второй стадии брожения, к которой восстановленный НАД·Н переносит атом водорода к конечному акцептору водорода. Как указывалось выше, НАД играет роль переносчика водорода почти во всех брожениях.

При трансформации глюкозы в пировиноградную кислоту по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса выделяется свободная энергия, достаточная для образования четырех молекул АТФ: при окислении фосфоглицеринового альдегида — 2 АТФ и дегидратированной 2-фосфоглицериновой кислоты — 2 АТФ. Следовательно, образуется четыре молекулы АТФ. Однако две из них требуются для превращения глюкозы в фруктозо-1,6-дифосфат, и только две молекулы АТФ остаются для процессов синтеза.

Максимальное количество энергии, которое получает организм в результате гликолиза, составляет $2 \cdot 10^5$ Дж. В связи с тем, что в расчете на каждую молекулу глюкозы при гликолизе образуется только две молекулы АТФ, микроорганизмы в анаэробных условиях вынуждены сбраживать очень большие количества сахара, чтобы обеспечить себя необходимой энергией для биосинтетических

процессов. Вся ферментная система гликолиза локализуется в цитозоле клетки.

Пентозофосфатный путь отличается от пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса тем, что не приводит непосредственно к образованию пировиноградной кислоты. В ходе пентозофосфатного пути происходит только окисление одного из углеродных атомов субстрата, который освобождается в форме CO_2 . Первая реакция представляет собой фосфорилирование глюкозы с образованием глюкозо-6-фосфата с последующим его дегидрированием, сопряженным с восстановлением НАДФ и образованием 6-фосфоглюконовой кислоты.

Затем 6-фосфоглюконовая кислота подвергается окислительно-му декарбоксилированию, которое приводит к образованию пентозофосфата *D*-рибулозо-5-фосфата. Из него путем изомеризации образуются *D*-ксилулозо-5-фосфат и рибозо-5-фосфат. В дальнейшем образовавшиеся *D*-рибулозо-5-фосфат и *D*-ксилулозо-5-фосфат включаются в ряд транскетолазных реакций (перенос ферментом транскетолазой гликоальдегидной группы $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CO}-$) и трансальдолазных реакций (перенос ферментом трансальдолазой трехуглеродной диоксиацетонной группы $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CO}-\text{CHOH}-$) и происходит обратное превращение в глюкозо-6-фосфат. Следовательно, пентозофосфатный путь является циклическим. Считают, однако, что гораздо чаще пентозофосфатный путь на одном из этапов переходит в путь Эмбдена — Мейергофа — Парнаса.

В результате прохождения шести молекул глюкозы через пентозофосфатный цикл происходит полное окисление одной молекулы глюкозо-6-фосфата до CO_2 и восстановление шести молекул НАДФ^+ в $\text{НАДФ}\cdot\text{H}$.

Основное назначение пентозофосфатного пути состоит в следующем: 1) он поставляет пентозы (главным образом рибозо-5-фосфат), необходимые для синтеза нуклеиновых кислот, и 2) обеспечивает образование большей части $\text{НАДФ}\cdot\text{H}$, необходимого микробной клетке для различных биосинтетических реакций (синтеза жирных кислот, стероидов и т. д.).

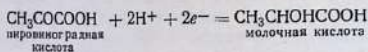
Превращение глюкозы в пировиноградную кислоту может быть осуществлено также путем Энтнера — Дудорова. Сначала глюкоза фосфорилируется молекулой АТФ при участии фермента гексокиназы. Продукт фосфорилирования глюкозо-6-фосфат окисляется в 6-фосфоглюконовую кислоту, которая дегидрируется и превращается в 2-кето-3-дезоксиглюконовую кислоту (КДФГ). Последняя расщепляется альдолазой на пировиноградную кислоту и 3-фосфоглицериновый альдегид, который далее подвергается действию ферментов пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса и трансформируется во вторую молекулу пировиноградной кислоты. При расщеплении глюкозы путем Энтнера — Дудорова образуется одна молекула АТФ и две молекулы $\text{НАДФ}\cdot\text{H}$.

У бактерий, расщепляющих глюкозу путем Энтнера — Дудорова, отсутствуют ферменты, необходимые для образования из пировиноградной кислоты молочной и других кислот. Путь Энт-

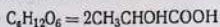
нера — Дудорова отмечен главным образом у аэробных микроорганизмов.

Неизбежным промежуточным продуктом при превращении сахара по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса является пировиноградная кислота. В дальнейшем при серии последовательных реакций она претерпевает превращения, характер которых зависит от ферментативных особенностей того или иного возбудителя брожения.

Можно привести примеры, поясняющие это. Выше было указано, что в молочнокислом брожении, вызываемом некоторыми бактериями, пировиноградная кислота восстанавливается в молочную кислоту. Транспорт водорода осуществляется в данном случае восстановленным НАД:

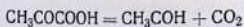


Если пировиноградная кислота образуется путем Эмбдена — Мейергофа — Парнаса, молочная кислота является единственным продуктом брожения. Суммарно это брожение можно записать:

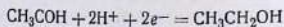


В этих двух примерах реакций пировиноградная кислота служит только акцептором для атомов водорода, выделяющихся при окислении фосфоглицеринового альдегида (реакция б).

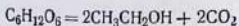
Перейдем к спиртовому брожению, вызываемому дрожжами и протекающему по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса. Сахар превращается при этом в этиловый спирт и углекислоту. Клетки дрожжей содержат пируватдекарбоксилазу, которая катализирует следующую реакцию:



Этиловый спирт получается при восстановлении уксусного альдегида восстановленным НАД·Н, образовавшимся при окислении фосфоглицеринового альдегида. Другими словами, в этом брожении уксусный альдегид служит конечным акцептором водорода:



Общее уравнение спиртового брожения может быть представлено в следующем виде:



Молочнокислое и спиртовое брожения — широко распространенные бродильные процессы. Однако имеется много других типов брожений, которые отличаются друг от друга составом конечных продуктов. Среди них могут быть различные органические кислоты, спирты, CO_2 и газообразный водород. При некоторых брожениях во время протекания второй стадии образуется свободная энергия, что увеличивает запас АТФ в клетке.

ДЫХАНИЕ

Дыхание — это окислительно-восстановительный процесс, идущий с образованием АТФ, при котором роль доноров водорода (электронов) играют органические или неорганические соединения, а акцепторами водорода (электронов) всегда служат неорганические соединения. Если конечным акцептором электронов является молекулярный кислород, то такой дыхательный процесс называется аэробным дыханием.

У некоторых микроорганизмов конечный акцептор электронов не молекулярный кислород, а неорганические соединения, такие как нитраты, сульфаты и карбонаты. При этом имеет место анаэробное дыхание.

Аэробное дыхание присуще многим микроорганизмам, они относятся к строгим аэробам. Однако среди этих организмов имеются факультативные анаэробы, которые могут расти и в присутствии и в отсутствии кислорода; они образуют АТФ путем брожения, а под действием молекулярного кислорода способ получения АТФ изменяется — вместо брожения начинает осуществляться дыхание.

К факультативным анаэробам относятся также микроорганизмы, у которых происходит анаэробное дыхание при использовании ими нитратов в качестве акцептора электронов. Микроорганизмы, осуществляющие анаэробное дыхание, при котором акцепторами электронов служат сульфаты и карбонаты, являются строгими анаэробами. Считают, что любые природные органические соединения микроорганизмы могут использовать в дыхательном процессе, однако степень окисления этих веществ должна быть меньше, чем степень окисления CO_2 .

Аэробное дыхание состоит из двух фаз. Первая фаза включает в себя серию реакций, благодаря которым органический субстрат окисляется до CO_2 , а освобождающиеся атомы водорода перемещаются к акцепторам. В этой фазе совершается цикл реакций, известный под названием цикла Кребса, или цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). Вторая фаза представляет собой окисление освобождающихся атомов водорода кислородом с образованием АТФ. Обе фазы совместно ведут к окислению субстрата до CO_2 и H_2O и образованию биологически полезной энергии (в виде АТФ и других соединений).

Кратко разберем цепь реакций при протекании цикла Кребса (рис. 22). Первичный распад углевода здесь идет так же, как при брожении, но образовавшаяся пировиноградная кислота подвергается иным превращениям. При декарбоксилировании из нее образуется уксусный альдегид (или уксусная кислота), который соединяется с коферментом одного из окислительных ферментов — коферментом А (CoA-SH), образуя ацетилкофермент А. Под действием фермента цитратсинтазы двууглеродный ацетил- CoA ($\text{CH}_3\text{CO-S-CoA}$) реагирует с молекулой щавелевоуксусной кислоты, содержащей четыре атома углерода, в результате чего полу-

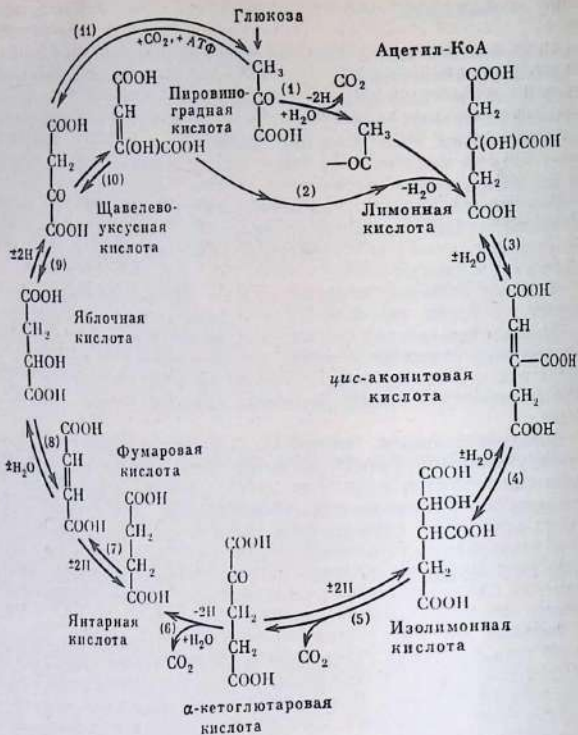
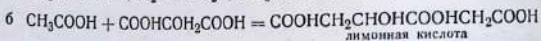
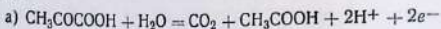


Рис. 22. Схема цикла Кребса:

(1), (6) — система окислительного декарбоксилирования; (2) — цитрат-синтаза; кофермент А; (3), (4) — аконитат-гидратаза; (5) — изоцитратдегидрогеназа; (7) — сукцинатдегидрогеназа; (8) — фумарат-гидратаза; (9) — малатдегидрогеназа; (10) — спонтанное превращение; (11) — пируваткарбоксилаза (по В. Л. Кротовичу).

зается соединение с шестью атомами углерода — лимонная кислота:

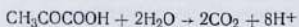


Лимонная кислота под влиянием фермента аконитазы теряет молекулу воды и превращается в *цис*-аконитовую кислоту, которая под действием того же фермента присоединяет H_2O и превращается в изолимонную кислоту.

При воздействии изоцитратдегидрогеназы, активной группой которой является НАДФ, от изолимонной кислоты отщепляются два атома водорода, в результате чего она превращается в щавелевоянтарную кислоту, от которой, в свою очередь, под действием фермента декарбоксилазы отщепляется углекислый газ (CO_2). В образовавшейся α -кетоглутаровой кислоте число атомов углерода становится равным пяти. α -кетоглутаровая кислота под влиянием ферментного комплекса α -кетоглутаратдегидрогеназы с активной группой НАД превращается в янтарную, теряя CO_2 и два атома водорода. Затем следуют реакции окисления янтарной кислоты в фумаровую с помощью фермента сукцинатдегидрогеназы с активной группой ФАД, превращения фумаровой кислоты в яблочную при участии фумаратгидратазы (фумаразы) и окисления яблочной в щавелевоуксусную кислоту, катализируемого малатдегидрогеназой с активной группой НАД.

Эти превращения сопровождаются отщеплением двух пар атомов водорода. Щавелевоуксусная кислота взаимодействует с коферментом А, и цикл повторяется снова. Каждая из десяти реакций цикла трикарбоновых кислот (за исключением одной) легкообратима. Углеродные атомы ацетил-КоА освобождаются в виде двух молекул CO_2 . В реакциях ферментативного дегидрирования атомы водорода удаляются четырьмя разными дегидрогеназами. В трех из этих четырех реакций окисления атомы водорода присоединяются к НАД⁺ (или НАДФ⁺), и только в случае сукцинатдегидрогеназы они непосредственно переносятся на флавинадениндиноклеотид (ФАД). Кроме того, образуется одна молекула АТФ. В ходе описанных реакций в трансформируемые соединения может включаться вода. Ферменты ЦТК располагаются на внутренней стороне цитоплазматической мембраны или на мембранах мезосом микроорганизмов.

Суммарную реакцию цикла трикарбоновых кислот можно представить в виде следующего уравнения:



Отметим, что в цикле трикарбоновых кислот образуется также ряд промежуточных продуктов, играющих роль предшественников для реакции биосинтеза макромолекул микробной клетки. Поэтому большинство ферментов цикла Кребса имеется и у облигатных анаэробов (последние не имеют только фермента, катализирующего трансформацию α -кетоглутаровой кислоты в янтарную). В цикл Кребса вовлекаются и продукты катаболизма жирных кислот и некоторых аминокислот.

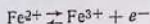
Следовательно, цикл трикарбоновых кислот имеет большое значение не только для дыхания, но и для биосинтеза. Это один из центральных механизмов, с помощью которого все источники углерода используются для синтеза необходимых для жизни микроорганизмов соединений. Собственно, в этом и заключается смысл цикла Кребса, дающего вещества, легко превращающиеся в ами-

нокислоты, белки, жиры, углеводы и т. д., которые затем становятся частью структуры клетки.

У некоторых микроорганизмов, усваивающих простые источники углерода, например уксусную кислоту, имеется модифицированная форма ЦТК, известная под названием глиоксилатного цикла (открыт Корнбергом и Кребсом в 1957 г.).

При всех реакциях дегидрирования в цикле Кребса атомы водорода, отщепляемые специфическими дегидрогеназами, акцептируются коферментами НАД и НАДФ и затем переносятся по цепи переносчиков. Однако фактически происходит перенос не атомов водорода, а только электронов. Ядра атомов водорода, по-видимому, свободно перемещаются по растворителю в виде протонов. Из-за этой причины цепь переносчиков часто называют цепью переноса электронов, или дыхательной цепью. Цепь переноса электронов содержит переносчики — молекулы трех различных групп, представляющие собой окислительно-восстановительные ферменты, такие как флавопротеиды, хиноны и цитохромы.

Флавопротеиды содержат в качестве простетических групп флавинадениндинуклеотид (ФАД) или флавиномононуклеотид (ФМН). Они передают электроны от восстановленных пиридиновых нуклеотидов к последующим переносчикам дыхательной цепи. Хинон (наиболее распространен убихинон или кофермент Q) представляет собой небелковые переносчики с небольшой молекулярной массой. Они являются промежуточными компонентами между флавопротеидами и цитохромами. Цитохромы содержат железопорфириновые простетические группы и напоминают гемоглобин и миоглобин. При переносе электронов цитохромами происходит обратимое окисление атома железа:



Электроны, отнятые от органического субстрата, переносятся последовательно через промежуточные переносчики — флавопротеид, убихинон (кофермент Q) и цитохромы, пока последний переносчик в восстановленном состоянии не прореагирует с молекулярным кислородом. Последняя реакция катализируется ферментом цитохромоксидазой. В итоге такого необратимого конечного окисления вся цепь переносчиков электронов переходит в окисленное состояние, а молекулярный кислород восстанавливается до H_2O .

При переносе электронов на отдельных участках дыхательной цепи выделяется значительное количество свободной энергии. Для того чтобы использовать освобождающуюся свободную энергию, в микробной клетке имеется механизм, объединяющий в единый процесс выделение энергии и образование богатых энергией фосфатных связей (АТФ). Этот процесс называется окислительным фосфорилированием.

Цепь переноса электронов при дыхании схематически изображена на рисунке 23.

Все аэробные и факультативно-анаэробные бактерии имеют дыхательную цепь, причем ферменты, катализирующие процессы

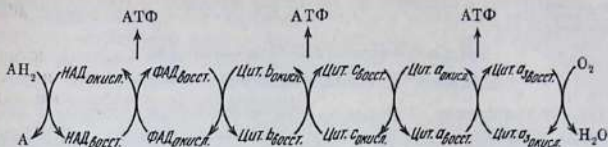


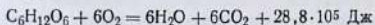
Рис. 23. Дыхательная цепь, или цепь переноса электронов:

А — субстрат; *b, c, a, a₃* — цитохромы.

переноса электронов в этой цепи и окислительного фосфорилирования, локализованы в цитоплазматической мембране и мезосомах.

Большинство анаэробных микроорганизмов не имеют цепи переноса электронов. Поэтому при наличии кислорода воздуха в среде происходит непосредственный транспорт водорода флавиновыми дегидрогеназами (ФД) на кислород, что приводит к образованию перекиси водорода H_2O_2 . Перекись водорода чрезвычайно токсична и должна быть удалена, что могут осуществить два фермента — каталаза и супероксиддисмутаза, однако они у анаэробных бактерий отсутствуют. В связи с этим одна из причин токсического действия кислорода на анаэробные микроорганизмы заключается в образовании и аккумуляции перекиси водорода в их клетках в летальных дозах.

В результате окислительного фосфорилирования большая часть энергии пировиноградной кислоты становится доступной для микроорганизмов. Суммарно полное окисление глюкозы можно выразить следующим уравнением:

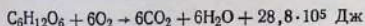
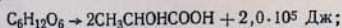


Рассмотрим выход энергии при дыхании. Определено, что полное окисление одного моля (180 г) глюкозы дает 38 молекул АТФ. Каждая связь АТФ равна приблизительно $3,4 \cdot 10^4$ Дж, а 38 молекул АТФ дают $12,9 \cdot 10^5$ Дж. При сжигании одного моля глюкозы в калориметре выделяется в виде тепла около $28,8 \cdot 10^5$ Дж. Превращение глюкозы в клетках микроорганизмов в форму, пригодную для использования (АТФ), сопровождается выделением $12,9 \cdot 10^5$ Дж, или 44,1% всей энергии. Следовательно, более 50% энергии, заключенной в глюкозе, рассеивается в виде тепла.

Таким образом, дыхание — это процесс, при котором электроны переносятся от органических веществ на молекулярный кислород, то есть при дыхании роль акцептора электронов играет кислород.

В отличие от дыхания брожение — процесс, при котором отщепляемые от органического вещества электроны передаются на органические же соединения, то есть при брожении роль акцептора электронов играет обычно какое-нибудь органическое соединение, образующееся в ходе этого процесса. При брожении высвобождается лишь очень незначительная часть той химической энергии, которая потенциально может быть извлечена из молекулы глюкозы при полном окислении ее до CO_2 и H_2O . В этом легко убедиться, сравнив количество выделившейся свободной энергии при анаэроб-

ном расщеплении глюкозы до молочной кислоты и при окислении ее до CO_2 и H_2O :



При сбраживании глюкозы продукты брожения, которые в анаэробных условиях уже не могут быть использованы микробной клеткой и потому выводятся из нее, все еще содержат значительную часть той энергии, которая была заключена в молекуле глюкозы. Поэтому для получения того же количества энергии микроорганизмам, находящимся в анаэробных условиях, приходится расходовать гораздо больше глюкозы, чем микроорганизмам, живущим в условиях аэробноза.

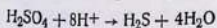
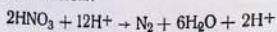
Как было указано выше, хемолитоавтотрофные бактерии получают свою энергию в результате окисления неорганических соединений — H_2 , NH_4^+ , NO_2^- , Fe^{2+} , H_2S , S^0 , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CO .

У этих бактерий метаболизм родствен метаболизму хемооргано-гетеротрофных организмов, но они обладают дополнительной способностью получать энергию за счет окисления того или иного неорганического соединения. В большинстве случаев эти бактерии имеют цепь переноса электронов, которая во многих отношениях сходна с соответствующей системой других аэробных микроорганизмов. Перенос электронов по этой цепи приводит к образованию АТФ.

Неполное окисление органических соединений. Дыхание обычно связано с полным окислением органического субстрата. Другими словами, конечными продуктами распада, например, углеводов являются только CO_2 и H_2O .

Некоторые бактерии, в частности представители рода *Pseudomonas* и ряд грибов, не полностью окисляют углеводы. При этом неполно окисленные органические соединения, такие как глюконовая, фумаровая, лимонная, молочная, уксусная кислоты и другие, аккумулируются в среде. Дыхание этих организмов иногда неправильно называют «аэробным», или «окислительным», брожением, в то время как неполное окисление имеет гораздо меньше общего с брожением, чем с обычным дыханием. Неполное окисление, например, протекает лишь в присутствии кислорода, а брожение кислорода не требует. С энергетической точки зрения неполное окисление — выгодный для микроорганизмов процесс.

Анаэробное дыхание. Некоторые микроорганизмы способны использовать для окисления органических или неорганических веществ не молекулярный, а связанный кислород окисленных соединений, например солей азотной, серной кислот, углекислоты, которые превращаются при этом в более восстановленные соединения. Данные процессы идут в анаэробных условиях, и их называют анаэробным дыханием:



Следовательно, эти микроорганизмы в качестве конечного акцептора электронов используют не кислород, а неорганические соединения, такие как нитраты, сульфаты и карбонаты. Различия между аэробным и анаэробным дыханием заключаются в природе конечного акцептора электронов.

Свойство микроорганизмов переносить электроны на нитраты, сульфаты и карбонаты обеспечивает в достаточной степени полное окисление органического или неорганического вещества без использования молекулярного кислорода и обуславливает возможность получения ими большего количества энергии, чем при процессе брожения. При анаэробном дыхании выход энергии только на 10% ниже, чем при аэробном. Микроорганизмы, для которых характерно анаэробное дыхание, имеют набор ферментов цепи переноса электронов, но цитохромоксидаза заменяется нитратредуктазой (в случае использования нитратов) или аденилсульфатредуктазой (в случае использования сульфатов).

Микроорганизмы, способные осуществлять анаэробное дыхание за счет нитратов,— факультативные анаэробы, они относятся главным образом к родам *Pseudomonas* и *Bacillus*. Микроорганизмы, использующие сульфаты в анаэробном дыхании, относятся к анаэробным и принадлежат к родам *Desulfovibrio*, *Desulfomonas* и *Desulfotomaculum*.

ФОТОСИНТЕЗ

Некоторым группам микроорганизмов (цианобактериям, пурпурным и зеленым бактериям) свойствен фотосинтез— способ образования АТФ, где в качестве источника энергии используется свет.

У растений, водорослей и цианобактерий донором электронов служит вода, кислород которой выделяется в окружающую среду. Такой фотосинтез называется кислородным.

Фотосинтезирующие бактерии не могут использовать воду в качестве донора электронов, и их фотосинтез никогда не идет с образованием кислорода. Донорами электронов для них служат H_2S , H_2 или органические соединения. Этот фотосинтез называют бескислородным.

Главный акцептор электронов у большинства фотосинтезирующих организмов— CO_2 , однако они могут использовать и нитрат, азот, ионы водорода. Процесс фотосинтеза идет в две стадии. Во время первой— под действием света происходит восстановление НАДФ и фосфорилирование АДФ, во второй стадии НАДФ·Н и АТФ используются для восстановления CO_2 до гексозы. Ассимиляция CO_2 высшими и низшими фотосинтезирующими организмами осуществляется через так называемый восстановительный цикл, или цикл Кальвина.

У фотосинтезирующих организмов АТФ образуется при переносе энергии света, поглощенного фотосинтетической пигментной системой. Этот процесс называется фотофосфорилированием, и он

аналогичен окислительному фосфорилированию у аэробных микроорганизмов, то есть АТФ также образуется при транспорте электронов через цепь их переноса.

Поскольку молекулярный кислород не участвует в реакции образования АТФ ни в одном из указанных типов фотосинтеза, то любой его тип может протекать в строго анаэробных условиях. Однако жизнедеятельность растений, водорослей и цианобактерий, которым присущ кислородный фотосинтез, осуществляется в присутствии кислорода. В то же время организмы с бескислородным фотосинтезом являются строгими анаэробами, а у факультативных аэробов фотосинтетическое образование АТФ подавляется кислородом и АТФ создается в процессе аэробного дыхания.

О БИОСИНТЕЗЕ НЕКОТОРЫХ ВЕЩЕСТВ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ

Катаболизму свойственны разнообразные пути, но он имеет только одну функцию — образование АТФ для обеспечения процессов биосинтеза органических веществ клетки. Основную часть органических веществ микробной клетки составляют макромолекулы, относящиеся к четырем классам, — нуклеиновые кислоты, белки, полисахариды и сложные липиды. Они представляют собой полимеры низкомолекулярных органических соединений, называемых предшественниками. Макромолекулы делят на классы в зависимости от того, какие низкомолекулярные органические соединения-предшественники полимеризуются при их синтезе: для нуклеиновых кислот — нуклеотиды, для белков — аминокислоты и для полисахаридов — моносахариды. Сложные липиды более разнообразны по своему составу — среди предшественников этих макромолекул имеются жирные кислоты, многоатомные спирты, простые сахара, амины и аминокислоты. Согласно имеющимся данным, для образования макромолекул четырех главных классов требуется около 70 низкомолекулярных органических соединений-предшественников.

Кроме предшественников макромолекул, микробной клетке необходимо синтезировать около 20 коферментов и переносчиков электронов, играющих важную каталитическую роль. Считают, что для образования новой микробной клетки нужно примерно 150 небольших молекул различных органических соединений. Эти небольшие молекулы, в свою очередь, синтезируются из еще меньшего числа основных промежуточных веществ, которые образуются в ходе катаболизма у хемоорганогетеротрофов или при использовании CO_2 хемолитоавтотрофами.

Наиболее важные из этих промежуточных продуктов — фосфорные эфиры сахаров, пировиноградная, уксусная, щавелевоуксусная, янтарная и α -кетоглутаровая кислоты, рибоза и некоторые другие.

Поставление промежуточных продуктов для биосинтеза (в частности, для биосинтеза аминокислот, углеводов и других соедине-

ний) происходит главным образом в результате цикла трикарбоновых кислот.

Биосинтез аминокислот и белков. Большинство микроорганизмов, за небольшим исключением, обладают способностью к синтезу всех аминокислот. Биосинтез аминокислот, являющийся первым этапом биосинтеза белка, представляет собой яркий пример тесной связи катаболизма и биосинтеза. Предшественниками для биосинтеза аминокислот служат промежуточные продукты ЦТК и пентозофосфатного цикла. Так, при включении в цикл трикарбоновых кислот пировиноградная кислота, трансформируясь в щавелевоуксусную и α -кетоглутаровую, дает начало аспарагиновой и глутаминовой кислотам, из которых впоследствии образуются аспарагин, глутамин, а затем треонин, изолейцин, метионин, лизин, аргинин и пролин.

В результате конденсации двух промежуточных продуктов пентозофосфатного цикла (эритрозо-4-фосфата) и гликолиза (фосфоенолпировиноградной кислоты), а также последующих реакций образуются ароматические аминокислоты — тирозин, фенилаланин и триптофан.

Микроорганизмы могут построить из промежуточных продуктов катаболизма углеводов только углеродные скелеты аминокислот. На последних этапах биосинтеза аминокислот в молекулу промежуточного продукта вводится при помощи реакций аминирования и переаминирования аминогруппа. Превращение неорганического азота в органический осуществляется через предварительное образование ионов аммония, которые затем включаются в состав органических веществ.

Ряд аминокислот (*L*-аланин, *L*-аспарагиновая и *L*-глутаминовая кислоты и амид-*L*-глутамин) образуется путем прямого аминирования. Они называются первичными аминокислотами. Остальные аминокислоты, называемые вторичными, синтезируются путем переаминирования, то есть в результате переноса аминогруппы от первичных аминокислот, которые служат донорами, на соответствующие кетокислоты, образующиеся в ходе реакций катаболизма.

Образовавшиеся аминокислоты идут на биосинтез белков клетки, специфичных для каждого вида микроорганизмов, который начинается с синтеза пептидной связи из свободных аминокислот. Для биосинтеза белка необходима предварительная химическая активация аминокислот, которая требует расхода энергии АТФ и заключается в присоединении аминокислоты к ферменту-переносчику.

Существует 20 таких ферментов, каждый из которых специфичен для данной аминокислоты. Последующая полимеризация происходит за счет переноса аминокислоты с фермента-переносчика на растущую белковую цепь. Клетка микроорганизма обладает способностью синтезировать несколько тысяч различных белков, каждый из которых содержит в среднем около 200 аминокислотных остатков, связанных между собой в определенной последовательности.

Биосинтез нуклеиновых кислот. В связи с тем, что рибо- и дезоксирибонуклеотиды служат прямыми предшественниками РНК, ДНК и нуклеотидных ферментов, биосинтез мононуклеотидов — жизненно важный процесс. Центральное звено биосинтеза мононуклеотидов — это синтез пуриновых и пиримидиновых оснований. Все микроорганизмы, за исключением некоторых видов бактерий, могут образовывать указанные основания из очень простых предшественников: аминокислот — глицина и аспарагиновой кислоты, а также инозиновой, адениловой, гуаниловой и уридиловой кислот. В синтезе мононуклеотидов, кроме того, участвуют фосфорная кислота и *D*-рибозо-5-фосфат, образующийся в результате пентозофосфатного пути превращения углеводов. В итоге синтезированные микроорганизмами мононуклеотиды полимеризуются специальными ферментами в ДНК и РНК.

Биосинтез углеводов. Биосинтез глюкозы и других углеводов из более простых соединений — один из самых важных биосинтетических процессов. Фотосинтезирующие организмы образуют гексозы из CO_2 и H_2O (или из CO_2 и H_2S , H_2), а гексозы, в свою очередь, трансформируются в крахмал, целлюлозу и другие полисахариды. В клетках хемоорганогетеротрофных организмов главным процессом метаболизма также является трансформация пировиноградной кислоты, аминокислот и других простых соединений в глюкозу и гликоген.

Как было показано, превращение глюкозы в пировиноградную кислоту, катализируемое ферментами гликолиза, — основной путь катаболизма углеводов в клетках анаэробных и аэробных микроорганизмов. Подобно этому обратный процесс, то есть превращение пировиноградной кислоты в глюкозу, — центральный путь биосинтеза моносахаридов и полисахаридов. В этот центральный биосинтетический путь вливаются два главных поддерживающих пути, которые начинаются с двух различных наборов простых, неуглеводных соединений. Один из них состоит из ряда реакций, которые обеспечивают превращение промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот в пировиноградную кислоту. Данный процесс имеет место у всех организмов и носит название глюконеогенеза. Второй путь состоит из реакций, которые обуславливают восстановление CO_2 до глюкозы. Этот путь отсутствует у хемоорганогетеротрофов и характерен главным образом для хемолитоавтотрофов и фотолитоавтотрофов.

Образующийся в центральном пути биосинтеза из двух молекул пировиноградной кислоты при затратах энергии АТФ глюкозо-6-фосфат обуславливает синтез целого ряда соединений — свободной глюкозы, крахмала, гликогена, дисахаридов, моносахаридов, компонентов клеточной стенки микроорганизмов (гликопептидов, тейхоевых кислот, липополисахаридов), запасных веществ клетки (гликоген, гранулеза и т. п.) и др.

Следует остановиться на особенностях синтеза углеводов и других органических веществ в клетке хемолитоавтотрофных микроорганизмов. Вызываемые ими процессы окисления неорганических

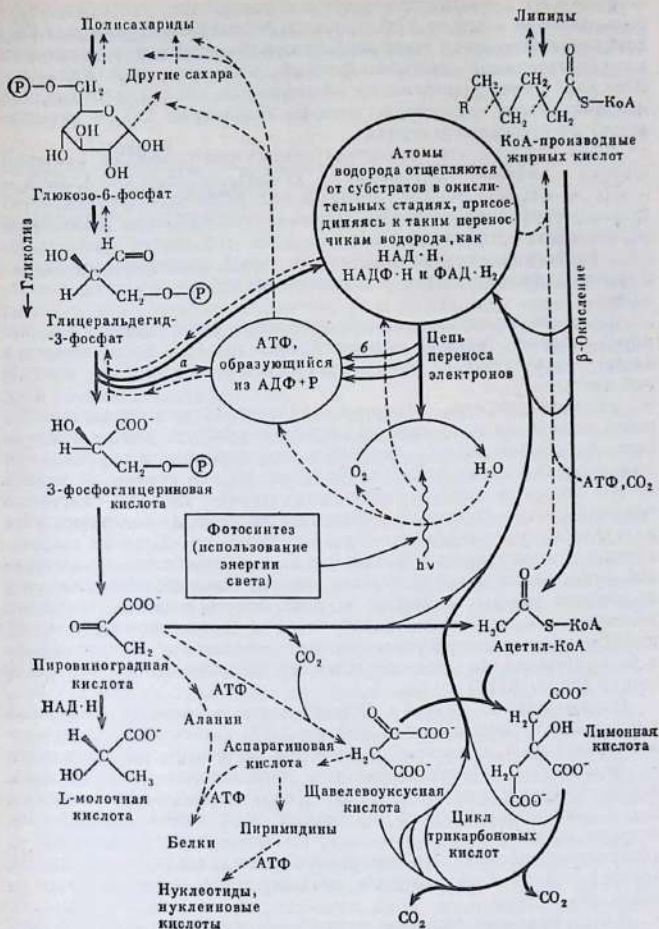


Рис. 24. Краткая схема некоторых метаболических путей. Жирными линиями показан ряд наиболее важных катаболических путей, штриховыми линиями — биосинтетические пути. Указано несколько пунктов синтеза и использования АТФ, а также несколько реакций, в которых образуются или используются восстановленные формы переносчиков водорода (НАД·Н, НАДФ·Н и ФАД·Н₂) (по Д. Мецлеру).

веществ идут с выделением энергии и позволяют микробам аккумуляровать ее в форме АТФ. Считают, что механизм усвоения CO_2 хемолитоавтотрофами такой же, как при фотосинтезе, то есть через восстановительный пентозофосфатный цикл, или цикл Кальвина. Этот цикл имеет универсальное значение как для эукариотных, так и прокариотных организмов, которые используют CO_2 в качестве основного источника углерода.

Было найдено, что в клетках хемолитоавтотрофных бактерий имеется рибулозо-1,5-дифосфат ($\text{PO}_3\text{H}_2 - \text{CH}_2\text{O} \cdot \text{CO} \cdot \text{CHOH} - \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2\text{O} - \text{PO}_3\text{H}_2$), который под действием фермента рибулозодифосфаткарбоксилазы ассимилирует CO_2 , что приводит к образованию фосфоглицериновой кислоты. Последняя превращается в фосфоглицериновый альдегид, который трансформируется во фруктозодифосфат, затем в глюкозо-6-фосфат и, наконец, в глюкозу.

Часть аккумулярованной при окислении неорганических соединений энергии тратится на восстановление CO_2 до глюкозы, а часть — расходуется на синтез органических соединений микробной клетки.

Биосинтез липидов. Липиды микроорганизмов представляют собой химически гетерогенную группу, в которую входят следующие соединения: жиры, фосфолипиды, стероиды, изопреноиды и поли- β -оксимасляная кислота. Их делят на две группы. К первой группе относятся липиды, содержащие жирные кислоты, связанные эфирной связью, ко второй — липиды, состоящие из повторяющихся пятиуглеродных радикалов, подобных изопрену. Жирные кислоты обычно синтезируются отдельно и в дальнейшем с помощью эфирной связи включаются в сложные эфиры. Предшественником для биосинтеза жирных кислот с длинной цепью, а также запасного вещества — поли- β -оксимасляной кислоты служит промежуточный продукт цикла трикарбоновых кислот — ацетил-КоА. Важную роль в биосинтезе жирных кислот играет так называемый ацетилпереносящий белок (АПБ).

Синтез жирных кислот с длинной цепью начинается с переноса ацетильной группы с ацетил-КоА на АПБ. Данный комплекс служит основанием, на которое переносятся двууглеродные соединения (C_2 -фрагменты). Последовательное наращивание двууглеродных остатков через ряд промежуточных продуктов ведет к образованию C_{14} — C_{18} -жирных кислот. Фосфолипиды получают в результате реакции жирных кислот и промежуточного продукта гликолиза — диоксиацетонфосфата. Полиизопреновые соединения, состоящие из повторяющихся C_5 -фрагментов, синтезируются исключительно из ацетильных групп.

В этих реакциях большую роль играет промежуточный продукт цикла трикарбоновых кислот — ацетил-КоА.

Совокупность всех метаболических путей, идущих в клетке микроорганизмов (катаболизм и биосинтез новых соединений), может быть представлена в виде краткой схемы, показанной на рисунке 24.

Более подробные сведения о биосинтезе белков, рибо- и дезоксирибонуклеотидов, ДНК, РНК, углеводов, липидов и других веществ приведены в специальных руководствах по биохимии микроорганизмов.

Глава 8

РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ

Для микроорганизмов, как и для других живых существ, характерны рост и размножение. Под ростом клетки подразумевают согласованное увеличение количества всех химических компонентов (например, белка, РНК, ДНК), ведущее в конечном счете к возрастанию размеров и массы клетки. Рост микробной клетки не безграничен, достигнув определенной величины, клетка прекращает рост и начинает размножаться.

Размножение — это увеличение числа клеток микроорганизмов в популяции. Микроорганизмы размножаются или путем поперечного деления, происходящего в процессе роста, или почкованием (которое встречается исключительно редко), или путем образования спор.

Прокариоты обычно размножаются бесполом путем — бинарным делением. В начале деления клетка удлинняется, затем делится нуклеоид. Воспроизведение нуклеоида, содержащего всю генетическую информацию, необходимую для жизнедеятельности микроорганизма, — наиболее важный из всех процессов, которые происходят при росте клетки.

Нуклеоид представлен суперспирализованной и весьма плотно уложенной молекулой ДНК, которая является самореплицирующейся структурой и известна под названием репликаона. К репликаонам относятся также плазмиды — генетические структуры, способные к самостоятельной репликации. Репликация ДНК осуществляется ферментами ДНК-полимеразами. Этот процесс начинается в определенной точке ДНК и происходит одновременно в двух противоположных направлениях. Заканчивается репликация также в определенном месте ДНК. В результате репликации число молекул ДНК в клетке удваивается. Вновь синтезированные молекулы ДНК постепенно расходятся в образующиеся дочерние клетки. Все это позволяет дочерней клетке иметь совершенно тождественную материнской клетке по последовательности нуклеотидов молекулу ДНК. Считают, что репликация ДНК занимает почти 80% времени, в течение которого осуществляется деление бактериальной клетки.

После завершения репликации ДНК начинается сложный комплекс процессов, которые ведут к образованию межклеточной перегородки. Вначале с обеих сторон клетки происходит вращение двух слоев цитоплазматической мембраны, а затем между ними синтези-

руется пептидогликан и образуется перегородка, состоящая из двух слоев цитоплазматической мембраны и пептидогликана.

Во время репликации ДНК и образования дефисей перегородки клетка микроорганизма непрерывно растет. В этот период происходит синтез пептидогликана клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, образование новых рибосом и других органелл и соединений, которые входят в состав цитоплазмы. На последней стадии деления дочерние клетки отделяются друг от друга. Процесс деления у некоторых бактерий идет не до конца, в результате образуются цепочки клеток.

При делении палочковидных бактерий клетки вначале растут в длину (диаметр клетки не меняется). Когда длина бактерии удваивается, палочка несколько сужается в середине и затем распадается на две клетки. Чаще всего клетка делится на две равные части (изоморфное деление), однако встречается и неравномерное (гетероморфное) деление, когда дочерняя клетка больше материнской.

На рисунке 25 показано деление бактерии со жгутиками. Только у материнской клетки остаются жгутики. Дочерняя клетка не имеет жгутиков: они вырастают позднее. При многочисленных исследованиях жгутики обычно находили только у одной клетки из недавно разделенной пары. Можно полагать, что материнская клетка сохраняет главную часть первоначальной клеточной стенки, фимбри и жгутики.

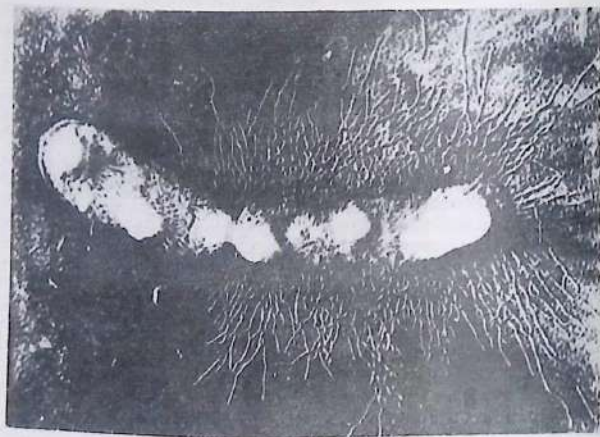


Рис. 25. Электронно-микроскопический снимок недавно разделившейся клетки *Klebsiella* ($\times 25000$) (по Дугюд).

Спирохеты, риккетсии, некоторые дрожжи и грибы, простейшие и другие организмы размножаются поперечным делением клеток.

Миксобактерии делятся перетяжкой. Сначала клетка в месте деления слегка суживается, далее клеточная стенка, постепенно впячиваясь с обеих сторон внутрь клетки, все больше и больше сужает ее и, наконец, делит на две. Дочерняя клетка, одетая уже собственной цитоплазматической мембраной, еще временно сохраняет общую клеточную стенку.

У бактерий иногда наблюдается «половой» процесс, или конъюгация (см. главу 4).

В результате роста и размножения клетки микроорганизма образуется колония микробов-потомков.

Микроорганизмы отличаются высоким темпом размножения, выходящим за пределы генерации, то есть временем, в течение которого происходит деление клетки. Время генерации определяется видом микроорганизма, его возрастом и внешними условиями (составом питательной среды, температурой, рН и другими факторами).

При благоприятных условиях время генерации многих микроорганизмов колеблется от 20 до 30 мин. При такой скорости роста можно получить 6 генераций за 2 ч (для получения стольких же поколений у человека требуется 120 лет). Благодаря способности бактерий к быстрому размножению, в природе наблюдается их численный перевес над другими живыми организмами. Однако бактерии не могут очень долго продолжать расти с периодом генерации 20 мин. Если бы такой рост был возможен, то одна-единственная клетка кишечной палочки (*Escherichia coli*) через 24 ч образовала бы 2^{72} , или около 10^{22} потомков, общая масса которых составила бы несколько десятков тысяч тонн, а еще через 24 ч роста этой бактерии масса ее потомков превысила бы в несколько раз массу земного шара. Недостаток пищи и накопление продуктов распада ограничивают такое бурное размножение бактерий. В проточной среде бактерии могут делиться через каждые 15—18 мин.

Наблюдения за ростом микроорганизмов, культивируемых на жидкой среде в замкнутых резервуарах, показывают, что скорость их роста изменяется во времени. Внесенные в питательную среду микроорганизмы вначале не развиваются, они «привыкают» к условиям среды. Затем начинается их размножение со все возрастающей скоростью, достигающей максимума, на который они способны в данной среде. По мере исчерпания питательных веществ и накопления продуктов обмена рост замедляется, а затем полностью прекращается. Цикл развития бактерий состоит из нескольких фаз (рис. 26).

I. Исходная (стационарная) фаза начинается после внесения микроорганизмов в питательную среду и продолжается от 1 до 2 ч. Во время этой фазы количество бактерий не увеличивается и клетки не растут.

II. Лаг-фаза — период задержки размножения. В это время бак-

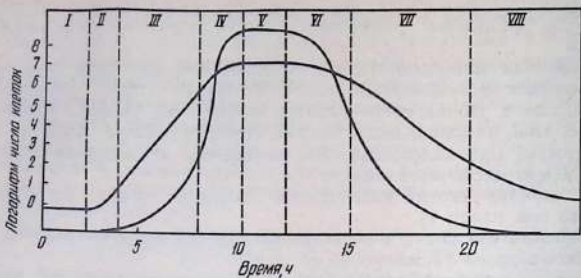


Рис. 26. Фазы роста разных бактерий:

I — исходная (стабионарная) фаза; *II* — фаза задержки размножения; *III* — логарифмическая фаза; *IV* — фаза отрицательного ускорения; *V* — стационарная фаза максимума; *VI* — фаза ускорения гибели; *VII* — фаза логарифмической гибели; *VIII* — фаза уменьшения скорости отмирания.

терии, внесенные в свежую питательную среду, начинают интенсивно расти, но скорость их деления остается невысокой.

Две первые фазы развития бактериальной популяции называют периодом приспособления к новой среде. К концу лаг-фазы клетки часто увеличивают свой объем. Длительность лаг-фазы зависит как от внешних условий, так и от возраста бактерий и их видовой специфичности.

III. Фаза интенсивного логарифмического, или экспоненциального, размножения. В этот период размножение бактерий идет с наибольшей скоростью, и число клеток увеличивается в геометрической прогрессии.

IV. В фазе отрицательного ускорения клетки бактерий становятся менее активными и период генерации начинает удлиняться. Одна из причин, замедляющих размножение бактерий, — истощение питательной среды и накопление в ней ядовитых (токсических) продуктов обмена. Это замедляет ритм размножения. Некоторые клетки перестают размножаться и погибают.

V. Стационарная фаза — период, когда число вновь возникающих клеток примерно равно числу отмирающих. Поэтому количество живых клеток некоторое время остается практически неизменным. Однако при этом общая численность живых и мертвых бактерий несколько увеличивается, хотя и не так быстро. Эта фаза иногда называется «максимальной стационарной», так как при ней численность клеток в среде достигает максимума.

VI—VIII. Фазы отмирания характеризуются тем, что отмирание клеток преобладает над размножением. Во время прохождения *VI* фазы увеличивается число отмерших клеток. На смену этой фазе приходит *VII* — логарифмической гибели клеток, когда они отмирают с постоянной скоростью. Наконец, наступает *VIII* фаза, в которой скорость отмирания клеток бактерий постепенно уменьшается. Отмирание клеток бактериальной популяции в последние

три фазы связано с изменением физико-химических свойств питательной среды в неблагоприятную для бактерий сторону и с другими причинами. Ритм гибели клеток в эти фазы становится быстрым, и число живых клеток все более снижается, до тех пор пока они почти полностью не отмирают.

При описанном выше культивировании в замкнутом резервуаре микроорганизмы все время находятся в меняющихся условиях, это так называемая непроточная культура микроорганизмов. Сначала они имеют в избытке все питательные вещества, затем постепенно наступает недостаток в питании и отравление продуктами обмена. Все это приводит к снижению скорости роста, в результате чего культура переходит в стационарную фазу. Однако если добавлять в среду питательные вещества и одновременно удалять продукты обмена, то микроорганизмы могли бы пребывать в течение неопределенного времени в экспоненциальной фазе роста. Такой способ положен в основу проточного культивирования микроорганизмов, осуществляемого в хемостатах и турбидостатах с помощью специальных устройств для непрерывной подачи среды с регулируемой скоростью и для хорошего ее перемешивания.

Следовательно, в отличие от непроточной при проточной культуре для микроорганизмов создаются неизменные условия. Поэтому можно поддерживать непрерывный и постоянный прирост клеток при любой скорости роста культуры. Проточное культивирование микроорганизмов поддается автоматическому регулированию, оно весьма перспективно и широко внедряется в промышленность и лабораторную практику.

В физиологических исследованиях микроорганизмов важным является получение так называемых синхронных культур. Синхронной культурой называют бактериальную культуру (или популяцию), в которой все клетки находятся на одинаковой стадии клеточного цикла. Синхронные культуры обычно используют для изучения отдельных бактерий в процессе их роста.

Глава 9

ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ СОЕДИНЕНИЙ УГЛЕРОДА

КРУГОВОРОТ УГЛЕРОДА И КИСЛОРОДА

Микроорганизмы играют главную роль в круговороте всех биологически важных элементов в природе в том числе углерода и кислорода. В круговороте углерода различают два процесса, связанных с выделением и поглощением кислорода: 1) фиксация CO_2 в процессе кислородного фотосинтеза и 2) минерализация органических веществ с выделением CO_2 .

Первый процесс осуществляют высшие растения, водоросли и цианобактерии. Он обеспечивает перевод окисленной формы угле-

рода (CO_2) в восстановленную (в этой форме углерод находится в органических веществах), при этом восстановленный кислород (H_2O) окисляется до молекулярного (O_2).

Второй процесс совершают микроорганизмы, он идет с поглощением кислорода и прямо или косвенно связан с восстановлением молекулярного кислорода и образованием субстратов для кислородного фотосинтеза — CO_2 и H_2O .

В воздухе содержится около 0,03% CO_2 (по объему). Такая концентрация углекислоты в атмосфере поддерживается относительно постоянной в результате достаточно устойчивого равновесия между фотосинтезом и минерализацией. О значимости круговорота углерода в природе свидетельствует расчет, который показывает, что весь CO_2 воздуха при отсутствии его пополнения был бы почти полностью использован в результате фотосинтеза меньше, чем за 20 лет. Круговорот углерода и кислорода схематично показан на рисунке 27.

Примерные подсчеты показывают, что годовая продукция органического вещества на Земле достигает $33 \cdot 10^{11}$ т. Основную массу этого вещества составляют соединения растительного происхождения. Химический состав растительных остатков весьма сложен: имеются разнообразные органические вещества — белки, аминокислоты, углеродсодержащие соединения (клетчатка, лигнин, гемицеллюлозы), а также жиры, воска и многие другие. Преобладают по массе целлюлоза, гемицеллюлозы и лигнин.

Количество и качество клетчатки, гемицеллюлоз и лигнина, образуемых в растительных ассоциациях, может быть весьма различным, что связано с определенными растительными сообществами и геоклиматическими зонами.

После отмирания растений в результате деструктивных биологических процессов происходит распад органических веществ, созданных растительными организмами. В нем участвуют представители разнообразных групп животного и растительного мира, начиная

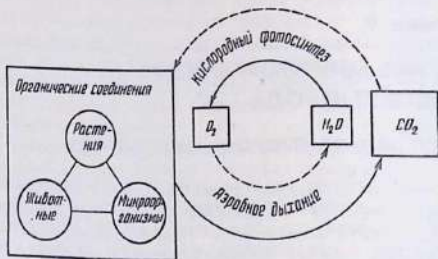


Рис. 27. Круговорот углерода и кислорода. Окисление углерода и кислорода показано сплошными стрелками, реакция без изменения валентности — пунктирными стрелками.

от микроорганизмов и кончая высшими позвоночными животными. Известны два основных типа распада: фитогенный и зоогенный.

Фитогенный распад органического вещества осуществляется при участии грибов (высших и низших), бактерий, актиномицетов и других микроорганизмов, а зоогенный — при участии беспозвоночных животных (простейших, червей, моллюсков), различных насекомых и, наконец, млекопитающих. Основной тип распада органических веществ — фитогенный, хотя и животные играют важную роль в этом процессе: они поедают растительные остатки или переносят споры микроорганизмов. Правильнее считать, что в почве одновременно протекают оба отмеченных процесса.

Большое разнообразие веществ, входящих в состав растительных остатков, и их различная стойкость к воздействию микроорганизмов обуславливают поэтапность распада. Наиболее быстро разлагаются простые и малополимеризованные сахара (моно- и дисахариды).

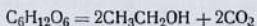
Полисахариды (крахмал, гемицеллюлозы, пектины и др.), жиры и воска расщепляются значительно медленнее. Довольно стойки к воздействию микроорганизмов клетчатка и близкие к ней высокополимеризованные соединения, а наиболее устойчивое органическое соединение — лигнин, поэтому он имеет тенденцию накапливаться в почве.

В зависимости от условий среды органические вещества подвергаются разложению анаэробными и аэробными микроорганизмами. Конечные продукты разложения органических веществ анаэробными микроорганизмами — органические кислоты и спирты, а аэробными — CO_2 и H_2O .

Рассмотрим процессы анаэробного и аэробного превращения микроорганизмами безазотистых органических веществ.

СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ

При спиртовом брожении микроорганизмы превращают углеводы с образованием этилового спирта как основного продукта брожения:



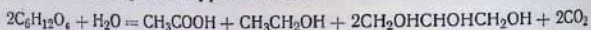
К возбудителям спиртового брожения относятся некоторые дрожжи, главным образом из рода *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. globosus*, *S. vini* и др.). В небольших количествах спирт может накапливаться в среде, содержащей углеводы, при развитии в ней некоторых грибов из родов *Mucor* и *Fusarium* и бактерий (*Zytoplasma mobilis*, *Sarcina ventriculi*, *Erwinia amylovora* и др.).

При доступе кислорода воздуха дрожжи, вызывающие брожение, начинают окислять углеводы, то есть от брожения переходят к процессу аэробного дыхания. В этом случае коэффициент использования углеводов увеличивается. Поэтому для получения большей массы дрожжей, например при производстве пекарских дрожжей, питательную среду, в которой происходит их размножение, аэри-

руют. Наоборот, при производстве спирта процесс ведется в анаэробных условиях.

Сбраживание сахаров дрожжами с образованием этилового спирта и CO_2 идет по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса. Кроме этилового спирта, в процессе спиртового брожения образуются так называемые сивушные масла — амиловый, изоамиловый, бутиловый, изобутиловый и другие спирты, являющиеся побочными продуктами обмена некоторых аминокислот — изолейцина, лейцина и валина.

Обычно спиртовое брожение протекает при кислой реакции среды (рН 4—5). Если реакцию питательного субстрата поддерживать на щелочном уровне (рН около 8), то одним из основных продуктов брожения будет глицерин. В этом случае спиртовое брожение выражается следующим уравнением:



Еще более резко повышается выход глицерина, если брожение протекает в присутствии сульфата натрия Na_2SO_3 . При этом уксусный альдегид связывается сульфитом и не может быть восстановлен водородом в этиловый спирт. Акцептором водорода служит промежуточное соединение диоксиацетонфосфат, который превращается сначала в фосфоглицерин, а после отщепления фосфатной группы образуется глицерин.

В некоторых случаях бывает целесообразно получать глицерин и амиловый спирт с помощью спиртового брожения. Подобные производства были осуществлены практически.

Не все сахара сбраживаются дрожжами. Гексозы обычно усваиваются хорошо, но пентозы могут ассимилироваться лишь весьма ограниченным числом видов дрожжей. Неплохо используются дрожжами дисахариды, но каждый вид этих микроорганизмов способен ассимилировать лишь строго определенный их набор. Перед сбраживанием более сложные сахара под влиянием ферментов дрожжевой клетки распадаются на моносахариды.

Некоторые дрожжи могут усваивать простые декстрины, но крахмал не сбраживают. Лишь после предварительного осахаривания с помощью солода (или другими способами) крахмал становится пригодным для спиртового брожения. На многих заводах для спиртового брожения используют клетчатку, предварительно подвергая ее кислотному гидролизу.

В аэробных условиях дрожжи способны окислять органические кислоты и другие соединения. В качестве источника азотного питания дрожжи потребляют белки, пептоны, аминокислоты, а также аммонийные соли. Дрожжевая клетка вырабатывает многие витамины, а присутствие некоторых ростовых веществ в среде усиливает рост дрожжей. Дрожжи развиваются в относительно широком температурном диапазоне (от 3—5 до 38—40°C).

В процессах брожения могут участвовать низовые и верховые дрожжи. Последних используют для брожения, протекающего при температуре 18—30°C. В этих условиях обычно отмечают обильное

выделение углекислоты и пенообразование. Сами дрожжи поднимаются на поверхность бродящей жидкости. Верховые дрожжи, чаще всего расы *Saccharomyces cerevisiae*, используют в спиртовой промышленности, хлебопечении и т. д., но при некоторых условиях употребляют и другие дрожжи.

Низовые дрожжи применяют для брожения при пониженной температуре (4—10°C). При этом брожение совершается спокойно, и масса дрожжевых клеток остается на дне сосуда. Низовые дрожжи часто используют в пивоваренной промышленности, где обычно применяют также расы *Saccharomyces cerevisiae*, адаптированные, однако, к жизнедеятельности при пониженной температуре. В виноделии важную роль играют дрожжи рас *Saccharomyces vini*, *S. cerevisiae* var. *ellipsoides*.

Дрожжи могут расти при нейтральной реакции среды, но активнее процессы брожения проходят при некотором ее подкислении. Поэтому в практике для размножения дрожжей создают кислую среду, что также предупреждает развитие посторонней бактериальной микрофлоры, плохо переносящей пониженные рН.

Значение спиртового брожения очень велико. Этот процесс лежит в основе виноделия, пивоварения, производства спирта, хлебопечения. В этих отраслях промышленности широко используют чистые культуры дрожжей, обеспечивающие более правильное течение процесса и повышающие качество продукции.

Дрожжи и близкие к ним организмы используют и для приготовления кормового белка. Культивируя их на средах с дешевым источником углеродного питания (например, на мелассе, отходах целлюлозной или текстильной промышленности, метаноле, этаноле и др.), удается получать значительную массу дрожжей, содержащих полноценный белок. Дрожжи сепарируют и используют для кормовых целей. В последнее время разработан способ выращивания кормовых дрожжей на отходах нефтяной промышленности.

Некоторые виды дрожжей, как и другие микроорганизмы, накапливают в своих клетках большое количество жира. Подобные дрожжи, получившие техническое название «жировые», предложено применять для получения микробиологическим путем жиров, обладающих ценными техническими свойствами. Существуют дрожжи, которые накапливают значительные количества витаминов, на основе чего их используют в производстве витаминов для медицины и сельского хозяйства.

Не все дрожжи приносят пользу человеку, многие способны вызывать только окисление углеводов. Среди небродящих дрожжей имеются вредители пищевых продуктов и вина.

Дрожжи широко распространены в природе — в почвах, на поверхности растений и т. д.

МОЛОЧНОКИСЛОЕ БРОЖЕНИЕ

При молочнокислом брожении, вызываемом специфической группой бактерий, происходит распад глюкозы до молочной кислоты. Среди

побочных продуктов молочнокислого брожения отмечены уксусная кислота, углекислый газ, а иногда и этиловый спирт.

Известно три типа брожения, вызываемого молочнокислыми бактериями:

1) гомоферментативное молочнокислое брожение, при котором из глюкозы образуется только молочная кислота $C_6H_{12}O_6 = 2CH_3CH(OH)COOH$;

2) гетероферментативное молочнокислое брожение, когда из глюкозы, кроме молочной кислоты, получается этиловый спирт и CO_2 $C_6H_{12}O_6 = CH_3CH(OH)COOH + CH_3CH_2OH + CO_2$;

3) брожение, вызываемое бифидобактериями, — бифидоброжение, при котором из глюкозы образуются уксусная и молочная кислоты $2C_6H_{12}O_6 = 3CH_3COOH + 2CH_3CH(OH)COOH$.

В основе гомоферментативного молочнокислого брожения лежат реакции пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса, гетероферментативного — реакции пентозофосфатного пути, а бифидоброжения — также реакции пентозофосфатного пути или пути Энтнера — Дудрова.

Нередко в сбраживаемых молочнокислыми бактериями (*Streptococcus cremoris* и *Leuconostoc cremoris*) средах накапливаются небольшие количества ацетона и диацетила — веществ, обладающих своеобразным приятным ароматом. Этот аромат передается продуктам, в которых развиваются указанные бактерии.

Кроме глюкозы, молочнокислые бактерии сбраживают большое количество сахаров: фруктозу, галактозу, маннозу, сахарозу, лактозу, мальтозу и пентозы. При сбраживании этих соединений наблюдаются некоторые отклонения от обычных схем брожения. Например, при брожении фруктозы образуются молочная и уксусная кислоты, CO_2 и маннит.

По форме клеток молочнокислые бактерии — палочки (длинные и короткие) и кокки. Они могут образовывать парные или цепочковидные скопления. Это неподвижные, не образующие спор (за исключением *Sporolactobacillus inulinus*) грамположительные организмы. Молочнокислые бактерии — анаэробы, но при этом они аэротолерантны, то есть могут расти при доступе кислорода.

Молочнокислые бактерии обладают высокой бродильной способностью и отличаются отсутствием большинства биосинтетических путей. Это обуславливает высокую требовательность рассматриваемых бактерий к источникам питания, которая удовлетворяется за счет таких сред обитания, как ткани растений, молоко, желудочно-кишечный тракт животных. В качестве источника энергии эти бактерии используют главным образом моно- и дисахариды (полисахариды сбраживаются только некоторыми видами). Некоторые молочнокислые бактерии способны ассимилировать отдельные органические кислоты (например, лимонную).

Молочнокислые бактерии весьма требовательны к источникам азотного питания. Они используют органические формы азота. Многие молочнокислые бактерии могут ассимилировать белки, хотя лучше развиваются на аминокислотах, пептидах и полипепти-

дах. Продукты распада белковой молекулы прекрасно усваиваются этими бактериями. Считалось, что молочнокислые бактерии не усваивают солей аммония. Однако сейчас описаны отдельные возбудители молочнокислого процесса, способные расти на минеральном азоте. В природе они встречаются редко.

Кроме веществ, содержащих углерод и азот, молочнокислым бактериям необходимы другие элементы (фосфор, калий, кальций и т. д.), которые они обычно получают из различных минеральных соединений. Большинство молочнокислых бактерий нуждаются в факторах роста. Отдельные бактерии, нуждаясь в одном ростовом веществе, например рибофлавине, обогащают среду, в которой они развиваются, другими ростовыми веществами, например витамином В₁.

Молочнокислые бактерии могут развиваться в довольно различных температурных условиях. Большинство живет при температуре от 7—10 до 40—42°C, имея оптимум 30—40°C. Однако в природе имеются формы, которые способны размножаться в зоне более низких (минимум 3°C) или более высоких (максимум 55—57°C) температур. Молочнокислые бактерии не образуют спор, поэтому при повышении температуры выше указанного предела относительно быстро погибают.

Лучше всего молочнокислые бактерии размножаются при нейтральной реакции среды. Однако при своем развитии они значительно подкисляют питательную среду, поэтому приспособились к существованию в зоне довольно низких рН. Палочковидные формы выносят более низкие значения рН среды, чем кокковидные. Это кислотолюбивые организмы, оптимум рН обычно составляет 5,5—5,8 и менее, как правило, они растут при рН 5 и ниже.

Кратко остановимся на характерных особенностях, свойственных отдельным представителям молочнокислых бактерий. Описание приведено по данным Е. И. Квасникова, О. А. Нестеренко.

Кокковые формы молочнокислых бактерий, осуществляющих гомоферментативное брожение, представлены семейством *Streptococcaceae*, куда входят роды *Streptococcus*, *Pediococcus* и *Aerococcus*.

Бактерии рода *Streptococcus* представляют собой круглые или слегка овальные клетки диаметром от 0,5—0,6 до 1 мкм, расположенные единично, парами или цепочками. Глюкозу сбраживают с образованием в основном правовращающей молочной кислоты. Они широко распространены в природе — на растениях, в почве, навозе, а также в молоке и других субстратах и используются в ряде пищевых производств. К этому роду относятся виды: *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*, *Str. thermophilus*.

Str. lactis (молочнокислый стрептококк) имеет клетки овальной формы, расположенные в виде коротких цепочек или соединенные попарно. Кроме моносахаридов, сбраживает лактозу и мальтозу. Оптимальная температура для развития 30—35°C.

Другой представитель этого рода — *Str. cremoris* (сливочный стрептококк) — отличается от молочнокислого тем, что его клетки располагаются в виде длинных цепочек. Температурный оптимум для развития 25—30°C. Образует повышенное количество летучих кислот. *Str. cremoris*, как и *Str. lactis*, используются при производстве кисломолочных продуктов, кисломолочного масла и сыров.

Str. diacetylactis образует в молоке и молочных продуктах повышенное количество летучих кислот и ароматические вещества, основное из которых — диацетил. Обладает способностью сбраживать лимонную кислоту. Температурный оп-

тимум 25—30°C. *Str. diacetylactis* улучшает вкус и аромат молочных продуктов поэтому его используют вместе со *Str. lactis* и *Str. cremoris* в заквасках для кисломолочных продуктов, кислосливочного масла и сыров.

Str. thermophilus может развиваться при повышенной температуре (около 50°C). Сходен со *Str. cremoris*. Сбраживает сахарозу. Применяется вместе с болгарской палочкой (*Lactobacillus bulgaricus*) для приготовления южных простокваш. Играет важную роль в производстве некоторых сыров (швейцарский советский).

Представители рода *Pediococcus* — грамположительные неспорообразующие неподвижные кокки, располагающиеся кучками, тетрадами, парами или единично. Осуществляют гомоферментативное молочнокислое брожение с образованием *DL*-молочной кислоты. Оптимальное значение pH равно 5. Эти бактерии предпочитают анаэробные условия. Обитают в бродящих растительных материалах — квашеных овощах, силосе, а также в сыре, молоке, в пищеварительном тракте животных и т. д. К этому роду относится вид *P. cerevisiae*.

Род *Lactobacillus* объединяет палочковидные бактерии, характеризующиеся значительным разнообразием формы, которая может меняться от короткой коккообразной до длинной нитевидной. Располагаются в виде единичных клеток, парами или цепочками.

Бактерии этого рода могут быть обнаружены в молочных, зерновых и мясных продуктах, в пиве, вине, солениях и маринадах, в воде и сточных водах, а также в ротовой полости и кишечном тракте человека и животных. Сбраживают сахара с образованием главным образом молочной кислоты. Оптимум pH 5,5—5,8, но могут развиваться при pH 5 и ниже.

Гомоферментативные молочнокислые палочки делятся на две группы. Первая группа представлена организмами, которые, как правило, растут при 45°C и выше, обычно не развиваются при 20° и никогда не растут при 15°C. Образуют *D*-, *L*- или *DL*-молочную кислоту. В образовании *D* (—)-молочной кислоты принимают участие *Lact. delbrueckii*, *Lact. leichmannii*, *Lact. lactis* и *Lact. bulgaricus*, *DL*-молочной кислоты — *Lact. helveticus* и *Lact. acidophilus* (рис. 28).

По биохимическим особенностям эти бактерии очень близки между собой. *Lact. bulgaricus* обычно выделяют из южных кисломолочных продуктов, *Lact. helveticus* — из сыров (швейцарского, советского), *Lact. acidophilus* — из кишечника человека. Молоко, сквашенное этой палочкой, служит хорошим лечебным средством при желудочно-кишечных заболеваниях.

Представители второй группы гомоферментативных молочнокислых бактерий при развитии в молоке образуют короткие цепочки. Это группа менее активных молочнокислых палочек. Температура, при которой они развиваются, 15—38°, оптимум 30°C. В молоке и молочных продуктах обычно обнаруживают два вида этих бактерий — *Lact. casei*, образующий, как правило, *L* (+)-молочную кислоту, и *Lact. plantarum*, образующий *DL*-молочную кислоту. Первый играет важ-

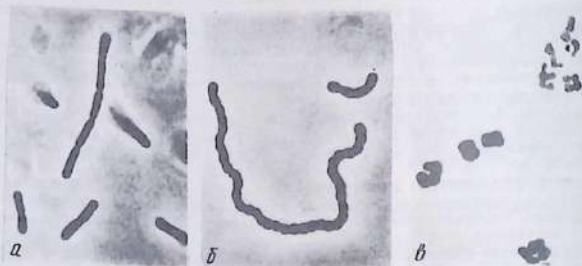


Рис. 28. Форма и расположение клеток у трех родов молочнокислых бактерий: а — *Lactobacillus*; б — *Streptococcus*; в — *Pediococcus* (× 2180) (по Р. Стейниеру).

ную роль в созревании сыров. Второй принимает участие в молочнокислом брожении при квашении овощей и силосовании.

Гетероферментативное молочнокислое брожение осуществляют представители родов *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Бактерии рода *Leuconostoc* имеют вид сферических или чаще чечевицеобразных клеток. Клетки располагаются единично, парами или короткими цепочками, кучкообразных скоплений не обнаружено. Грамположительные. Спор не образуют.

Глюкоза сбраживается с образованием *D* (—)-молочной кислоты, этилового спирта и CO_2 . Факультативные анаэробы, оптимум температуры 20—30°C. На средах с сахарозой у этих организмов появляется толстая наружная оболочка из слизи или смолистых веществ — декстранов.

Виды, входящие в этот род, обнаруживаются главным образом на растительных материалах (иногда в молоке). Сбраживают моно- и дисахариды и не могут питаться более сложными углеводами. Существует ряд видов рода *Leuconostoc*, различающихся по морфологическим и физиологическим признакам.

L. mesenteroides и *L. dextranicum* принимают активное участие в сбраживании углеводов при квашении капусты и силосовании. *L. mesenteroides* и *L. citrovorum* сбраживают лимонную кислоту с образованием диацетила, поэтому они могут быть компонентами заквасок, применяемых в масло- и сыроделии.

Гетероферментативные лактобациллы — *Lactobacillus fermentum* и *L. brevis* сбраживают глюкозу с образованием *DL*-молочной кислоты, CO_2 , уксусной кислоты и этилового спирта. Обычно они встречаются на растениях, обнаружены в хлебных заквасках. Это небольшие палочки, имеющие температурный максимум около 45°C.

К роду *Bifidobacterium* относятся бактерии, имеющие прямые или разветвленные палочки, раздвоенные V-формы, булавовидные или лопатовидные формы. Не образуют спор, неподвижные, грамположительные. Глюкозу сбраживают главным образом до уксусной и *L* (+)-молочной кислот. Это анаэробные бактерии, оптимум температуры для них 36—38°C. Типичный представитель рода *B. bifidum*.

Бифидобактерии — обитатели кишечника человека, животных, насекомых и т. п. Установлено, что *B. bifidum* составляет от 50 до 90% микробного содержимого фекалий человека. В связи со способностью молочнокислых бактерий синтезировать антибиотики (низин, диплококцин, лактолин, бревин и др.) и продуцировать органические кислоты предполагают, что эти организмы являются антагонистами гнилостной и болезнетворной кишечной микрофлоры человека и животных.

Молочнокислые бактерии имеют огромное практическое значение.

Их широко используют при изготовлении кисломолочных, квашеных продуктов, сыров, кисломолочного масла и т. п. Молочнокислые бактерии, встречающиеся обычно в молоке, вызывают его сквашивание.

В различных климатических зонах земного шара в молоке встречаются неодинаковые молочнокислые бактерии. Молоко в северной зоне обычно содержит *Streptococcus lactis*, а в южной — палочковидные бактерии (*Lactobacillus caucasicus*, *Lact. bulgaricus* и др.). В связи с этим кислое молоко разных зон неодинаково по вкусовым качествам. В каждой стране имеются свои национальные кисломолочные продукты.

В производственных условиях разные кисломолочные продукты готовят, заражая пастеризованное молоко соответствующими чистыми культурами бактерий. В этих целях используют молочнокислый стрептококк (*Str. lactis*), болгарскую палочку (*Lact. bulgaricus*), кислотофильную палочку (*Lact. acidophilus*) и другие микроорганизмы.

Ряд молочнокислых продуктов готовят, используя закваску, содержащую симбиотические комплексы микроорганизмов. Например, для приготовления кефира в молоко вносят так называемые зерна кефира, внешне несколько похожие на миниатюрные головки цветной капусты. Они содержат *Lactobacillus bulgaricus*, дрожжи *Saccharomyces kefir*, сбраживающие лактозу. Продуктами брожения являются молочная кислота и спирт. Смешанное брожение также лежит в основе приготовления кумыса из кобыльего молока. В данном случае молочнокислое брожение осуществляется термофильными молочнокислыми палочками, близкими к *Lactobacillus bulgaricus*, и дрожжами из рода *Togula*, сбраживающими лактозу. Сбраживаемое молоко периодически взбалтывают, в результате чего казенный стух мелко дробится.

Молочнокислые бактерии играют основную роль при изготовлении сыров. Процесс сыроделия представляет собой коагуляцию казеина молока под влиянием сычужного фермента, выделяемого из желудка жвачных животных. Получившиеся сгустки отделяют от сыворотки, прессуют, выдерживают в растворе соли, а затем оставляют лежать до созревания. Во время созревания в сырной массе идут сложные процессы, при которых значительная часть казеина под действием ферментов молочнокислых бактерий переходит в форму аминокислот. Для приготовления некоторых сыров используют также пропионовокислые бактерии, плесневые грибы и т. д. Для улучшения качества сыров нередко применяют закваски молочнокислых бактерий.

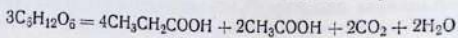
Квашение овощей и силосование кормов сводятся главным образом к молочнокислому брожению этих субстратов. Теория силосования кормов рассмотрена в главе 23.

ПРОПИОНОВОКИСЛОЕ БРОЖЕНИЕ

Пропионовокислое брожение осуществляют бактерии семейства *Propionibacteriaceae*, куда относится род *Propionibacterium*.

Бактерии рода *Propionibacterium* представляют собой грамположительные неподвижные палочки, обычно полиморфные, образующие булавовидные формы с одним закругленным концом, другим — конусообразным. Могут быть удлиненными, кокковидными, раздвоенными, разветвленными. Располагаются поодиночке, парами, цепочками, группами и т. д. Спор не образуют. Они относятся к анаэробам, но могут развиваться в условиях низкого парциального давления кислорода. Источниками энергии для них служат углеводы, органические кислоты, спирты и другие вещества.

В качестве продуктов брожения углеводов пропионовокислые бактерии могут продуцировать различные комбинации пропионовой и уксусной кислот и часто меньшие количества изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот и CO_2 :



Пропионовокислые бактерии способны сбраживать молочную кислоту, образовавшуюся в результате брожения под действием других бактерий, превращая ее в пропионовую и уксусную кислоты:



Сбраживание углеводов пропионовокислыми бактериями происходит по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса до стадии пировиноградной кислоты. Затем в зависимости от условий пировиноградная кислота может окисляться в уксусную $\text{C}_2\text{H}_3\text{COOH}$ и CO_2 , восстанавливаться в молочную, карбоксилироваться (присоединением CO_2) в щавелевоуксусную, которая через яблочную и фумаровую восстанавливается до янтарной кислоты. Пропионовая кислота может образоваться либо восстановлением пировиноградной или молочной кислоты, либо декарбоксилированием (отнятием CO_2) янтарной кислоты. Все эти процессы достаточно сложные, состоят из большого числа различных реакций, катализируемых многими ферментами.

Пропионовокислые бактерии для своего роста требуют среду с белками и аминокислотами, но могут развиваться и на простых источниках азота (например, аммонийных солях) в присутствии витаминов (пантотеновой кислоты, тиамина и биотина). Оптимальная температура роста 30—37°C, pH 7.

Эти бактерии встречаются вместе с молочнокислыми в молоке и молочных продуктах. В молоко они попадают из почвы и с растений. Пропионовокислым бактериям принадлежит значительная роль, в частности, в созревании сычужных сыров. После окончания молочнокислого брожения лактозы в созревающем сыре следует стадия пропионовокислого брожения, сопровождающаяся сбраживанием молочной кислоты в уксусную и пропионовую, придающие острый вкус сырам, а образуемая пропионовокислыми бактериями углекислота обуславливает появление «рисунка» сыра, то есть глазков.

Пропионовокислые бактерии в больших количествах обнаруживают и в пищеварительном тракте жвачных животных. В рубце имеются бактерии, которые гидролизуют целлюлозу с образованием глюкозы. Последняя затем превращается в молочную кислоту и другие вещества. Пропионовокислые бактерии сбраживают глюкозу и молочную кислоту в пропионовую и уксусную кислоты, которые всасываются в кровеносную систему животного.

Рассматриваемые бактерии используют для получения витаминов B_{12} , который они образуют в значительно больших количествах, чем другие микроорганизмы.

ПРОЦЕССЫ БРОЖЕНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ БАКТЕРИЯМИ РОДА Clostridium

Анаэробные бактерии рода Clostridium были открыты Л. Пастером в 1861 г. Он обнаружил, что некоторые представители этих бактерий сбраживают углеводы с образованием масляной кислоты.

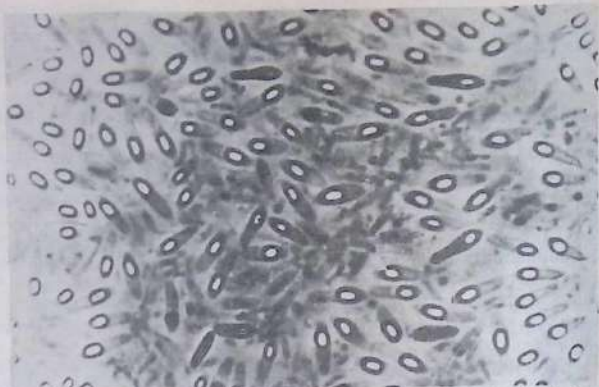


Рис. 29. Спорообразующие клетки бактерий рода *Clostridium* (по В. Т. Емцеву, В. И. Дуде и Ш. И. Шелли).

В настоящее время в роде *Clostridium*, относящемся к семейству *Bacillaceae*, насчитывается более 60 видов бактерий. Бактерии рода *Clostridium* имеют палочковидные клетки. Они обычно подвижные, передвигаются с помощью перитрихальных жгутиков. Образуют споры. Споры имеют овальную или сферическую форму; как правило, споры раздувают клетку (рис. 29). Грамположительные. Obligатные анаэробы. Хемоорганогетеротрофы. Сбраживают сахара, многоатомные спирты, аминокислоты, органические кислоты, пурины и пиримидины, другие органические соединения. Ряд видов фиксирует молекулярный азот атмосферы. Места обитания — почва, водоемы, а также пищеварительный тракт животных и человека.

Все виды рода *Clostridium* объединены в группы в зависимости от их способности сбраживать те или иные органические соединения.

Первая группа — сахаролитические виды *Clostridium*: сбраживают растворимые углеводы, крахмал или пектин с образованием масляной и уксусной кислот, CO_2 и H_2 . Некоторые из них образуют из сахаров дополнительные нейтральные соединения (бутиловый спирт, ацетон, изопропиловый спирт и небольшие количества этилового спирта). В эту группу входят бактерии, вызывающие маслянокислое и ацетобутиловое брожение: *Cl. butyricum*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. tyrobutyricum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butylicum* и др.

Возможно, к этой группе можно отнести и ряд видов *Clostridium* — высокоспециализированных агентов анаэробного разрушения целлюлозы, причем главные конечные продукты брожения — этиловый спирт, уксусная и янтарная кислоты, CO_2 и H_2 . Особенности этих бактерий будут рассмотрены ниже.

Вторая группа — протеолитические виды *Clostridium*: сбраживают аминокислоты. Обладают сильными протеолитическими свойствами и способны к интенсивному гидролизу белков с последующим сбраживанием аминокислот. Рост в средах с белком сопровождается образованием аммиака, CO_2 , H_2 , жирных кислот и большого количества других летучих соединений, обладающих неприятным запахом. К этой группе относятся виды: *Cl. sporogenes*, *Cl. perfringens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. botulinum* и др. Многие представители рода *Clostridium*, сбраживающие аминокислоты, могут сбраживать и углеводы.

Третья группа — виды *Clostridium*, сбраживающие азотсодержащие циклические соединения — пурины и пиримидины. Пурины (гуанин, гипоксантин, ксантин и др.) под влиянием *Cl. acidiphilic* и *Cl. cylindrosporum* превращаются в аммиак, уксусную кислоту и CO_2 . Пиримидины сбраживаются *Cl. uracilicum* и *Cl. orotidicum*; при этом урацил распадается до β -аланина, CO_2 и NH_3 , а оротовая кислота — до уксусной кислоты, CO_2 и NH_3 .

Четвертая группа. В эту группу входит вид *Cl. kluyveri*, сбраживающий смесь этилового спирта и уксусной кислоты с образованием масляной и капроновой кислот, а также небольшого количества водорода.

Более подробно остановимся на двух типах брожения, осуществляемого сахаролитическими видами *Clostridium*, — маслянокислом и ацетонобутиловом.

Маслянокислое брожение. Типичный представитель маслянокислых бактерий — *Clostridium butyricum*. Это крупная палочка ($1-2 \times 10$ мкм), в молодом состоянии она подвижна. На более поздних стадиях развития теряет жгутики, приобретает веретенообразную форму и накапливает внутри клетки запасное питательное вещество — полисахарид гранулезу. *Cl. butyricum* образует веретенообразные споры (иногда они имеют форму барабанной палочки).

В качестве источника углерода маслянокислые бактерии могут использовать моно- и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), молочную и пировиноградную кислоты, маннит, глицерин и другие соединения. В сложных белковых средах в отсутствие сбраживаемого углевода маслянокислые бактерии плохо растут или вовсе не растут. Источником азота служат разнообразные вещества — аминокислоты, аммиачные соединения и даже молекулярный азот.

Маслянокислое брожение начинается с трансформации сахаров в пировиноградную кислоту по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса. Конечные продукты из пировиноградной кислоты образуются в результате цепи реакций, катализируемых несколькими ферментными системами. Процесс преобразования пировиноградной кислоты очень сложный, поэтому остановимся лишь на кратком его описании.

Пировиноградная кислота превращается в ацетил-КоА, CO_2 и H_2 при участии ферментной системы — пируват ферредоксинокси-редуктазы. Из ацетил-КоА через ацетилфосфат синтезируется

венного цемента и других продуктов. Бутиловый спирт используют в производстве лаков. Газы, образующиеся при ацетонобутиловом брожении, идут на синтез метилового спирта CH_3OH .

СМЕШАННОЕ КИСЛОЕ И БУТАНДИОЛОВОЕ БРОЖЕНИЕ

Некоторые бактерии, главным образом представители кишечной микрофлоры, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae*, называемые энтеробактериями, могут осуществлять смешанное кислое и бутандиоловое брожение, при котором образуются ряд органических кислот, спирты, CO_2 и H_2 . Энтеробактерии — факультативные анаэробы, они представляют собой грамположительные, подвижные, не спорообразующие палочки.

К энтеробактериям относятся: *Escherichia coli* (кишечная палочка), которая обитает в кишечнике человека и животных (эта бактерия может существовать в почве и воде, обнаружение ее в питьевой воде, молоке или другом субстрате служит показателем их загрязнения фекалиями); *Salmonella* — представители кишечной микрофлоры, патогенные микроорганизмы, возбудители кишечных инфекций и пищевых отравлений, обитают в почве и воде; *Shigella* — возбудители кишечных инфекций, а также ряд других бактерий. Кроме того, в семейство энтеробактерий входят роды *Enterobacter*, *Serratia* и *Proteus*, представители которых в основном обитают в почве и воде, а также фитопатогенный род *Erwinia*.

Превращение углеводов у энтеробактерий идет по пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса. Продукты брожения у представителей энтеробактерий различаются в качественном и количественном отношении. Бактерии, принадлежащие к родам *Escherichia*, *Salmonella* и *Shigella*, сбраживают сахара до молочной, уксусной, янтарной и муравьиной кислот. Кроме того, образуются CO_2 , H_2 и этанол. Представители родов *Enterobacter*, *Serratia* и *Erwinia* продуцируют меньше кислот, но больше CO_2 , этанола и особенно большое количество 2,3-бутандиола (2,3-бутиленгликоля) *.

ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОРОДОВ

Углеводороды относятся к группе химически весьма стойких органических веществ, которые, однако, могут разлагаться многими микроорганизмами. Возможность усвоения микроорганизмами парафинов была доказана советским ученым В. О. Таусоном. Установлено, что разрушать углеводороды в природе могут представители родов *Arthrobacter*, *Methylomonas*, *Methylococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, *Nocardia*, *Mycobacterium*,

* С другими типами брожения можно познакомиться в следующих книгах: Готтшалк Г. Метаболизм бактерий. М.: Мир, 1982; Мецлер Д. Биохимия. М.: Мир, 1980, т. 2.

а также дрожжи из рода *Candida* и ряд грибов. Углеводороды не только дают этим микроорганизмам энергию, но и служат материалом для синтеза структурных компонентов клетки.

Среди алифатических углеводородов, подвергающихся микробиологическому воздействию, следует прежде всего указать на газообразные углеводороды. Большинство микроорганизмов, развивающихся на газообразных углеводородах, принадлежит к родам *Methylomonas*, *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia* и др. К облигатным окислителям метана относятся представители семейства *Methylomonadaceae* — роды *Methylomonas*, *Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylosinus* и *Methylocystis*. Эти бактерии принадлежат к группе метилотрофных микроорганизмов. Они окисляют метан до метилового спирта. Известны микроорганизмы, использующие такие газообразные углеводороды, как этан, пропан, бутан. Изучению этих организмов посвящены работы Е. И. Квасникова и других исследователей. Микроорганизмов, потребляющих газообразные углеводороды, используют для разведки нефти и газа, а также пытаются применить для борьбы со скоплением метана в шахтах.

В настоящее время выделено большое число микроорганизмов, способных развиваться на алканах с длиной цепи от 1—10 до 16—34 атомов углерода. Описаны микроорганизмы, обитающие на циклических (нафтеновых) углеводородах. Хорошо изучены микроорганизмы, использующие моноциклические (бензол, толуол, ксилол) и полициклические (нафталин, фенантрен, антрацен) ароматические углеводороды. Это представители родов *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, дрожжи и др.

Окисление углеводородов большинством микроорганизмов происходит с помощью адаптивных ферментов. Конечные продукты окисления углеводородов — углекислота и вода, однако обнаруживаются и промежуточные продукты — спирты, органические кислоты, эфиры и другие соединения.

Следовательно, микроорганизмы способны использовать углеводороды разных классов простого и сложного строения. Считают, что практически все углеводороды, входящие в состав нефти, могут разлагаться микроорганизмами.

Интересно отметить, что ряд бактерий, усваивающих углеводороды, обладает способностью связывать молекулярный азот атмосферы. Углеводородусваивающие микроорганизмы широко распространены в почвах.

Большое внимание в последнее время уделяется получению кормовых дрожжей на углеводородах.

ОКИСЛЕНИЕ ЖИРОВ И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КИСЛОТ ЖИРНОГО РЯДА

Жиры и жирные кислоты подвергаются трансформации под влиянием микроорганизмов. Первая стадия расщепления жира — гидро-

а также дрожжи из рода *Candida* и ряд грибов. Углеводороды не только дают этим микроорганизмам энергию, но и служат материалом для синтеза структурных компонентов клетки.

Среди алифатических углеводородов, подвергающихся микробиологическому воздействию, следует прежде всего указать на газообразные углеводороды. Большинство микроорганизмов, развивающихся на газообразных углеводородах, принадлежит к родам *Methylomonas*, *Nyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia* и др. К облигатным окислителям метана относятся представители семейства *Methylomonadaceae* — роды *Methylomonas*, *Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylosinus* и *Methylocystis*. Эти бактерии принадлежат к группе метилотрофных микроорганизмов. Они окисляют метан до метилового спирта. Известны микроорганизмы, использующие такие газообразные углеводороды, как этан, пропан, бутан. Изучению этих организмов посвящены работы Е. И. Квасникова и других исследователей. Микроорганизмов, потребляющих газообразные углеводороды, используют для разведки нефти и газа, а также пытаются применить для борьбы со скоплением метана в шахтах.

В настоящее время выделено большое число микроорганизмов, способных развиваться на алканах с длиной цепи от 1—10 до 16—34 атомов углерода. Описаны микроорганизмы, обитающие на циклических (нафтеновых) углеводородах. Хорошо изучены микроорганизмы, использующие моноциклические (бензол, толуол, ксилол) и полициклические (нафталин, фенантрен, антрацен) ароматические углеводороды. Это представители родов *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, дрожжи и др.

Окисление углеводородов большинством микроорганизмов происходит с помощью адаптивных ферментов. Конечные продукты окисления углеводородов — углекислота и вода, однако обнаруживаются и промежуточные продукты — спирты, органические кислоты, эфиры и другие соединения.

Следовательно, микроорганизмы способны использовать углеводороды разных классов простого и сложного строения. Считают, что практически все углеводороды, входящие в состав нефти, могут разлагаться микроорганизмами.

Интересно отметить, что ряд бактерий, усваивающих углеводороды, обладает способностью связывать молекулярный азот атмосферы. Углеводородусваивающие микроорганизмы широко распространены в почвах.

Большое внимание в последнее время уделяется получению кормовых дрожжей на углеводородах.

ОКИСЛЕНИЕ ЖИРОВ И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КИСЛОТ ЖИРНОГО РЯДА

Жиры и жирные кислоты подвергаются трансформации под влиянием микроорганизмов. Первая стадия расщепления жира — гидро-



Рис. 30. Разложение фильтровальной бумаги в местах роста *Cytophaga* (слева); целлюлозное волокно, покрытое бактериями (справа) (по С. Н. Виноградскому).

ных навозом. То же свойственно и представителям рода *Sporocytophaga*, разлагающим целлюлозу. Они отличаются от видов рода *Cytophaga* способностью образовывать микроцисты*.

В расщеплении целлюлозы принимают участие миксобактерии, относящиеся к порядку Мухобактерiales: семейство Мухососсовцев (род *Mухососсов*), семейство Арчангиевцев (род *Арчангиум*), семейство Полиангиевцев (род *Полиангиум*), широко распространенные в почвах разных зон.

В почвах встречаются представители рода *Cellulomonas*. Это аэробные грамположительные подвижные палочковидные бактерии, неправильной формы, с возрастом они иногда превращаются в кокки. Разлагают целлюлозу в аэробных условиях, однако способны и к анаэробному росту. Эти бактерии встречаются в почвах, богатых минеральными формами азота.

Единичные виды *Pseudomonas*, *Vibrio* и *Bacillus* также могут использовать целлюлозу.

Актиномицеты и грибы, обитающие в относительно бедных почвах, в аэробных условиях могут медленно разрушать целлюлозу. К актиномицетам, разлагающим целлюлозу, относятся представители родов *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, к грибам — представители родов *Fusarium*, *Dematium*, *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Rhizoctonia*, *Mycrothecium*. В разрушении целлюлозы участвуют и хитридиомицеты, среди которых много паразитов.

Анаэробное разложение. Большинство представителей анаэробных целлюлозоразлагающих бактерий, найденных в природе, отно-

* Микроцисты — тела округлой или овальной формы, представляющие собой покоящуюся стадию развития микроорганизмов.

сятся к семейству *Vacillaceae*, роду *Clostridium*. Эти бактерии обитают в почвах, компостах, навозе, речном иле и сточных водах. Они устойчивы к кислотности и распространены не только в нейтральных, но и в кислых почвах. Типичный представитель рода, разлагающий целлюлозу при температуре 30—40°C, — *Clostridium omelianskii*, впервые выделенный известным микробиологом В. Л. Омелянским в 1902 г. Этот микроорганизм имеет палочковидную форму (4—8×0,3—0,5 мкм), подвижен, образует толстые споры в клетке, поэтому спорообразующая клетка сильно раздувается и становится похожей на барабанную палочку.

Разлагать целлюлозу может и другой мезофильный вид — *Cl. cellobiogram*.

Среди анаэробных целлюлозоразлагающих бактерий, встречающихся в почве, навозе и компостах, имеются термофилы. Эти формы весьма активно сбраживают клетчатку. К ним относится *Cl. thermocellum*, оптимальная температура для которого около 60°C, а максимум приближается к 70°C. При 40—45°C эта бактерия развивается плохо.

Мезофильные и термофильные анаэробные бактерии хорошо используют целлюлозу, но на обычных средах, содержащих простые сахара, они развиваются слабо. Они плохо переносят даже несколько повышенные концентрации сахаров.

Следует указать, что в рубце жвачных животных находятся специфические облигатные анаэробные целлюлозоразлагающие бактерии. Они вызывают разложение целлюлозы кормов до глюкозы, которая затем сбраживается с образованием органических кислот (укусной, пропионовой, масляной, молочной, муравьиной, янтарной и др.), спиртов и газов (CO_2 и H_2). Разложение целлюлозы в рубце животных осуществляют кокковидные и палочковидные бактерии: *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Bacteroides succinogenes*, *Butyrovibrio fibrisolvens*, *Ruminobacter ragnum*. Бактерии рубца имеют большое значение в питании жвачных животных.

Кратко остановимся на биохимической стороне процесса распада клетчатки. Целлюлоза представляет собой высокомолекулярный полимер с неразветвленной цепью, состоящей из соединенных β -1,4-гликозидными связями глюкозных остатков, число которых в молекуле колеблется от 1400 до 10 000. Молекулы целлюлозы соединены в пучки, или мицеллы, из 40—60 молекул каждая.

Разложение целлюлозы микроорганизмами проходит в несколько этапов. Сначала происходит ферментативный гидролиз полимера*. Этот процесс протекает под влиянием фермента, называемого целлюлазой и представляющего собой комплекс двух ферментов — эндо- и экзоглюканазы или C_1 -фактора и C_x -фермен-

* Считают, что целлюлазы, гидролизующие целлюлозу, в среду не выделяются. По-видимому, они в концентрированном виде находятся на поверхности бактериальной клетки. Очевидно, целлюлазы являются контактными ферментами, связанными клеточной поверхностью. Поэтому разложение целлюлозы идет только при непосредственном соприкосновении микробов с ее волокнами.

та. Целлюлаза действует на β (1,4)-гликозидные связи. В результате целлюлоза превращается в дисахарид целлобиозу, которая при воздействии фермента β -глюкозидазы переходит в глюкозу.

При аэробном разложении целлюлозы из образовавшейся глюкозы в основном получаются два продукта — CO_2 и H_2O . Могут накапливаться и небольшие количества органических кислот.

При анаэробном распаде целлюлозы первоначальный продукт ее гидролиза — глюкоза в дальнейшем подвергается сбраживанию, в результате чего образуется много органических веществ, состав которых несколько различен у отдельных культур микроорганизмов. Ниже указаны продукты, образуемые отдельными видами целлюлозоразлагающих бактерий.

Мезофилы

Cl. omelianskii

Этиловый спирт, уксусная, молочная и муравьиная кислоты, CO_2 , H_2

Cl. dissolvens

Этиловый спирт, уксусная, молочная и масляная кислоты, CO_2 , H_2

Cl. cellobioparum

Этиловый спирт, уксусная, муравьиная и молочная кислоты, CO_2 , H_2

Термофилы

Cl. thermocellum

Этиловый спирт, уксусная, молочная, муравьиная кислоты, CO_2 , H_2

Раньше считали, что при брожении целлюлозы образуется также метан CH_4 . Однако современными исследованиями это опровергнуто. Метан образуется не бактериями, использующими полисахариды, а вторичным бактериальным населением, которое разлагает органические кислоты, возникшие в результате сбраживания целлюлозы.

Имеющиеся в растениях простые сахара — моно- и дисахариды, а также низкомолекулярные полисахариды (крахмал, инулин, камеди и т. п.) легко разрушаются различными микроорганизмами.

РАЗЛОЖЕНИЕ ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗ

Гемицеллюлозы наряду с лигнином и пектинами входят в состав межклеточного вещества растительных тканей, в значительных количествах содержатся в древесине, соломе, кукурузных початках и т. д. Как и целлюлоза, они имеются в клеточной стенке растений. Гемицеллюлозы представляют собой гетерополисахариды. Они состоят из пентоз (ксилозы, арабинозы) или гексоз (глюкозы, маннозы, галактозы); в соответствии с этим гемицеллюлозы называются — пентозаны (ксилан или арабан), маннаны, галактаны и т. д. Ксилан — полимер ксилозы — по содержанию в растениях занимает второе место после целлюлозы. Многие из гемицеллюлоз содержат также уроновые кислоты.

Эти вещества активно разлагаются грибами, аэробными и анаэробными бактериями. В разложении гемицеллюлоз участвуют значительно больше видов микроорганизмов, чем в разложении целлюлозы. Эти организмы не очень специфичны и, кроме полиса-

харидов, могут использовать органические кислоты и многие простые сахара.

Микробное население, участвующее в разложении гемицеллюлоз растений, очень разнообразно. Это связано с неодинаковым химическим составом гемицеллюлоз разных растений, что оказывает влияние и на характер конечных продуктов распада. К микроорганизмам, обладающим гемицеллюлозоразлагающими свойствами, относят представителей родов *Clostridium*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Streptomyces*; грибов родов *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fomes*, *Polypogus* и др.

Обладая большой молекулярной массой, гемицеллюлозы не могут проникнуть через цитоплазматическую мембрану бактериальной клетки. Они должны быть превращены в простые соединения, и только тогда микроорганизмы используют их в качестве источника углерода. В результате расщепления гемицеллюлоз высвобождаются сахара (строительные блоки этой полисахаридной молекулы). Ферменты, катализирующие расщепление гемицеллюлоз, носят название гемицеллюлаз (ксиланаз).

Когда растительные остатки попадают в почву, их гемицеллюлозная фракция начинает разлагаться со значительной скоростью, но затем разложение замедляется. Изменение скорости разложения, вероятно, результат химической гетерогенности гемицеллюлозных фракций: одни разлагаются медленно, другие — быстро. Скорость превращения гемицеллюлоз микроорганизмами почвы зависит и от условий среды (температуры, влажности, pH и т. д.).

РАЗЛОЖЕНИЕ ЛИГНИНА

Растения, в частности деревянистые, содержат большое количество лигнина, который находится во вторичных слоях клеточной оболочки и в качестве одного из основных компонентов входит в состав межклеточного вещества. В молодых растениях количество лигнина относительно небольшое, но в процессе созревания растения его содержание увеличивается. Молодые травы содержат от 3 до 6% лигнина (на сухое вещество), а древесина разных деревьев — от 15 до 30%. Лигнин, вероятно, никогда не встречается в свободном виде, обычно он связан с полисахаридами.

Лигнин, содержащийся в растениях разных видов, родов и семейств растительного царства химически различен. Даже в одном растении в зависимости от фазы его роста химический состав лигнина может изменяться.

Молекулярная масса лигнина 1000—10 000, он нерастворим в воде и в большинстве органических растворителей. Молекула лигнина содержит только три элемента — углерод, водород и кислород. Лигнин представляет собой трехмерный полимер фенольной природы. При окислении он расщепляется с образованием альдегидов. Это вещество весьма устойчиво к воздействию микроорганизмов, оно разлагается значительно медленнее, чем целлюлоза и гемицеллюлоза.

В аэробном разложении лигнина могут принимать участие многие представители класса *Basidiomycetes*. Так, при умеренной температуре лигнин разлагают многие высшие грибы родов *Clavaria*, *Armillariella*, *Fomes*, *Polystictus*, *Polyporus* и *Ustilina*. Активны по отношению к лигнину также *Fusarium lactis* и *F. nivala*, *Trichoderma lignorum*, *Alternaria tenuis*, *Stremphylium botryosum*.

В почве имеются также аэробные бактерии из рода *Pseudomonas*, участвующие в термофильном разложении лигнина.

Нами установлено, что бактерии рода *Clostridium* разлагают лигнин в анаэробных условиях. Считают, что лигнин может трансформироваться и актиномицетами.

По литературным данным, лигнин, вероятно, деполимеризуется на простые ароматические вещества, такие как ванилин и другие метоксилированные ароматические структуры. Ферментная система микроорганизмов, воздействующих на лигнин, несомненно является внеклеточной. В связи с тем что лигнин разлагается в почве относительно медленно, он накапливается в ней, и его продукты служат основой образования гумусовых веществ.

РАЗЛОЖЕНИЕ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

Межклеточные вещества растительных тканей — пектины — найдены в так называемых срединных пластинках, находящихся между отдельными клетками тканей растений. Первичные и вторичные клеточные стенки также содержат полисахариды этого типа.

Пектиновые вещества представляют собой сложные полисахариды — полигалактурониды, состоящие из остатков α -D-галактуроновых кислот, соединенных 1,4-связями.

Имеется три типа пектиновых веществ:

протопектин — водонерастворимая составная часть клеточной стенки;

пектин — водорастворимый полимер галактуроновой кислоты, содержащей метилэфирные связи;

пектиновая кислота — водорастворимый полимер галактуроновой кислоты, свободный от метилэфирных связей. Пектиновая кислота состоит из длинных цепочек галактуроновых кислот, способных после обработки кальциевыми солями к образованию твердого пектинового геля.

Бактерии и грибы могут разлагать пектин, протопектин и пектиновую кислоту в аэробных и анаэробных условиях. В почве обнаружено большое число микроорганизмов, которые разлагают пектиновые вещества (до 1 млн. клеток на 1 г почвы). Весьма большой пектинразлагающей активностью обладают представители семейства *Vacillaceae* — аэробные бактерии рода *Vacillus* (*Vac. masegans*, *Vac. polymyxa*) и анаэробные бактерии рода *Clostridium* (*Cl. pectinovorum*, *Cl. felsineum*, *Cl. aurantibutyricum*, *Cl. pectinolyticum*, *Cl. corallinum*, *Cl. flavum* и др.), а также многие грибы. Пектины разлагаются и под влиянием фитопатогенных грибов и

бактерий, которые благодаря этому проникают в ткань сельскохозяйственных растений и вызывают болезни типа гнилей.

Микроорганизмы синтезируют три группы экзоферментов, катализирующих распад пектиновых веществ:

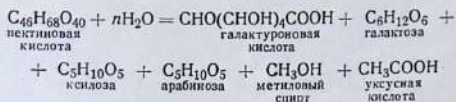
протопектиназу, катализирующую разложению протопектина с образованием растворимого пектина;

пектинэстеразу, гидролизующую метилэфирную связь пектина и получение при этом пектиновой кислоты и метилового спирта;

пектиназу (полигалактуроназу), разрушающую связи между единицами галактуроновой кислоты, пектина или пектиновой кислоты с образованием небольших цепочек и в конечном счете свободной *D*-галактуроновой кислоты.

При гидролизе пектиновой кислоты пектиназой в течение первых стадий разложения аккумулируются только небольшие количества свободной *D*-галактуроновой кислоты. Обычно ферментами разлагаются ди-, три-, тетра- и пентагалактуроновые кислоты. В последующие стадии гидролиза длинные молекулы распадаются под влиянием каталитической деятельности пектиназы и накапливаются свободная *D*-галактуроновая кислота и другие соединения.

Распад пектиновой кислоты может быть выражен следующей схемой:



Продукты распада пектиновой кислоты (галактоза, арабиноза и др.) подвергаются окислению или сбраживанию разнообразными микроорганизмами. В частности, при анаэробнозе они сбраживаются маслянокислыми бактериями, относящимися к роду *Clostridium* (*Cl. pectinovorum*, *Cl. felsineum* и другими (рис. 31)). Продуктами брожения *Cl. pectinovorum* являются масляная и уксусная кислоты, а также газы H_2 и CO_2 , а *Cl. felsineum*, кроме указанных веществ, образует и небольшое количество ацетона и бутилового спирта.

Пектиновое брожение наблюдается при мочке лубоволокнистых растений — льна, конопли, кенафа, джута, канатника и др. Целлюлозные волокна этих растений, имеющие промышленное значение, склеены с окружающими их тканями пектином. Для отделения волокон необходимо разложение пектина, что происходит под действием пектинразлагающих ферментов анаэробных бактерий.

При водной мочке после погружения стеблей льна в воду они набухают. При этом экстрагируются водорастворимые вещества (сахара, глюкозиды, танины, растворимые соединения азота и пигменты) и начинают развиваться бактерии. Сначала размножаются аэробные формы, так как вода содержит кислород и питательные вещества; способствующие их развитию. Дрожжи и плесневые грибы развиваются на поверхности среды. Поглощение

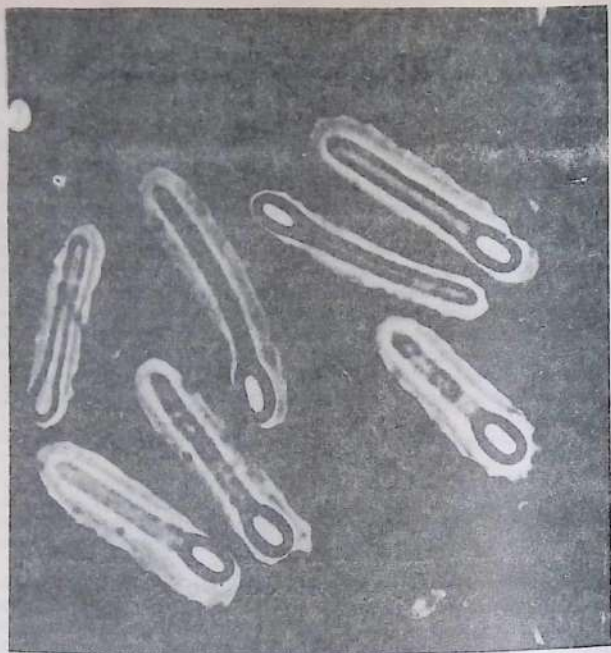


Рис. 31. *Clostridium pectinovorum* (X 4000) (по С. Робинсу).

кислорода в жидкости аэробными микроорганизмами обуславливает создание в среде анаэробных условий. При этом начинают развиваться факультативно-анаэробные бесспорные бактерии, близкие к *Escherichia coli*; в среде образуются органические кислоты (в том числе молочная) и выделяются газы CO_2 и H_2 .

Отделение волокон происходит во время основной стадии брожения. В этот период анаэробные бактерии типа *Cl. pectinovorum* начинают размножаться и расщеплять пектин. Накопление органических кислот в жидкости приводит к прекращению деятельности *Cl. pectinovorum*, которого сменяет более кислотоустойчивый микроорганизм *Cl. felsineum*. В результате воздействия ферментов этих микроорганизмов на пектиновые вещества parenхимной ткани от коры и древесины отделяются пучки волокон.

На льнозаводах проводят тепловую мочку льноволокна в особых чанах (мочилах) при $32-38^\circ\text{C}$ в течение 3—5 суток. В це-

лях ускорения мочки льна и увеличения выхода длинного волокна Всесоюзным НИИ сельскохозяйственной микробиологии предложен препарат пектолитин, содержащий споры активного пектин-разлагающего микроорганизма — *Cl. felsineum*. Внесение пектолитина в мочильную жидкость приводит к ускорению процесса мочки льна в среднем на 27%, повышается выход длинного волокна и его качество.

В практике применяют также аэробную мочку льна и других лубоволокнистых культур. В этом случае пектиновые вещества разрушаются аэробными микроорганизмами. Предварительно происходит гидролиз пектиновых веществ до галактуроновых кислот, галактозы, арабинозы, ксиллозы, уксусной кислоты и метилового спирта, а затем — окисление микроорганизмами (бактерии, дрожжи, грибы) до CO_2 и H_2O .

Существует несколько способов аэробной мочки льна. Расстил, или росаяная мочка, — самый старый и наиболее примитивный биологический способ получения волокна. При этом способе мочки лен в осеннее время года расстилают на траве, что и дало название способу. Широкий доступ воздуха, систематическое и порой длительное отсутствие капельно-жидкой влаги, воздействие света и атмосферных осадков, суточные колебания температуры обуславливают длительность процесса (3—8 недель) и преобладание в нем не бактерий, а плесневых грибов — *Cladosporium herbarum*, *Alternaria* (иногда *Rhodotorula*). Видовой состав основной микрофлоры определяется географическими и почвенно-климатическими условиями. При мочке расстилом существует опасность, связанная с тем, что многие грибы способны разрушать клетчатку, то есть затрагивать и волокно. Это происходит при перележке разостланной соломы.

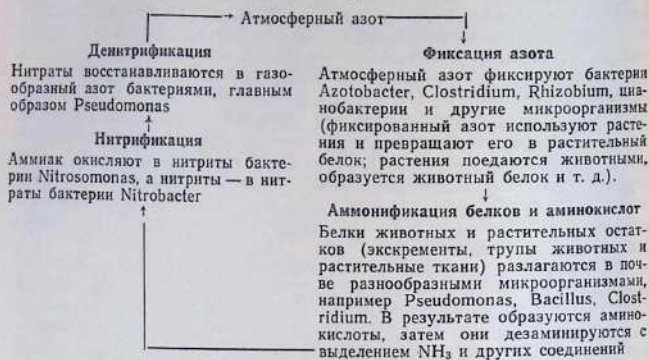
При благоприятных атмосферных условиях (теплая и влажная погода) и тщательном уходе за соломой (защита от спутывания, переворачивание рядков, своевременная уборка со стлища) расстил дает вполне удовлетворительное по качеству и выходу волокно.

Глава 10

ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА

Азот — основной элемент, определяющий величину урожая сельскохозяйственных культур. Растениям недоступен газообразный азот, в огромном количестве находящийся в воздухе, а из большого разнообразия соединений азота, встречающихся в почве, они могут использовать для питания в основном только минеральные формы этого элемента. Поэтому вопрос о превращениях соединений азота в почве под воздействием микроорганизмов привлекает большое внимание ученых.

Цикл превращений азота и содержащих этот элемент соединений в почве весьма сложен (см. схему).



Некоторую часть атмосферного азота связывают свободноживущие или находящиеся в симбиозе с растениями микроорганизмы. Этот процесс обогащает азотом и почву и растения. Органические азотсодержащие соединения в тканях растений и животных, попадая в почву, подвергаются минерализации и превращаются в аммоний и его соединения. Часть растительных остатков трансформируется в темноокрашенное, содержащее азот вещество — гумус.

Аммонийная форма азота подвергается в почве окислению нитрифицирующими бактериями и превращается в соединения азотной кислоты. При определенных условиях нитраты могут восстанавливаться до молекулярного азота и теряться из почвы. Значительное количество азотсодержащих соединений ассимилируется микроорганизмами и временно переходит в недоступную растениям форму.

Приведенные примеры показывают, что микроорганизмы вызывают мобилизационные процессы и накапливают доступные для растений минеральные азотсодержащие вещества. В то же время могут происходить диаметрально противоположные иммобилизационные процессы, обедняющие почву ценными для растений соединениями.

АММОНИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ (МИНЕРАЛИЗАЦИЯ АЗОТА)

Среди органических соединений, составляющих клетку, первое место по количеству занимают белки — на их долю приходится не менее 50% сухой массы клетки. Значительная часть белков попадает в почву с остатками отмерших растений, животных и микроорганизмов. При разложении белков микроорганизмами азот

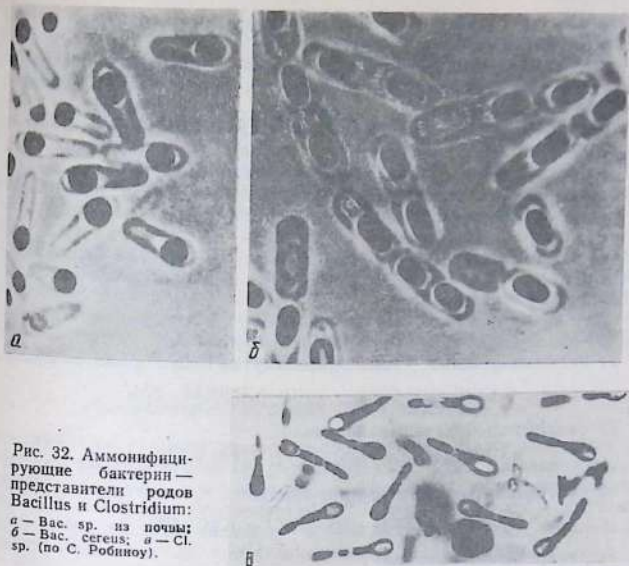


Рис. 32. Аммонифицирующие бактерии — представители родов *Bacillus* и *Clostridium*:
 а — *Bac.* sp. из почвы;
 б — *Bac. cereus*; в — *Cl.* sp. (по С. Робиню).

освобождается в виде аммиака. Этот процесс называют аммонификацией, или минерализацией азота.

Белки могут разлагаться аэробными и анаэробными бактериями, актиномицетами, грибами. Особенно активны в этом отношении представители семейства *Pseudomonadaceae* рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*, *Ps. aeruginosa*), семейства *Bacillaceae* рода *Bacillus* (*Bacillus mycoides*, *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*) и рода *Clostridium* (*Cl. sporogenes*, *Cl. putrificus*) (рис. 32), семейства *Enterobacteriaceae* рода *Proteus* (*Proteus vulgaris*) и др.

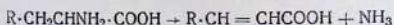
В состав белков обычно входит 20 α -аминокислот. Аминокислоты в полимерной цепи белка располагаются таким образом, что конец одной аминокислоты связан с началом другой пептидной связью. Такие полимерные молекулы, называемые полипептидными цепями, могут содержать сотни аминокислотных звеньев, а белковая молекула состоит либо из одной, либо из нескольких полипептидных цепей. По составу белки подразделяются на простые и сложные. Простые белки при гидролизе дают только аминокислоты, а сложные — также и другие органические и неорганические продукты. Небелковую часть (не состоящую из аминокислот) молекулы сложного белка называют его простетической группой.

К сложным белкам относят нуклеопротеиды, липопротеиды, металлопротеиды и гликопротеиды.

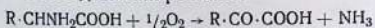
Молекулы белков и большинства пептидов расщепляются ферментами вне клеток микроорганизмов, так как не могут проходить через их цитоплазматическую мембрану. Протеолитические ферменты (протеазы), выделяемые клетками микроорганизмов в окружающую среду, осуществляют гидролиз ряда пептидных связей в молекулах белков. Образующиеся при этом частицы белковой молекулы (полипептиды и олигопептиды) могут использоваться клетками микробов, в которых они разрушаются внутриклеточными протеолитическими ферментами — пептидазами до свободных аминокислот. Образовавшиеся при распаде белка аминокислоты идут на синтез белков клетки или подвергаются дальнейшему расщеплению.

Пути внутриклеточного или внеклеточного расщепления аминокислот различны. Возможны следующие процессы:

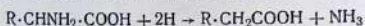
а) дезаминирование, происходящее путем отщепления аммиака:



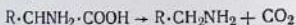
б) окислительное дезаминирование:



в) восстановительное дезаминирование:



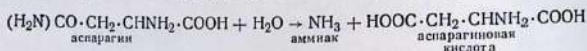
г) декарбоксилирование:



Образующиеся из белков аминокислоты минерализуются с различной скоростью. Некоторые из них (треонин, метионин) более устойчивы, другие, наоборот, весьма легко разлагаются (аргинин, триптофан).

После дезаминирования углеродный остаток подвергается воздействию микробов в аэробных или анаэробных условиях с образованием CO_2 и различных органических соединений.

Если в среде имеются амиды, то они первоначально разлагаются до аминокислот, которые затем могут быть трансформированы тем или иным путем. Например, аспарагин под воздействием фермента аспарагиназы превращается в аспарагиновую кислоту:

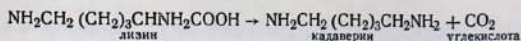


При аэробном распаде белка основные конечные продукты этого процесса: CO_2 , аммиак, сульфаты и вода.

В анаэробных условиях при распаде белка образуются аммиак, амины, CO_2 , органические кислоты (жирные и ароматические — бензойная, ферулиновая и др.), меркаптаны, а также индол, скатол и сероводород, обладающие неприятным запахом.

При анаэробном разрушении белков могут образоваться токсические соединения, в частности первичные амины (диамины)- или птоамины, к числу которых относится кадаверин.

Кадаверин получается из лизина:



Накапливающиеся в анаэробных условиях в почве продукты разложения белков обладают фитотоксическими свойствами и нередко вызывают угнетение роста растений и снижение их урожайности.

При разрушении сложных белков, то есть соединений белка с веществами небелковой природы (липопротеидами, высокомолекулярными углеводами, нуклеиновыми кислотами и т. д.), сначала расщеляются основные компоненты — белок и связанная с ним простетическая группа. В дальнейшем эти соединения подвергаются более глубокой трансформации.

РАЗЛОЖЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты входят в состав нуклеопротеидов — сложных белков, играющих первостепенную роль в жизнедеятельности организмов, и в частности в явлениях наследственности. Особенно много нуклеопротеидов содержится в клеточных ядрах. Нуклеиновые кислоты — органические вещества с большой молекулярной массой, представляющие собой полимеры.

Растительные и животные ткани содержат два типа нуклеиновых кислот — рибонуклеиновую кислоту (РНК) и дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК). При их гидролизе получают пуриновые и пиримидиновые основания, сахар и фосфорная кислота. Сахар в РНК представлен рибозой, а в ДНК — дезоксирибозой. Пурины — аденин и гуанин найдены как в молекулах РНК, так и в молекулах ДНК. Пиримидины — цитозин обнаружен в РНК и ДНК, урацил только в РНК, а тимин только в ДНК.

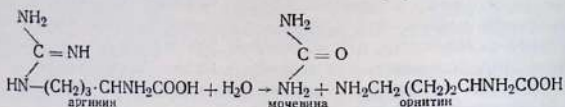
При разложении нуклеиновых кислот длинные молекулы деполимеризуются. Сначала они превращаются в небольшие фрагменты и в конце концов в отдельные мононуклеотиды. Процесс расщепления нуклеиновых кислот происходит при участии ферментов рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы, которые синтезируются некоторыми видами грибов, актиномицетами и рядом бактерий. От образовавшихся мононуклеотидов под воздействием нуклеотидаз отщепляется сначала фосфорная кислота, а позднее — сахар, пуриновые и пиримидиновые основания.

В зависимости от типа обмена веществ микроорганизмов сахар может окисляться кислородом до CO_2 и H_2O или подвергаться брожению с образованием органических кислот и спиртов.

Азотсодержащие основания разлагаются до мочевины и аминокислот и в конце концов до аммиака и органических кислот.

РАЗЛОЖЕНИЕ МОЧЕВИНЫ, МОЧЕВОЙ И ГИППУРОВОЙ КИСЛОТ, ЦИАНАМИДА И ХИТИНА

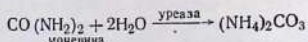
К азотсодержащим соединениям, часто встречающимся в природе, относятся мочевины, мочевоая и гиппуровая кислоты, которые содержатся в моче человека и животных. Мочевина может синтезироваться растениями. Так, в шампиньонах до 13% сухой массы грибов составляет мочевины. Мочевина образуется и при гидролитическом распаде аргинина под действием фермента аргиназы:



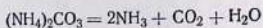
В год на земном шаре организмами синтезируется до 30 млн. т мочевины. Это существенные ресурсы азота, так как мочевины содержит 46% этого элемента и используется как удобрение.

Мочевая и гиппуровая кислоты также имеют значение в обмене веществ у представителей животного и растительного царств. В почве эти соединения быстро распадаются под влиянием гидролитических ферментов микроорганизмов.

Мочевина, в частности, под действием микроорганизмов, содержащих фермент уреазу, превращается в аммиак и углекислый газ:



Образующаяся углеаммиачная соль малоустойчива и разлагается на составные части:

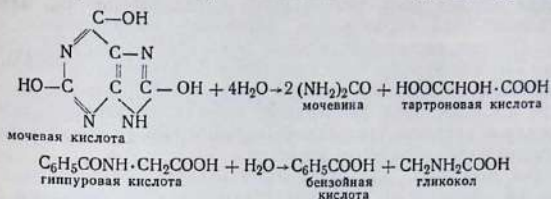


Многие бактерии и грибы имеют уреазу и могут использовать мочевины в качестве источника азота для синтеза белков. Обычно бактерии, разлагающие мочевины, называются уробактериями. Эти бактерии могут развиваться при высокой щелочности среды (pH 9—10), что позволяет им вызывать распад значительных количеств мочевины до аммиака. Из специфических уробактерий отметим *Micrococcus urea* из семейства *Micrococcaceae* рода *Micrococcus*, *Bacillus pasteurii* из семейства *Bacillaceae* рода *Bacillus*, *Sporosarcina urea* и другие из рода *Sporosarcina*.

Физиологический смысл распада мочевины, по-видимому, сводится к переводу аминной формы азота в более легкоусвояемую аммиачную.

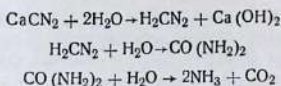
Разложение мочевоы и гиппуровой кислот может иметь энергетическое значение. Эти соединения разрушаются рядом микроор-

ганизмов. Процесс их гидролиза показан в следующих уравнениях:



Цианамид кальция (CaCN_2) используют как азотное удобрение, которое само по себе не ассимилируется растениями, но в почве быстро превращается в аммиак.

Разложение цианамидов кальция проходит в три этапа. Первый протекает самопроизвольно под влиянием почвенной влаги и приводит к превращению цианамидов кальция в цианамид. Ряд почвенных катионов Ca, Mg, Fe и т. д. вызывает превращение цианамидов в мочевины. Гидролиз мочевины происходит под влиянием уробактерий. Цикл этих превращений дан в следующих уравнениях:



Разложение хитина осуществляют многие почвенные микроорганизмы, так как хитин представляет собой вещество, постоянно присутствующее в почве. Хитин — это азотсодержащий полисахарид, полимер ацетилглюкозамина. Он содержится в наружном скелете беспозвоночных животных, в панцирных покровах насекомых, в клеточной стенке многих грибов, в частности, базидиомицетов и аскомицетов.

Способностью разлагать хитин обладают бактерии родов *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Cytophaga*; актиномицеты родов *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*; муконовые грибы и аспергиллы, например *Aspergillus fumigatus*. Особенно активно разлагается хитин актиномицетами. Под действием синтезируемого микроорганизмами фермента хитиназы хитин вначале разлагается на хитобиозу и хитотриозу, которые затем расщепляются хитобиазой до уксусной кислоты, глюкозы и аммиака.

НИТРИФИКАЦИЯ

Аммиак, образующийся в почве, навозе и воде при разложении органических веществ, довольно быстро окисляется до азотистой, а затем азотной кислоты. Этот процесс получил название нитрификации.

До середины XIX в., точнее, до работ Л. Пастера явление образования нитратов объяснялось как химическая реакция окис-

ления аммиака атмосферным кислородом, причем предполагалось, что почва играет роль химического катализатора. Л. Пастер предположил, что образование нитратов — микробиологический процесс. Первые экспериментальные доказательства этого предположения были получены Т. Шлезингом и А. Мюнцем в 1879 г. Эти исследователи пропускали сточные воды через длинную колонку с песком и CaCO_3 . При фильтрации аммиак постепенно исчезал и появлялись нитраты. Нагревание колонки или внесение антисептиков прекращало окисление аммиака.

Однако выделить культуры возбудителей нитрификации не удалось ни упомянутым исследователям, ни микробиологам, продолжавшим изучение нитрификации. Лишь в 1890—1892 г. С. Н. Виноградский, применив особую методику, изолировал чистые культуры нитрификаторов. С. Н. Виноградский сделал допущение, что нитрифицирующие бактерии не растут на обычных питательных средах, содержащих органические вещества. Это было вполне правильным и объяснило неудачи его предшественников. Нитрификаторы оказались хемолитавототрофами, очень чувствительными к наличию в среде органических соединений. Эти микроорганизмы удалось выделить, используя минеральные питательные среды.

С. Н. Виноградский установил, что существуют две группы нитрификаторов — одна группа осуществляет окисление аммиака до азотистой кислоты ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$) — первая фаза нитрификации, другая окисляет азотистую кислоту до азотной ($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) — вторая фаза нитрификации.

Бактерии обеих групп в настоящее время относят к семейству Nitrobacteriaceae. Это одноклеточные грамотрицательные бактерии. Среди нитрифицирующих бактерий имеются виды с весьма различающейся морфологией — палочковидные, эллипсоидные, сферические, извитые и дольчатые, плеоморфные. Размеры клеток разных видов Nitrobacteriaceae колеблются от 0,3 до 1 мкм в ширину и от 1 до 6,5 мкм в длину. Имеются подвижные и неподвижные формы с полярным, субполярным и перитрихальным жгутикованием. Размножаются в основном делением, за исключением Nitrobaeter, который размножается почкованием. Почти у всех нитрификаторов имеется хорошо развитая система внутритополазматических мембран, значительно различающихся по форме и расположению в клетках разных видов. Эти мембраны подобны мембранам фотосинтезирующих пурпурных бактерий.

Бактерии первой фазы нитрификации представлены пятью родами: Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrospiras, Nitrosolobus и Nitrososvibrio. Единственный микроорганизм, детально изученный к настоящему времени, — Nitrosomonas europaea.

Nitrosomonas представляет собой короткие овальные палочки размером 0,8—1×1—2 мкм. В жидкой культуре Nitrosomonas проходят ряд стадий развития. Две основные из них представлены подвижной формой и неподвижными зооглеями. Подвижная форма

Нитроксил, как и гидроксилламин, по-видимому, может димеризоваться в гипонитрит или превращаться в закись азота N_2O — побочный продукт процесса нитрификации.

Кроме первой реакции (образования гидроксилламина из аммония), все последующие превращения сопровождаются синтезом макроэргических связей в виде АТФ, необходимых клеткам микроорганизмов для связывания CO_2 и других биосинтетических процессов.

Фиксация CO_2 нитрификаторами осуществляется через восстановительный пентозофосфатный цикл, или цикл Кальвина. В результате фиксации углекислоты образуются не только углеводы, но и другие важные для бактерий соединения — белки, нуклеиновые кислоты, жиры и т. д.

По существовавшим до последнего времени представлениям, нитрифицирующих бактерий относили к облигатным хемолитоавтотрофам.

Сейчас получены данные, свидетельствующие о способности нитрифицирующих бактерий использовать некоторые органические вещества. Так, отмечено стимулирующее действие на рост *Nitrobacter* в присутствии нитрита дрожжевого автолизата, пиридоксина, глютаминовой кислоты и серина. Поэтому предполагают, что нитрифицирующие бактерии обладают способностью переключаться с автотрофного на гетеротрофное питание. Нитрифицирующие бактерии все же не растут на обычных питательных средах, так как большое количество легкоусвояемых органических веществ, содержащихся в таких средах, задерживает их развитие.

Отрицательное отношение этих бактерий к органическому веществу в лабораторных условиях, казалось бы, противоречит естественным условиям их обитания. Известно, что нитрифицирующие бактерии хорошо развиваются, например, в черноземах, навозе, компостах, то есть в местах, где содержится много органического вещества.

Однако указанное противоречие легко устраняется, если сравнить количество легкоокисляемого углерода в почве с теми концентрациями органического вещества, которое нитрификаторы выдерживают в культурах. Так, органическое вещество почв представлено главным образом гуминовыми веществами, на которые приходится, например, в черноземе 71—91% общего углерода, а усвояемые водорастворимые органические вещества составляют не более 0,1% общего углерода. Следовательно, нитрификаторы не встречают в почве больших количеств легкоусвояемого органического вещества.

Этапность процесса нитрификации — характерный пример так называемого метабриоза, то есть такого рода трофических связей микробов, когда один микроорганизм развивается после другого на отходах его жизнедеятельности. Как было показано, аммиак — продукт жизнедеятельности аммонифицирующих бактерий используется *Nitrosomonas*, а нитриты, образующиеся последними, служат источником жизни для *Nitrobacter*.

Возникает вопрос о значении нитрификации для земледелия. Накопление нитратов происходит с неодинаковой интенсивностью на разных почвах. Однако этот процесс находится в прямой зависимости от плодородия почвы. Чем богаче почва, тем большее количество азотной кислоты она может накапливать. Существует метод определения доступного растениям азота в почве по показаниям ее нитрификационной способности. Следовательно, интенсивность нитрификации можно использовать для характеристики агрономических свойств почвы.

Вместе с тем при нитрификации происходит лишь перевод одного питательного для растений вещества — аммиака в другую форму — азотную кислоту. Нитраты, однако, обладают некоторыми нежелательными свойствами. В то время как ион аммония поглощается почвой, соли азотной кислоты легко вымываются из нее. Кроме того, нитраты могут восстанавливаться в результате денитрификации до N_2 , что также обедняет азотный запас почвы. Все это существенно снижает коэффициент использования нитратов растениями. В растительном организме соли азотной кислоты при их использовании для синтеза должны быть восстановлены, на что тратится энергия. Аммоний же используется непосредственно. В связи с этим ставится вопрос о подходах к искусственному снижению интенсивности процесса нитрификации путем использования специфических ингибиторов, подавляющих активность бактерий-нитрификаторов и безвредных для других организмов.

Следует отметить, что некоторые гетеротрофные микроорганизмы способны осуществлять нитрификацию. К гетеротрофным нитрификаторам относятся бактерии из родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Nocardia* и некоторые грибы из родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*. Установлено, что *Arthrobacter* sp. окисляет в присутствии органических субстратов аммиак с образованием гидроксидламина, а затем нитрита и нитрата.

Некоторые бактерии способны вызывать нитрификацию таких азотсодержащих органических веществ, как амиды, амины, гидроксамовые кислоты, нитросоединения (алифатические и ароматические), оксимы и др.

Гетеротрофная нитрификация встречается в естественных условиях (почвах, водоемах и других субстратах). Она может приобретать главенствующее значение, особенно в атипичных условиях (например, при высоком содержании органических C- и N-соединений в щелочной почве и т. п.). Гетеротрофные микроорганизмы способствуют не только окислению азота в этих атипичных условиях, но и могут вызывать образование и накопление токсических веществ; веществ, обладающих канцерогенным и мутагенным действием, а также соединений с химиотерапевтическим действием. В связи с тем, что некоторые из этих соединений вредны для человека и животных даже при относительно низких концентрациях, следует тщательно изучить их образование в естественных условиях.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ АЗОТА

При определенных условиях имеющиеся в почве минеральные формы азота вследствие бурного развития микроорганизмов потребляются ими и переводятся в белок цитоплазмы. Подобный процесс, называемый иммобилизацией азота, наблюдается, например, при внесении в почву значительной массы соломы или соломыстых удобрений. В результате иммобилизации азота использование его растениями заметно снижается, что приводит к уменьшению урожая. Таким образом, иммобилизация представляет собой процесс обратный минерализации.

Установлено, что превращение азотсодержащих соединений по пути минерализации или иммобилизации полностью определяется соотношением азота и углерода в органическом веществе, вносимом в почву. Если субстрат имеет узкое соотношение C к N , то при его разложении накапливается аммиак, так как микроорганизмам не хватает углеродсодержащих соединений для ассимиляции азота. Сушеная кровь животных, например, при распаде в почве дает много аммиака. Соотношение C к N в ней равно $4,2 : 1$. При внесении в почву массы, богатой углеводами и бедной азотом, происходит потребление минерального азота. Например, в соломе зерновых культур соотношение C к N приближается к $100 : 1$. Вследствие внесения ее в почву происходит «биологическое закрепление» минерального азота.

Скорость и размеры ассимилируемого микробами азота связаны также и с типом углеродсодержащего соединения. Так, глюкоза, легко ассимилируемая микроорганизмами, может вызвать значительно более быстрое закрепление азота, чем целлюлоза или тем более лигнин, очень трудно разрушаемый микроорганизмами.

В общем можно считать, что органические соединения с соотношением C к N , близким к $20-25 : 1$ и меньшим, способствуют накоплению минеральных форм азота в почве, а вещества с более широким соотношением этих элементов вызывают иммобилизацию азотных запасов. Экспериментальные данные показывают, что в среднем на каждые 100 г разложенного органического вещества (имеющего 50 г C) микроорганизмы потребляют 2 г азота.

Биологически закрепленный азот не теряется из почвы. После отмирания микроорганизмов белковые вещества минерализуются и превращаются в аммиак.

Иммобилизация неорганического азота имеет важное агрономическое значение. Так, удобрение почвы, предназначенной под зерновые культуры, растительными остатками, бедными азотом, нежелательно, потому что это ухудшает азотное питание растений. Соломыстые удобрения можно вносить в почву лишь с добавлением соответствующих доз азотных удобрений, что дает хороший результат. С другой стороны, в осеннее время года иммобилизация может быть полезной, так как нитраты и аммиак связываются и не теряются в результате выщелачивания зимой. Весной азот, связанный в микробной клетке, хотя бы частично минерализуется

и превращается в аммиак и нитраты, которые затем могут быть использованы растениями. Таким образом, сезон года определяет полезность или вредность процесса иммобилизации.

Бобовые растения, фиксирующие в симбиозе с бактериями атмосферный азот, не испытывают депрессии от внесения соломи-стых удобрений. Наоборот, последние увеличивают их урожай и способствуют лучшему азотнакоплению.

ДЕНИТРИФИКАЦИЯ

В почве совершается ряд процессов, в результате которых окисленные формы азота (нитраты, нитриты) восстанавливаются до окислов азота или молекулярного азота. Это приводит к существенным потерям из почвы ценных для растений соединений. Восстановление нитратов и нитритов до газообразных азотных соединений происходит в результате процессов прямой и косвенной денитрификации. Под прямой денитрификацией подразумевают биологическое восстановление нитратов, а под косвенной — химическое восстановление нитратов. Прямая, или биологическая, денитрификация, в свою очередь, расчленяется на ассимиляторную и диссимиляторную денитрификацию.

При ассимиляторной денитрификации нитраты восстанавливаются до NH_3 , который служит источником азота для построения клеточных веществ. К указанной денитрификации способны растения и многие микроорганизмы. В процессах диссимиляторной денитрификации нитраты используются в качестве окислителя органических веществ вместо молекулярного кислорода, что обеспечивает микроорганизмы необходимой энергией. Эти энергетические процессы называются нитратным дыханием.

Способностью диссимиляторной денитрификации обладают только специфические факультативно-анаэробные бактерии. В почве преобладают роды денитрификаторов *Pseudomonas* и *Paracoccus* (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Ps. stutzeri*, *Paracoccus denitrificans*).

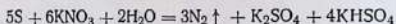
Помимо отмеченных мезофильных микроорганизмов, денитрификацию могут вызывать и термофильные бактерии, развивающиеся при температуре 55—65°C. Это спорообразующие бактерии, относящиеся к роду *Bacillus*.

Денитрифицирующие бактерии используют нитраты в качестве акцептора водорода при отсутствии O_2 для окисления органических веществ. При этом анаэробном дыхании органические вещества полностью окисляются до CO_2 и H_2O . Таким образом, денитрификаторы растут аэробно без нитратов или анаэробно в их присутствии. Большинство органических субстратов, используемых в аэробном окислении, может быть потреблено при отсутствии O_2 , но когда в среде имеются нитраты. Существование денитрификаторов в анаэробных условиях обеспечивают не только нитраты, но и нитриты.

В зависимости от вида микроорганизма, осуществляющего диссимиляторную денитрификацию нитратов или нитритов, конечными продуктами этих процессов могут быть N_2 , N_2O и NO : $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \uparrow \rightarrow N_2O \uparrow \rightarrow N_2 \uparrow$.

Начальный этап восстановления нитратов при диссимиляторной денитрификации катализируется ферментом нитратредуктазой. Образование этого фермента в клетках микроорганизмов происходит под воздействием нитрата только в анаэробных условиях. В присутствии кислорода воздуха синтез нитратредуктазы не происходит.

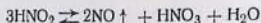
Восстанавливать нитраты могут некоторые хемолитоавтотрофы. Например, *Thiobacillus denitrificans* — факультативно-анаэробный сероокисляющий организм — способен размножаться в анаэробных условиях, используя нитраты в качестве конечного акцептора водорода. Источником энергии для *Thiobacillus denitrificans* служит элементарная сера или тиосульфат, превращающиеся в сульфат. Нитрат восстанавливается до газообразного азота. Этот энергетически выгодный процесс протекает следующим образом:



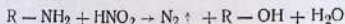
Кроме указанных денитрификаторов, восстанавливают нитраты и многие другие организмы.

Микробиологическая денитрификация в почве вызывает потерю минерального азота. Это достаточно широко распространенный в природе процесс, в результате которого в атмосферу ежегодно поступает из почв и водоемов 270—330 млн. т азота. Особенно существенную роль может играть этот процесс в переувлажненных почвах, а также в случаях, когда минеральные азотные удобрения вносятся в форме нитратов совместно с навозом или другими органическими удобрениями. Анализ условий протекания денитрификации в почве приводится в специальной части учебника.

Потери азота из почвы могут происходить и в результате различных химических реакций (косвенная денитрификация). Так, в кислых почвах при pH среды ниже 5,5 не исключается следующая химическая реакция с потерей NO :



Молекулярный азот образуется химическим путем при реакции между азотистой кислотой и аминокислотами или солями аммония, протекающей также при pH ниже 5,5:



БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА

ОТКРЫТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ФИКСИРУЮЩИХ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АЗОТ

Запасы газообразного азота в атмосфере практически неисчерпаемы. Над 1 км² земной поверхности в воздухе содержится около 8 млн. т азота, но этим огромным фондом азота не могут воспользоваться ни растения, которым необходим азот минеральных соединений, ни животные, потребляющие азот в форме органических соединений.

Однако существуют азотфиксирующие микроорганизмы, способные питаться молекулярным азотом и строить из него все разнообразие азотсодержащих органических соединений своей клетки. Эти микроорганизмы свободно живут в почве или находятся в симбиозе с растениями. Азотфиксирующие микроорганизмы обуславливают повышение плодородия почвы, и их изучению уделяется большое внимание. Рациональное использование биологической фиксации молекулярного азота дает возможность существенно повысить урожай и экономнее расходовать минеральные азотные удобрения.

Впервые обогащение субстратов азотом в результате деятельности свободноживущих микроорганизмов было показано французским ученым Жюденом в 1882 г. Он установил, что питательные растворы в замкнутых сосудах, содержащие органические безазотистые вещества, могут обогащаться азотом при развитии в них микроорганизмов.

В 1885 г. другой французский ученый — М. Бертло подтвердил этот факт в отношении почвы. В стерилизованной почве за летний период содержание азота не изменялось, а в нестерильной — возрастало. Это позволяло предположить, что почва обогащается азотом с помощью микроорганизмов.

Чистую культуру азотфиксирующего микроорганизма впервые выделил С. Н. Виноградский (1893). Это была анаэробная спорообразующая палочка, названная *Clostridium pasteurianum*. Несколько позднее голландский микробиолог М. Бейеринк (1901) открыл *Azotobacter chroococcum* — аэробную бактерию, также способную усваивать молекулярный азот.

Первоначально считали, что связывать молекулярный азот могут лишь отдельные специализированные виды микроорганизмов, однако в последнее время было установлено, что функция азотфиксации присуща представителям различных микроорганизмов — бактериям разных систематических групп, актиномицетам, а также многим сине-зеленым водорослям (цианобактериям).

Некоторые азотфиксирующие микроорганизмы живут в симбиозе с высшими растениями, в частности с бобовыми. О том, что бобовые растения повышают плодородие почвы писали греческие и римские мыслители, жившие за 100—150 лет до нашей эры. Значительно позднее было доказано, что благоприятное воздействие на почву бобовых растений тесно связано с обогащением ее азотом. Первые точные эксперименты в этом направлении принадлежат французскому ученому Ж. Буссенго (1838).

Классическими работами немецких ученых Г. Гельригеля и Г. Вильфарта (1886—1888) было показано, что существует взаимосвязь между нахождением на корнях бобовых растений бородавчатых наростов (корневых клубеньков) и фиксацией растениями свободного азота. В клубеньках обнаружили бактерии. Еще в 1866 г. М. С. Воронин опубликовал работу, в которой описал микроскопические тельца, находившиеся в тканях клубеньков.

Чистую культуру клубеньковых бактерий выделил М. Бейеринк в 1888 г. Им было доказано, что данные бактерии вызывают образование клубеньков, в которых происходит усвоение молекулярного азота. Клубеньки или подобные клубенькам образования имеются у многих растений, не относящихся к бобовым, и они также способны усваивать молекулярный азот. Формирование этих клубеньков происходит под влиянием микроорганизмов, относящихся к различным систематическим группам (бактерии, актиномицеты). У ряда небобовых растений выделили чистые культуры их симбионтов.

Цианобактерии (сине-зеленые водоросли) могут фиксировать атмосферный азот в чистых культурах. В природных условиях они часто живут в симбиозе с грибами, мхами и т. д.

В некоторых случаях микроб-симбионт внедряется в ткани растительного организма (эндосимбиоз), в других — происходит тесное сожительство (эктосимбиоз). В. Сильвестер предложил схему азотфиксирующих симбиозов (рис. 33).

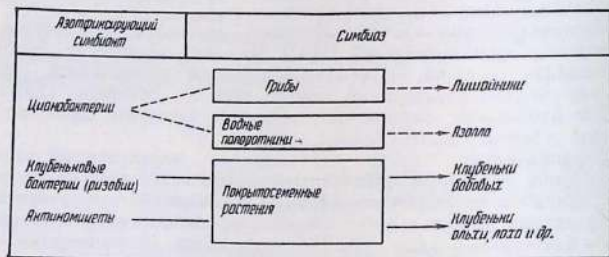


Рис. 33. Схема азотфиксирующих симбиозов: сплошная линия — эндо-, пунктирная — эктосимбиоз.

Многие свободноживущие азотфиксирующие микроорганизмы интенсивнее всего развиваются в зоне ризосферы корней растений и на их поверхности, то есть там, где имеется экзосмос органических веществ.

СВОБОДНОЖИВУЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ, ФИКСИРУЮЩИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АЗОТ

К настоящему времени установлено, что многие свободноживущие бактерии — представители около 30 видов — могут фиксировать молекулярный азот. Большое значение в фиксации азота имеет семейство *Azotobacteriaceae* (бактерия *Azotobacter chroococcum*, открытая М. Бейеринком и др.).

Молодые клетки азотобактера представляют собой палочки размером 2—3×4—6 мкм. Позже они превращаются в крупные кокки диаметром до 4 мкм. Кокковидные клетки обычно покрываются капсулой и содержат разные включения (жир, крахмал и т. д.).

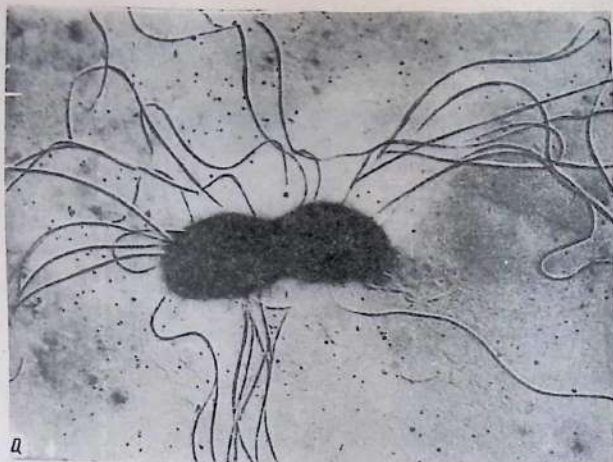
Иногда у кокковидных клеток появляется толстая оболочка, и они превращаются в цисты. На одних питательных средах палочки быстро приобретают кокковидную форму, на других — по истечении длительного времени. Палочковидные клетки микроба имеют жгутики и обладают подвижностью. При переходе палочек в кокки жгутики обычно теряются (рис. 34).

Из описанных видов азотобактера наиболее изучены *Az. chroococcum*, *Az. vinelandii* и *Az. agilis*. Эти виды различаются между собой размерами и формой клетки, а также некоторыми другими признаками, в частности пигментацией колоний. Так, колонии *Az. chroococcum* имеют бурый, почти черный цвет. Для *Az. agilis* характерны бесцветные колонии, *Az. vinelandii* дает флюоресцирующую желтовато-зеленоватую окраску среды. Наиболее обычен для почвы *Az. chroococcum*.

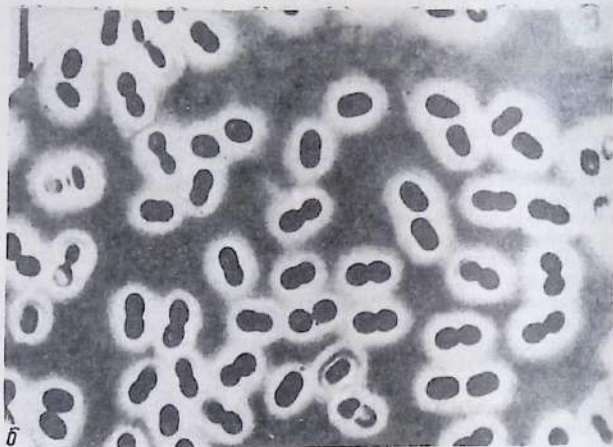
Все виды азотобактера аэробы. В качестве источника азота могут ассимилировать соли аммония, нитриты, нитраты и аминокислоты. При отсутствии связанных форм азота фиксируют молекулярный азот. Небольшие дозы азотсодержащих соединений не депрессируют фиксацию азота, а иногда даже стимулируют ее. Увеличение дозировки связанного азота в среде полностью подавляет усвоение молекулярного азота.

Энергия усвоения азота у отдельных культур азотобактера колеблется в широком диапазоне. Активные культуры связывают 15—20 мг азота на 1 г потребленного органического вещества.

Азотобактер способен использовать огромный набор органических соединений — моно- и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), многие спирты, органические кислоты, в том числе ароматические. Вообще азотобактер проявляет высокую потребность в органических веществах. Поэтому он в больших количествах встречается в почвах, хорошо заправленных органическими удобрениями.



а



б

Рис. 34. *Azotobacter chroococcum*:
а — палочковидная клетка со жгутиками; б — кокковидные клетки, окруженные слизистой капсулой (по Т. М. Кадыровой).

Для роста азотобактер нуждается в элементах минерального питания, особенно в фосфоре и кальции. Потребность азотобактера в этих элементах столь значительна, что его используют в качестве биологического индикатора на наличие фосфора и кальция в почве.

Для энергичной фиксации молекулярного азота азотобактеру и другим фиксаторам азота нужны микроэлементы. Важное значение имеет молибден, который входит в состав ферментов, катализирующих процесс усвоения азота.

Отмеченные физиологические особенности азотобактера определяют экологию данного организма. Он обитает в высокоплодородных, достаточно влажных почвах с нейтральной или близкой к ней реакцией среды. При дефиците увлажнения большинство клеток этого микроорганизма отмирают. Во многих черноземах, каштановых и сероземных почвах, благоприятных для азотобактера, его обнаруживают в значительных количествах лишь весной. При летнем иссушении почвы в ней остаются немногочисленные его зародыши. В зоне подзолистых и дерново-подзолистых почв азотобактер можно найти в огородных и пойменных почвах, богатых органическими соединениями, с благоприятным значением рН.

Отметим, что из ризосферы тропического злака *Paspalum notatum* был выделен *Azotobacter*, дающий колонии зеленого тона и имеющий некоторые физиологические отличия от типовой культуры. Этот микроорганизм назван *Azotobacter paspali*.

К семейству *Azotobacteriaceae* относятся бактерии рода *Beijerinckia*, близкие по свойствам к азотобактеру. От азотобактера они отличаются значительной кислотоустойчивостью, кальцифобностью и некоторыми другими свойствами. Они могут расти даже в среде с рН около 3.

Впервые бактерия рода *Beijerinckia* была получена из кислых почв рисовых полей Индии Р. Старки и П. Де (1939). Ее назвали *Azotobacter indicum*. Материал, накопленный позднее, показал, что рассматриваемый микроорганизм относится к особому роду, названному в честь известного голландского ученого М. Бейеринка — *Beijerinckia*. К настоящему времени описан ряд видов бактерий этого рода.

Клетки *Beijerinckia* имеют различную форму — палочковидную, овальную или круглую. У некоторых видов они подвижны, у других неподвижны. Иногда наблюдается образование капсул. Цисты и эндоспоры отсутствуют.

Большинство культур бактерий рода *Beijerinckia* дают на безазотной среде с глюкозой выпуклые, блестящие, нередко складчатые слизистые колонии вязкой консистенции. При старении колонии окрашиваются в красноватый или темно-коричневый цвет. В отличие от азотобактера, *Beijerinckia* не усваивает ароматические соединения и хуже ассимилирует органические кислоты. При развитии на углеводах в среде накапливаются кислые продукты (уксусная и другие органические кислоты). Бактерии рода *Beijerinckia* менее требовательны по сравнению с азотобактером к концентрации фосфорных соединений в среде. Небольшие дозы соединений

кальция тормозят рост *Beijerinckia*. Значительно менее, чем азотобактер, *Beijerinckia* чувствительна к повышенной концентрации солей железа и алюминия. *Beijerinckia* нуждается в молибдене, но довольствуется меньшими его дозами.

Бактерии рода *Beijerinckia* широко распространены в кислых почвах субтропической и тропической зон. Реже они встречаются в почвах зоны умеренного климата. В СССР бактерии рода *Beijerinckia* найдены в красноземах Грузии. В окультуренных кислых почвах юга содержится больше клеток *Beijerinckia*, чем в целинных. Целинные луговые почвы богаче бактериями рода *Beijerinckia*, чем лесные.

К свободноживущим фиксаторам молекулярного азота семейства *Azotobacteriaceae* относятся также виды рода *Dejxia*, получившего свое наименование в честь голландского микробиолога Г. Деркса. Это медленно растущие на безазотных средах палочковидные бактерии, обладающие в определенной стадии развития жгутиком. Колонии могут быть пленочными или слизистыми. При старении они становятся желтовато-коричневыми. *Dejxia* обнаружена в почвах тропической зоны, как и бактерии рода *Azomonas*, также близкие к азотобактеру. Последние имеют округлые клетки и образуют колонии с флюоресцирующим пигментом.

Как показали исследования последнего времени, в почве могут находиться азотфиксирующие бактерии рода *Klebsiella* (семейство *Enterobacteriaceae*), представляющие собой грамотрицательные, подвижные с перитрихальным расположением жгутиков, факультативно-анаэробные палочки. Они выносят довольно низкое значение рН и в большом количестве имеются в лесных подзолистых почвах. В зоне умеренного климата они встречаются и под травянистой растительностью.

К данному семейству относится род *Egwinia*, представители которого, населяющие надземную часть травянистых растений, могут усваивать атмосферный азот.

К азотфиксаторам относятся и некоторые расы *Pseudomonas fluorescens* (семейство *Pseudomonadaceae*). Этот аэробный микроб богаче представлен в почвах северной зоны.

Среди бактерий, фиксирующих молекулярный азот, имеются вибрионы и спириллы. Недавно большой интерес вызвали работы Ж. Доберейнер (Бразилия), показавшей, что в тропических почвах на корнях травянистых растений присутствуют аэробные фиксирующие молекулярный азот спириллы. В то время как большинство сапрофитных азотфиксаторов населяют почву прикорневой зоны (ризосферу), спириллы находятся на самой поверхности корня (ризоплане) и подчас даже проникают в корневую систему. Таким образом эти микроорганизмы тесно связаны с растениями, и можно ожидать, что они оказывают существенное влияние на их рост.

Изучение физиологических свойств отмеченных спирилл показало, что существует по крайней мере две их группы — *Azospirillum lipoferum* и *Azospirillum brasilense*, отличающиеся некоторыми физиологическими свойствами. Растения с типом C_4 -фотосинтеза

(кукуруза, просо, сорго и т. д.) имеют на корневой системе преимущественно *A. lipofegum*, а растения с типом C_3 -фотосинтеза (рис, пшеница и др.) — *A. brasilense*. Исключение составляет сахарный тростник, заражаемый преимущественно *A. brasilense*.

Достаточно широкие исследования ряда микробов позволяют заключить, что бактерии рода *Azospirillum* встречаются на корневой системе растений и в более северной зоне, доминируя в зоне южных почв.

Обнаружены и другие аэробные азотфиксирующие бактерии, экология и роль которых в почвенных процессах еще достаточно не изучена. Это представители рода *Arthrobacter*, относящегося к коринебактериям — микробам, на определенных этапах развития образующим искривленные, неправильной формы клетки и т. д.

Из анаэробных азотфиксаторов довольно хорошо изучены представители рода *Clostridium* (семейство *Bacillaceae*).

Как отмечалось выше, первым из свободноживущих фиксаторов азота был открыт *Clostridium pasteurianum*. Этот микроорганизм имеет палочковидные клетки длиной 1,5—8 мкм и шириной 0,8—1,3 мкм. Молодые клетки несут перитрихально расположенные жгутики, старые — образуют споры (см. рис. 29). При спорообразовании клетки утолщаются посередине или на конце. В присутствии кислорода воздуха *Cl. pasteurianum* может развиваться только при наличии в среде аэробных бактерий, поглощающих кислород, малочувствителен к реакции среды и встречается как в кислых (рН 4,5—5,5), так и в щелочных (рН 8—9) почвах. Споры *Cl. pasteurianum* довольно устойчивы: они выдерживают нагревание до 96°C в течение нескольких минут.

В качестве источника азотного питания бактерии рода *Clostridium* могут использовать соли аммония, азотной кислоты и многие содержащие азот органические соединения. При дефиците этого элемента бактерии усваивают молекулярный азот. Источником углерода для *Cl. pasteurianum* может быть широкий набор углеродсодержащих соединений — моносахариды, дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал) и органические кислоты. Развиваясь на питательных средах, содержащих углеводы, *Cl. pasteurianum* разлагает их с образованием масляной и уксусной кислот, углекислого газа и водорода. Освобождающаяся при сбраживании углеводов энергия частично идет на усвоение газообразного азота атмосферы.

Cl. pasteurianum обычно считался слабоактивным фиксатором азота. Пределом его активности было связывание от 1 до 3 мг азота на 1 г сброженного сахара. Однако, используя питательные среды, наиболее отвечающие физиологическим потребностям *Cl. pasteurianum*, удалось повысить его активность до 10—12 мг азота на 1 г сброженного сахара, а в некоторых случаях и более.

Способность фиксировать азот атмосферы свойственна и другим видам рода *Clostridium* (*Cl. butyricum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. pectinovorum*, *Cl. felsineum* и т. д.). Эти бактерии близки в систематическом отношении к *Cl. pasteurianum*, но отличаются от него фер-

ментативными свойствами. Так, *Cl. acetobutylicum* вызывает ацетобутиловое брожение, *Cl. pectinovorum* может разлагать пектин и т. д. Отдельные виды *Clostridium* приурочены к определенным почвам (см. главу 14).

Из других анаэробных азотфиксирующих бактерий в почвах нередко обнаруживается *Bacillus polymyxa*, относящаяся к семейству *Bacillaceae*. Этот микроорганизм в качестве углеродного питания использует простые сахара и некоторые полисахариды, а также пектин.

Небольшие количества молекулярного азота могут фиксировать некоторые олиготрофные бактерии.

Весьма своеобразная обстановка для микроорганизмов вообще и азотфиксаторов в частности создается на затопленных полях под посевами риса. При разложении массы растительных остатков в почве под слоем воды наряду с другими веществами образуются газообразные соединения — водород, метан, CO_2 . Установлено, что H_2 и CH_4 могут быть источниками энергии и питания для некоторых азотфиксирующих бактерий. Имеются кориневые и микобактерии, способные жить автотрофно, окисляя водород и ассимилируя углекислоту. Одновременно они фиксируют молекулярный азот.

Метан используется специфическими азотфиксирующими бактериями из рода *Methylobacter* (семейство *Methylobacteriaceae*), которые в аэробных условиях могут жить, окисляя только метан или метиловый спирт. Это небольшие моноциты, не образующие спор.

В воде рисовых полей, а также в других водоемах можно обнаружить и других азотфиксаторов, представляющих собой анаэробные бактерии. К ним относятся фототрофные пурпурные серобактерии (*Thiocapsa*, *Chromatium*, *Thiocystis* и др.), пурпурные несерные бактерии (*Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* и др.) и зеленые серобактерии (*Chlorobium*, *Pelodictyon*).

В почвах, загрязненных нефтью, развивается специфический ценоз микроорганизмов, усваивающих молекулярный азот. В основном здесь размножаются ассимилирующие углеводороды кориневые бактерии (*Arthrobacter*).

К активным азотфиксаторам относятся аэробные цианобактерии (сине-зеленые водоросли). Можно считать, что все микроорганизмы этой группы, обладающие гетероцистами (клетки с толстой оболочкой), способны фиксировать N_2 . Они входят в порядки *Mastigocladales*, *Stigonematales* и *Nostocales* класса *Hormogoniophyceae*. В почвах СССР обнаружено около 130 видов и разновидностей гетероцистных форм цианобактерий. Из них к азотсоединителям принадлежат роды *Anabaena*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*, *Calothrix*, *Tolypothrix* и *Scytonema*, причем наиболее распространены в почвах представители рода *Nostoc*.

Усвоение молекулярного азота происходит в гетероцистах, то есть в клетках, куда ограничен доступ кислорода. Тем не менее ферментный аппарат, связывающий N_2 , обнаружен и в вегетативных клетках гетероцистных форм цианобактерий. Это послужило

основанием для поиска негетероцистных азотфиксирующих форм. В последнее время они найдены — это представители родов *Plectonema* и *Phormidium*, которые, не обладая гетероцистами, могут связывать N_2 . В СССР подобные формы найдены Е. М. Панкратовой.

Цианобактерии распространены во всех почвенно-климатических зонах. Однако они предпочитают нейтральную среду, и поэтому их численность и видовой состав существенно возрастают в нейтральных почвах южной зоны. Отдельные их виды приурочены к определенным местам обитания. Многие цианобактерии живут в симбиозе с другими растительными организмами, например, — с грибами, образуя при этом лишайники. В результате адаптации к местным условиям они приобрели способность фиксировать азот при температуре, близкой к $0^\circ C$, иногда азотфиксация происходит даже при $-5^\circ C$, оптимальная температура для этого процесса $15-20^\circ C$. В тропиках цианобактерии находятся в симбиозе с саговниками и печеночниками, а также с водным папоротником *Azolla* и т. д.

В природной обстановке цианобактерии всегда сожительствуют с другими микроорганизмами — бактериями и грибами. В местах разрастания водорослей особенно много олиготрофных бактерий. Массовое развитие цианобактерий отмечается в сильно увлажненных почвах, где они нередко образуют «цветение» почв. Аналогичное явление имеет место в водоемах при обильном размножении водорослей. В неорошаемых окультуренных почвах наиболее благоприятные условия для роста цианобактерий бывают весной и осенью, то есть в периоды увлажнения почвы, а в поливных, кроме того, и после орошения пашни.

Вклад свободноживущих азотфиксаторов в азотный фонд почвы весьма существен. Вопрос о роли свободноживущих и симбиотических азотфиксаторов в азотном балансе почв рассмотрен в главе 16.

СИМБИОТИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ АЗОТА У БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

В корневую систему бобовых растений проникают специфические бактерии, образующие на ней клубеньки. Эти микроорганизмы получили название «клубеньковых бактерий». Между бактериями и растениями устанавливаются симбиотические отношения. Бактерии питаются органическими соединениями, синтезированными растением, а растение получает из клубеньков связанные соединения азота.

На рисунке 35 показаны клубеньки разных растений. Они неодинаковы по форме и величине.

Бобовые растения принадлежат к порядку *Leguminosae*, имеющему несколько семейств. Клубеньки образуются лишь у представителей семейства *Papilionaceae*.

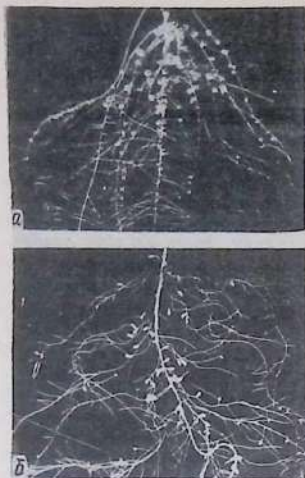


Рис. 35. Клубеньки на корнях бобовых растений:

а — корневая система соевых бобов; б — клевера лугового (по Ф. Манжиню).

К бобовым растениям относится около 10 000 видов, 200 из которых используют в сельском хозяйстве. Они играют большую роль в обогащении почвы азотом и в получении сельскохозяйственной продукции, богатой высококачественным белком.

Выделенные в 1888 г. М. Бейеринком из клубеньков ряда бобовых растений бактерии относятся к роду *Rhizobium*. Клубеньковые бактерии отдельных растений несколько отличаются друг от друга. Поэтому род *Rhizobium* следует рассматривать как целую группу родственных микроорганизмов. Эти бактерии представляют собой грамотрицательные неспорообразующие аэробные палочки шириной от 0,5 до 0,9 мкм и длиной от 1,2 до 3 мкм. Наблюдения свидетельствуют о возможности появления в культурах *Rhizobium* в цикле их развития мелких форм, проходящих даже через фильтры Беркфельда.

Представители рода *Rhizobium* имеют жгутики. Одни из них являются монотрихами, другие — перитрихами. При старении клубеньковые бактерии теряют подвижность и переходят в состояние так называемых опоясанных палочек, у которых при обработке анилиновыми красителями хорошо окрашенные участки протоплазмы чередуются с плохо окрашенными (рис. 36). Это зависит от того, что с возрастом бактериальная клетка наполняется жировыми включениями, не воспринимающими окраску. Молодые клетки *Rhizobium* красятся равномерно.

Как в бактериологических средах, так и в клубеньках при старении культуры *Rhizobium* образуются утолщенные, разветвленные, грушевидные или почти сферические образования. Они значительно крупнее обычных клеток клубеньковых бактерий. Подобные увеличенные в размерах клетки называются бактероидами. Бактероиды неподвижны и не способны к размножению. Многие исследователи считают бактероиды инволюционными формами. Тем не менее наиболее энергичный процесс усвоения азота в клубеньках отмечается тогда, когда клубеньковые бактерии принимают форму бактероидов. Поэтому можно предположить, что бактероиды, особенно молодые, сохраняют ряд физиологических функций в активном состоянии. Цикл развития бактероидов изучен В. К. Шильниковой.

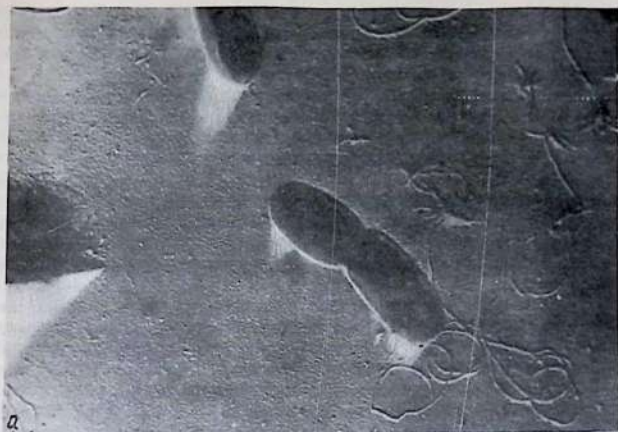


Рис. 36. Клубеньковые бактерии:

а — клетка со жгутиками; б — опоясанная клетка.

На бактериологических питательных средах клубеньковые бактерии отдельных видов бобовых растений растут с различной скоростью. Так, клубеньковые бактерии клевера, гороха, фасоли и люцерны растут быстро, а бактерии сои, люпина, арахиса и вигны — медленно. На плотных средах клубеньковые бактерии обычно образуют бесцветные прозрачные слизистые колонии, иногда с шероховатой поверхностью.

В качестве источника азота клубеньковые бактерии могут использовать различные соединения — соли аммония и азотной кислоты, многие аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, биурет и т. д. На обычных средах в чистых культурах клу-

беньковые бактерии не усваивают молекулярный азот. В последние годы установлено, что на специфических питательных средах при отсутствии кислорода чистые культуры *Rhizobium* усваивают некоторое количество молекулярного азота.

Клубеньковые бактерии могут ассимилировать разнообразные углеводы, в том числе и некоторые полисахариды (декстрин, гликоген). При усвоении углеводов некоторые культуры образуют кислоты. Им доступны также многие органические кислоты и многоатомные спирты.

Необходимый фосфор клубеньковые бактерии усваивают из минеральных и органических соединений. Калий, кальций и другие элементы они получают из неорганических веществ. Клубеньковым бактериям нужны также железо, некоторые микроэлементы (молибден и др.).

Клубеньковые бактерии лучше развиваются, если в среде имеются витамины группы В. Ряд витаминов (тиамин, В₁₂, рибофлавин) и ростовые вещества (гетероауксин, гиббереллины, цитокинины и т. д.) эти бактерии синтезируют сами.

Для большинства культур *Rhizobium* оптимальное значение pH находится в пределах 6,5—7,5, а при pH 4,5—5 и 8 их рост приостанавливается. Имеются указания, что встречаются культуры *Rhizobium*, относительно устойчивые к кислой среде и образующие клубеньки в почвах, pH которых около 5.

Оптимальная температура для большинства культур *Rhizobium* около 24—26°C, температуры ниже 5°C и выше 37°C приостанавливают их рост. У экологических рас *Rhizobium* не наблюдается смещения минимальной и максимальной температурных точек. У северных культур лишь несколько ниже лежат оптимальные температуры.

Отдельные культуры *Rhizobium* характеризуются избирательностью (специфичностью) по отношению к растению-хозяину. Это свойство легло в основу систематики клубеньковых бактерий, которая выделяет следующие виды *Rhizobium*: *Rh. leguminosarum* — бактерии гороха, вики, кормовых бобов, чечевицы; *Rh. phaseoli* — фасоли; *Rh. japonicum* — сои; *Rh. vigna* — вигны, маша, арахиса; *Rh. cicer* — нута; *Rh. lupini* — люпина; *Rh. trifolii* — клеверов; *Rh. meliloti* — люцерны, донника, тригонеллы; *Rh. simplex* — эспарцета; *Rh. lotus* — лядвенца; *Rh. robinii* — акации.

В некоторых случаях наблюдается не только видовая, но и сортовая специфичность клубеньковых бактерий. У клубеньковых бактерий гороха, клевера, люцерны и эспарцета сортовая специфичность выражена слабо, а у бактерий соевых бобов, люпина и бобов она проявляется резко.

Видовая специфичность клубеньковых бактерий иногда нарушается. Отдельные культуры *Rhizobium* дают перекрестное заражение, то есть инфицируют разные, иногда не столь близкие виды бобовых растений. Растения, зараженные неспецифическими культурами *Rhizobium*, слабо фиксируют атмосферный азот. Поэтому явление перекрестного заражения считается нежелательным.

Принципиально важно то, что клубеньковые бактерии, внедряясь в растение, вызывают образование у него иммунитета, препятствующего дальнейшему заражению корневой системы. Поэтому старая ткань корня, особенно верхняя часть главного корня, бывает густо покрыта клубеньками, а на более молодых корнях клубеньков нет, или имеются только мелкие.

Растение, зараженное неспецифической расой *Rhizobium*, препятствует проникновению в корень свойственной ему культуры клубеньковых бактерий.

В последнее время большое внимание уделяли механизму «узнавания» растения-хозяина и микроба-спутника. Исследованиями установлено, что на поверхности клеточной стенки бобовых растений имеется белок, к которому избирательно «прилипают» лишь специфические клубеньковые бактерии. Очевидно, бактерии присоединяются к белку, находящемуся на поверхности корневого волоска, через полисахариды (липополисахариды) своей клеточной оболочки. Предполагается, что в ответ на действие полисахаридов бактерий на клеточной стенке бобового растения появляется «антитело-белок», названный лектином. Он связывает полисахариды оболочки *Rhizobium*. По-видимому, бактериальные полисахариды тождественны полисахаридам поверхности растительных клеток, что объясняет специфичность их связывания.

Отмеченными факторами определяется способность клубеньковых бактерий входить в контакт с корневой системой бобовых растений и затем проникать в ткани корня, размножаться там и вызывать образование клубеньков. Это свойство клубеньковых бактерий называется их вирулентностью.

Энергичное усвоение азота может быть лишь в том случае, если растение инфицируется вирулентной культурой *Rhizobium*, которая должна быть конкурентоспособной в почве и не угнетаться другими микроорганизмами. Вирулентность — это природное свойство культуры, но она может быть повышена искусственно пассированием культуры клубеньковых бактерий через растение, воздействием на них мутагенов и т. д. При определенных условиях клубеньковые бактерии могут снизить или полностью утратить вирулентность.

Существенное свойство клубеньковых бактерий — их активность (эффективность), то есть способность в симбиозе с бобовыми растениями ассимилировать молекулярный азот. В почве могут быть штаммы клубеньковых бактерий эффективные, неэффективные и переходные между ними. Заражение бобовых растений эффективными штаммами клубеньковых бактерий способствует активной фиксации азота. Неэффективный штамм дает образование клубеньков, но фиксации азота в них не происходит. Эффективность клубеньковых бактерий изменяется в зависимости от внешних условий. Особенно легко происходит потеря эффективности бактерий при длительном их культивировании на искусственных питательных средах или в неблагоприятных почвенных условиях. Добиться превращения неэффективных рас в эффективные

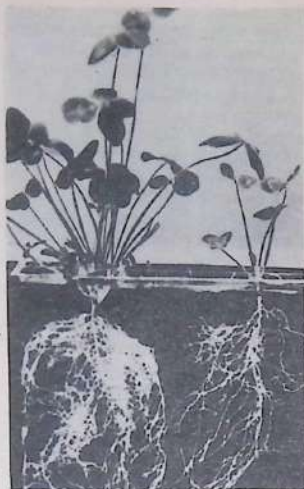


Рис. 37. Растения клевера, зараженные разными по активности клубеньковыми бактериями:

слева — растения, корневая система которых имеет клубеньки, образованные активной культурой; *справа* — растения, зараженные малоактивной культурой (по Е. Фреду).

трудно. На рисунке 37 показано влияние разных по активности культур *Rhizobium* на клевер.

Клубеньки, образованные активными и неактивными расами *Rhizobium*, различаются по ряду признаков. Это прежде всего разное распределение клубеньков по корневой системе растений. Активные расы клубеньковых бактерий образуют многочисленные клубеньки на главном корне, а на боковых их бывает мало. Клубеньки, образованные активными культурами, окрашены в розовый цвет. Эту окраску придает им

пигмент, химический состав которого близок к составу гемоглобина крови. Он называется леггемоглобином (или левоглобином), то есть гемоглобином бобовых растений. Леггемоглобин находится в вакуолях растительной клетки и легко удаляется из них водой. По-видимому, леггемоглобин способствует процессу усвоения азота, поддерживая окислительно-восстановительное состояние на определенном уровне. Клубеньки, возникшие при инфекции неактивными расами *Rhizobium*, обеднены леггемоглобином и имеют зеленоватый цвет. В бактериоидах активных культур не накапливается гликоген, в то время как в бактериоидах неактивных штаммов он всегда содержится.

Изоэлектрическая точка ткани клубенька, образованного активными культурами, лежит значительно ниже (рН около 3—4), чем в ткани клубенька, возникшего под влиянием неактивного штамма (рН около 6—6,5). Имеются и другие различия в свойствах активных и неактивных клубеньков.

Рассмотрим процесс образования клубеньков на корнях бобовых растений. На развивающемся в почве корне бобового растения размножается обильная микрофлора, свойственная ризосфере растений, в том числе и специфические для данного вида растений клубеньковые бактерии. Внедрение бактерий в корни растений происходит преимущественно через корневые волоски.

Среди разнообразных продуктов, выделяемых корневой системой, имеются небольшие количества триптофана. Под влиянием клубеньковых бактерий триптофан превращается в индол-3-уксус-

ную кислоту. Последняя вызывает своеобразное изменение формы корневых волосков, которые изгибаются в виде ручки зонтика. Клубеньковые бактерии проникают в корневой волосок в точках, где оболочка оказывается проницаемой для них. Существенную роль в улучшении проницаемости оболочки корневого волоска играет фермент полигалактуроназа. В незначительных количествах он всегда находится в корневых волосках и, очевидно, вызывая частичное растворение компонентов оболочки, позволяет клетке волоска растягиваться, что облегчает внедрение *Rhizobium*.

В корневом волоске клубеньковые бактерии образуют так называемую инфекционную нить. Она представляет собой слизистый тяж, в который погружены размножающиеся клетки клубеньковых бактерий. Нить передвигается к основанию волоска к клеткам эпидермиса. Этот путь, равный 100—200 мкм, она проходит в течение 1—2 суток, то есть со скоростью 5—8 мкм/ч. Передвижение нити может быть обусловлено давлением, которое возникает внутри нее при развитии бактерий. Как правило, в корневом волоске образуется одна нить.

При внедрении в растительные клетки инфекционная нить покрывается оболочкой, которая формируется из целлюлозной оболочки клетки и по своим гистохимическим показателям равна ей. Клубеньковые бактерии способны размножаться лишь в тетраплоидных клетках коры и частично эпидермиса корня растений. Поэтому, когда инфекционная нить встречает на пути подобные клетки, то часть клубеньковых бактерий переходит в их цитоплазму и начинает там размножаться.

Инфицирование клубеньковыми бактериями цитоплазмы растительной клетки вызывает ее активное деление, а также деление соседних незараженных клеток. Усиленное размножение зараженных клеток и находящихся под их стимулирующим воздействием соседних неинфицированных клеток приводит к образованию вздутия — клубенька (рис. 38).

Клетки бактерий, перешедшие в цитоплазму растительных клеток, вытягиваются и приобретают вид опоясанных палочек. В этом состоянии они продолжают размножаться. Затем клетки клубеньковых бактерий превращаются в бактероиды. Бактероиды не делятся, но они значительно увеличиваются в объеме. Постепенно набухая, бактероиды на-

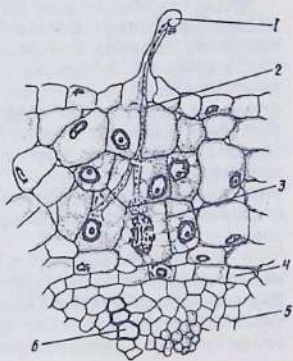


Рис. 38. Образование клубенька на корне бобового растения (схема):

1 — инфицированный корневой волосок; 2 — инфекционная нить; 3 — делящиеся клетки растения; 4 — эпидерма; 5 — центральный цилиндр корня; 6 — ксилема (по Г. Торнтону).

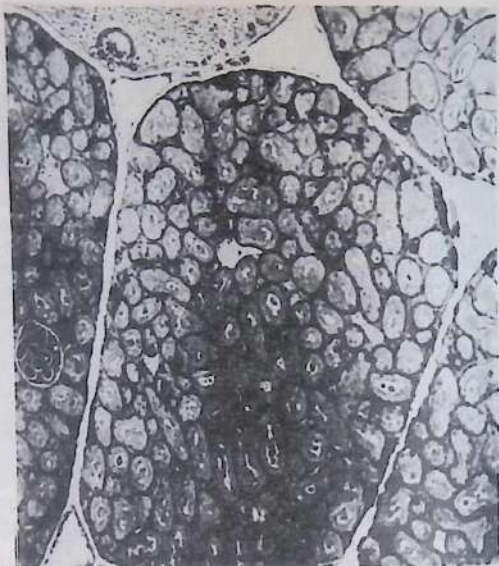


Рис. 39. Клетки клубеньковой ткани, наполненные бактериоидами клубеньковых бактерий (по Ф. Бергерсену).

чинают занимать большую часть растительной клетки, которая, в свою очередь, также увеличивается (рис. 39).

В период образования бактериоидов митохондрии и пластиды клетки перемещаются к клеточной оболочке и располагаются вдоль нее. В это же время в клубеньках появляется леггемоглобин.

Со временем клубеньки дегенерируют и отмирают. В этом процессе заметную роль играет опробковение клеток сосудистой системы, задерживающее обмен питательными веществами между растением-хозяином и тканями клубеньков. В клетках клубеньков появляются вакуоли. Ядро перестает окрашиваться, а бактериоиды растворяются (лизуются). Лизис бактериоидов происходит в период окончания активной жизни клубеньков, обычно совпадающий с некрозом клубеньков во время окончания цветения растения-хозяина.

У однолетних растений клубеньки также однолетние, однако у многолетних они могут функционировать в течение ряда лет. К концу сезона бактериоидная ткань клубеньков многолетних растений дегенерирует, но клубеньки не отмирают и на следующий год вновь начинают функционировать.

Количество клубеньков на корнях бобовых растений всегда бывает более или менее ограниченным. Клубеньки содержат больше азота, чем остальные части растения. Это служит доказательством тому, что именно в клубеньках протекает процесс усвоения азота. Отсюда связанный азот перемещается в надземную часть растения. Раньше предполагали, что содержащий азот вещества освобождаются после лизиса бактериальной клетки, но более поздние исследования показали, что в период наиболее активной фиксации азота клетки клубеньков наполнены бактериоидами. Следовательно, передача связанного азота из тканей клубенька в наземную часть растения происходит в период, когда бактериоиды находятся в жизнеспособном состоянии.

Определенное количество усвоенного растениями азота выделяется корнями в почву. Основная часть продуктов экзосмоса представлена аминокислотами (преимущественно аспарагиновой кислотой).

Взаимоотношения между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями, обеспечивающие хорошую и энергичную фиксацию азота, создаются при действии комплекса факторов (оптимальные влажность, аэрация, температура, pH; присутствие в доступной форме фосфора, калия, микроэлементов и т. д.). Обычно почвы содержат в достаточно большом количестве клубеньковые бактерии тех видов бобовых растений, которые имеются в составе дикой флоры данной местности или длительное время там культивируются. Если указанные растения не произрастают и не имеется родственных по инокуляционной способности видов, то собственные им клубеньковые бактерии в данных почвах отсутствуют.

На количество клубеньковых бактерий в почве влияют ее свойства и состояние. Например, в нейтральных почвах (черноземах и др.) бактерии размножаются лучше, чем в кислых, и здесь чаще встречаются их активные формы. Окультуривание почв, особенно связанное с внесением органических удобрений, улучшает условия для размножения клубеньковых бактерий.

Исследования показывают, что неэффективные штаммы клубеньковых бактерий в почвах если не преобладают, то встречаются очень часто. По-видимому, инактивация *Rhizobium* вызывается комплексом неблагоприятных свойств почв: повышенной кислотностью, недостатком органических веществ и т. д.

В почвах всегда имеются фаги клубеньковых бактерий. В нейтральных и слабокислых почвах фаги более многочисленны. Они обнаруживаются в ризосфере, на клубеньках и даже на поверхности растений. Большинство фагов обладают способностью лизировать разные виды *Rhizobium*, но встречаются и узкоспециализированные их формы. Под влиянием фагов часть клубеньковых бактерий в почве уничтожается. Поскольку под небобовыми культурами воспроизводства *Rhizobium* не происходит, то уменьшение его численности может быть частично вызвано явлением бактериофагии. Некоторые культуры *Rhizobium*, по данным Я. И. Раутенштейна, обладают фагоустойчивостью.

Приведенные материалы свидетельствуют о том, что нередко в почвах отсутствуют или имеются ослабленные для определенных бобовых растений культуры клубеньковых бактерий. Поэтому для обеспечения эффективного симбиоза рекомендуют семена бобовых заражать проверенными, высококачественными культурами *Rhizobium*, специфичными для данного растения.

Следует отметить случай оригинального симбиоза *Rhizobium* с бобовым растением. У тропического бобового *Sesbania rostrata* клубеньки образуются не только на корнях, но и на стебле и в условиях влажного и жаркого климата активно фиксируют молекулярный азот.

СИМБИОТИЧЕСКАЯ АЗОТФИКСАЦИЯ У НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Более ста лет назад было установлено, что многие небобовые растения образуют на корневой системе клубеньки. Их обнаружили как у древесных и кустарниковых, так и у травянистых растений. Однако основательное изучение природы этих образований было начато недавно, и сейчас этому вопросу посвящена обширная литература.

Клубеньки обнаружены у большого числа растений, относящихся к разным систематическим группам, но в пределах даже одного рода их образуют далеко не все виды. Общее число видов растений, имеющих клубеньки, по данным Г. Бонда, достигает 200, а при дальнейших исследованиях этот показатель будет увеличиваться.

Появление клубеньков у небобовых растений может быть вызвано разными факторами, но в значительном числе случаев их возникновение связано с внедрением в корневую систему микроорганизмов, фиксирующих молекулярный азот. Эти микробы-симбионты в значительном числе случаев малоизучены, так как их с трудом удается выделить в чистую культуру. Тем не менее имеющиеся материалы позволяют заключить, что у древесной и кустарниковой растительности клубеньки в большинстве случаев образуются азотфиксирующими актиномицетами, а у травянистой — бактериями.

Клубеньки у покрытосеменных деревьев и кустарников — многолетние и имеют крупные размеры (рис. 40). Они формируются на боковых корнях и бывают двух типов — коралловые сферические и с прорастающими через дольки



Рис. 40. Везикулы, образованные микробом *Frankia* в клубеньке ольхи (по И. Гарднеру).

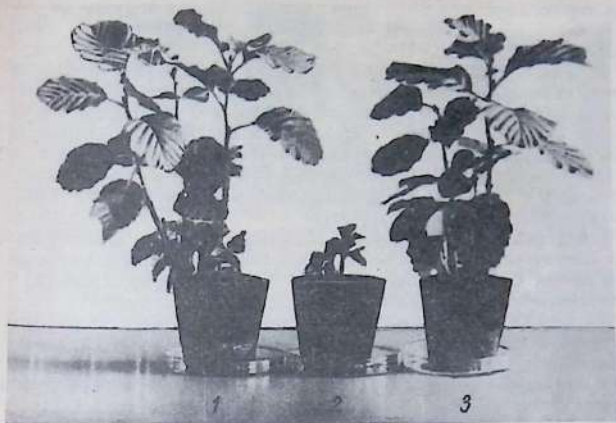


Рис. 41. Влияние *Frankia* на рост ольхи: в первом и третьем сосудах — растения, инфицированные *Frankia*; во втором — незараженное растение (контроль) (по С. О. Суетину).

клубенька корнями, направленными вверх. Первый тип клубеньков, например, имеется у ольхи и облепихи, второй — у восковника. После длительной работы удалось разработать специальную методику выделения микроба-симбионта. Оказалось, что им является азотфиксирующий актиномицет, отнесенный к роду *Frankia*. Это аэробный организм с септированным мицелием, образующий спорангии.

Очевидно, разным растениям свойственны различные симбионты рода *Frankia*, но пока деление этого рода на виды на основании культуральных признаков не разработано. Установлено, однако, что эти микроорганизмы обладают определенной специфичностью по отношению к растениям. Так, одна группа *Frankia* инокулирует ольху, восковник и «сладкий» папоротник (компония), а вторая — облепиху и шефердию.

В определенных условиях чистые культуры *Frankia* фиксируют молекулярный азот. При симбиозе с растениями энергия азотфиксации у них больше, чем у клубеньковых бактерий бобовых растений. Симбиотическое образование актиномицетов с растениями иногда называют «актиноризой». Оно улучшает рост растения (рис. 41).

При инокуляционном процессе актиномицет проникает в корневые волоски, которые в результате скручиваются. В месте заражения стенки корневого волоска утолщаются и гифы, проникшие внутрь клетки, покрываются толстым чехлом. По мере продвиже-

ния гиф по корневым волоскам чехол утончается, и гифы окружаются капсулой, образуемой, по-видимому, как растением, так и микробом.

Из корневого волоска гифы проникают в эпидермис и кору, вызывая деление и гипертрофию зараженных клеток. Клубки гиф обычно заполняют центр клеток растения, а на периферии у клеточных стенок происходит расширение и деление концов гиф, при этом образуются особые структуры — везикулы (см. рис. 40). В конце вегетации последние деградируют, а в клетках растений сохраняются гифы, инокулирующие весной новые ткани. Иногда процесс протекает по другому пути.

В настоящее время известны 17 родов древесных и кустарниковых покрытосеменных растений, образующих с *Frankia* клубеньки. Они относятся к порядкам *Casuarinales*, *Coriariales*, *Fagales*, *Cucurbitales*, *Myricales*, *Rhamnales* и *Rosales*.

Клубеньки могут быть также у большой группы травянистых растений — злаковых, осоковых, лютиковых и т. д. Исследования, проведенные И. Л. Кливенской и другими микробиологами, показали, что клубеньки по структуре можно разделить на три группы. Вместе с тем из всех них выделяются микробные ассоциации, состоящие из 2—3 компонентов, которые представлены грамположительными и грамотрицательными бактериями. Показано, что клубеньки обеспечивают процесс азотфиксации, но какова роль отдельных микробов в этом процессе, пока не выяснено.

По данным А. Н. Парийской, Л. В. Калакутского, у некоторых травянистых растений (мятлик луговой — *Poa pratensis*) клубеньки по инфекционному процессу и структуре сходны с аналогичными образованиями бобовых растений.

Подобное заключение сделано М. Тринником о клубеньках тропического кустарника *Trema orientalis* (семейство крапивных). Бактерии, выделенные из клубеньков этого растения, могли заражать некоторые бобовые культуры.

В опытах Д. Беккинга установлено, что *Trema*, как и близкая к ней *Parasponia parviflora*, могут образовывать клубеньки при заражении их культурами клубеньковых бактерий бобовых растений. Наиболее успешно образование клубеньков идет в случае, если используют бактериальные культуры, выделенные из клубеньков тропических бобовых растений, то есть произрастающих в зоне, характерной для рассматриваемых растений. Таким образом, у *Trema* и *Parasponia* клубеньки образуются бактериями рода *Rhizobium*, но, в отличие от бобовых культур, инфекционные нити бактерии не проходят в клетки клубенька.

Возможно, что некоторые азотфиксирующие небобовые травянистые растения целесообразно будет использовать в полевой культуре.

У ряда растений обнаружены клубеньки на листьях. В них находятся бактерии, усваивающие молекулярный азот. К настоящему времени листовые клубеньки найдены у значительного числа южных растений. Из клубеньков кустарников *Pavetta* и *Psychotria*

легко выделяются азотфиксирующие бактерии, отнесенные к роду *Klebsiella*. Они названы *Klebsiella tubacearum*.

Листовые клубеньки обогащают растительные ткани азотом. Поэтому в некоторых странах (например, Шри-Ланка) листья *Pavetta* используют в качестве зеленого удобрения.

Исследованиями Я. Руинен, М. М. Умарова показано, что определенное значение в азотнакоплении вегетирующими растениями имеет эпифитная (филлосферная) бактериальная микрофлора. Среди богатого микробного населения, живущего на поверхности растений и питающегося выделениями растительных клеток, значительное количество (до 50—60%) составляют разнообразные азотфиксирующие бактерии (*Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и т. д.).

В отдельных работах указано, что фиксировать азот способны грибы, образующие эндотрофную микоризу. Так, использование изотопного метода ($^{15}\text{N}_2$) позволило выявить фиксацию азота в совместной культуре сосны лучистой *Pinus radiata* и гриба *Rhizoglyphus roseolus*. Гриб может фиксировать азот только в симбиозе с растениями и не проявляет этой способности в чистой культуре.

ХИМИЗМ ФИКСАЦИИ МИКРООРГАНИЗМАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА

Молекулярный азот обладает большой инертностью и с трудом вступает в химическую связь с другими элементами и веществами. Используемый в промышленности метод Габера — Боша для получения из атмосферного воздуха аммиака требует температуры около 500°C и высокого давления (около 350 атм). Биологическая же азотфиксация проходит в самых обычных условиях. Это вызывает особый интерес к каталитическим системам микроорганизмов, усваивающих молекулярный азот. Их изучение имеет не только большой научный интерес, но и может дать существенный результат для химической технологии.

Следует напомнить, что атомы молекулы азота соединены тремя связями ($\text{N}\equiv\text{N}$). Труднее всего разрывается первая связь, существенно легче — вторая и наиболее легко — третья. Разрыв этих связей происходит не сразу, а последовательно, под воздействием ряда ферментных систем. Совершенно очевидно также, что процесс связывания молекулярного азота весьма энергоемок. Поэтому энергетический обмен азотфиксаторов должен как-то отличаться от обмена других микробов. Действительно, В. Л. Кретовичем установлено, что при развитии на молекулярном азоте микробы-азотусвоители на единицу массы новообразованных клеток тратят больше энергии, чем при росте на связанных соединениях азота.

В принципе фиксация молекулярного азота может идти по восстановительному или окислительному пути. Каждый из этих путей многоступенчат и должен катализироваться своей ферментной системой. В клетках микроорганизмов процесс идет по восстановительному пути. Сейчас известно, что в среде, где развиваются азот-

фиксаторы не только анаэробные, но даже аэробные, устанавливается низкий окислительно-восстановительный потенциал. Аэрация среды резко тормозит процесс фиксации азота, так как кислород является энергичным акцептором водорода и депрессирует образование восстановленных продуктов азота.

Важным аргументом в пользу восстановительного пути фиксации атмосферного азота служит обнаружение в культурах и бесклеточных препаратах азотфиксаторов восстановленных продуктов азота (NH_3 , NH_2OH и т. д.). Весьма существенно также, что ряд предполагаемых продуктов восстановления азота ($\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$, NH_2OH , NH_3) усваивается культурами фиксаторов азота, а наиболее вероятный первый продукт окисления азота — закись азота N_2O — плохо ассимилируется ими.

Предполагается, что химизм фиксации азота если не тождествен, то близок у аэробных и анаэробных форм микроорганизмов. Допущение же возможности первичного окисления молекулы азота аэробными микроорганизмами привело бы к неизбежному выводу о разных путях фиксации азота аэробами и анаэробами, что трудно допустить.

Таким образом, следует признать, что при фиксации азота происходит восстановление молекулярного азота.

Изучение фиксации молекулярного азота культурами микроорганизмов позволило заключить, что процесс идет активно лишь при наличии в среде соединений молибдена и железа. Это свидетельствует о том, что отмеченные элементы входят в каталитическую ферментную систему, восстанавливающую молекулярный азот до аммиака.

Первые опыты по изучению ферментного комплекса, обеспечивающего азотфиксацию, относятся к 1934 г., когда академик А. Н. Бах и его сотрудники сделали попытку получения бесклеточного препарата, содержащего нитрогеназу — фермента, связывающего молекулярный азот. Эта весьма сложная задача была решена лишь недавно работами многих ученых.

Можно считать установленным, что нитрогеназа состоит из двух фракций. Одна из них, содержащая Mo , получила наименование молибдобелок. Препараты этой фракции, выделенные из различных азотфиксирующих микроорганизмов, близки по свойствам, но различаются по молекулярной массе (в пределах 180 000—270 000). Молибдобелок состоит из четырех белков, несколько различающихся по молекулярной массе. В молибдобелок входят сульфидные группы и железо. Он инактивируется кислородом.

Молибден играет важную роль в структуре нитрогеназы. Функции его многогранны. Он непосредственно участвует в связывании азота, активизируя восстановительную систему и молекулярный азот, поддерживает структуру нитрогеназы и ее биосинтез и т. д. В переносе электронов к азоту от восстановителя, по-видимому, принимают участие соединения железа. Сульфидные группировки содействуют снижению окислительно-восстановительного потенциала.

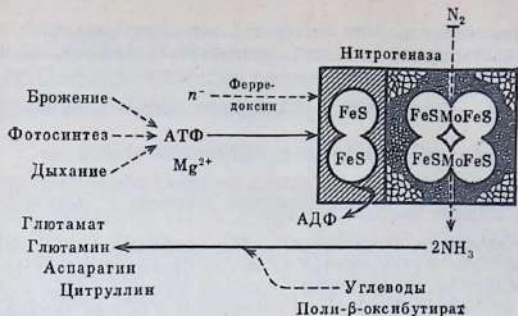


Рис. 42. Взаимосвязь процессов, лежащих в основе фиксации молекулярного азота (по В. Л. Кретовичу).

Вторая фракция нитрогеназы содержит железо и названа железобелок. Она имеет молекулярную массу 55 000 и состоит из двух равных белковых субъединиц. В нее входят сульфидные группы, эта фракция, как и молибдобелок, инактивируется кислородом.

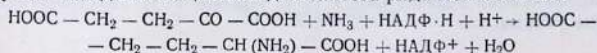
Активирование азота и водорода, необходимое для превращения N_2 в NH_3 , в клетках азотфиксаторов осуществляется белком негеминной природы — ферредоксином (Fd), молекулярная масса которого составляет около 6000, или близкими к нему соединениями. Их окислительно-восстановительный потенциал лежит в зоне потенциала водородного электрода. Чтобы произошел процесс восстановления азота до аммиака, необходим источник энергии в виде АТФ, а также ионы магния.

В. Л. Кретович приводит схему процесса усвоения азота и дальнейшего превращения аммиака в органические кислоты (рис. 42). Восстановление N_2 до NH_3 идет ступенчато. Первоначально N_2 превращается в диимид ($HN=NH$), затем в гидразин (H_2N-NH_2) и, наконец, в NH_3 .

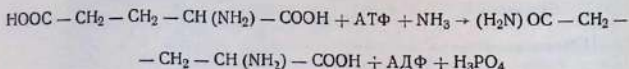
Установлено, что нитрогеназа может восстанавливать не только молекулярный азот, но и другие соединения, в частности ацетилен C_2H_2 до этилена C_2H_4 . Это свойство нитрогеназы используют для определения ее активности.

Нитрогеназа при участии АТФ катализирует также восстановление ионов водорода, образующихся при процессе азотфиксации, до молекулярного водорода.

Аммиак, образовавшийся при фиксации N_2 , связывается кетокислотами, что приводит к синтезу аминокислот. Так, из α -кетоглутарата и аммиака получается глутаминовая кислота, которая служит исходным веществом для синтеза ряда метаболитов:



Глютаминовая кислота с затратой энергии в виде АТФ превращается в глутамин, а из него синтезируется важнейший метаболит — аспарагин:



Из щавелевоуксусной кислоты и аммиака образуется аспарагиновая кислота, из пировиноградной кислоты и NH_3 — α -аланин и т. д.

В дальнейшем аминокислоты транспортируются в наземную часть растения и расходуются на синтез белков и других органических соединений. У некоторых бобовых культур отток азотсодержащих веществ из клубеньков происходит в форме амидов, а также уреидов (аллантиона и аллантииновой кислоты).

Леггемоглобин, содержащийся в активно фиксирующих азот клубеньках, служит переносчиком кислорода к бактериоидам клубеньков. Вместе с тем он нормирует поступление кислорода в клубеньки, так как нитрогеназа чрезвычайно чувствительна к этому элементу.

Свободноживущим анаэробным азотфиксаторам (*Clostridium pasteurianum*) подобная защита не требуется. В среде их обитания кислород отсутствует. Клетки аэробных бактерий, усваивающих молекулярный азот, обычно окружены слизистой массой, изолирующей их от воздуха. У цианобактерий N_2 -фиксация протекает, как правило, в особых клетках — гетероцистах, имеющих мощную оболочку.

Как было отмечено, процесс азотфиксации требует существенных энергетических затрат, которые аккумулируются у микроорганизмов в виде АТФ. Для клубеньковых бактерий «биологическим топливом» в процессе азотфиксации служат продукты фотосинтеза, поступающие из листьев растений. Они трансформируются и запасаются в клетках бактериоидов главным образом в виде β -оксимасляной кислоты, при использовании которой происходит генерация АТФ. У свободноживущих сапрофитных азотфиксаторов для этой цели служат разнообразные органические соединения, ассимилируемые из окружающей среды. Бактерии (в том числе цианобактерии), содержащие хлорофилл, получают энергию от фотосинтеза.

При использовании различных комплексных соединений, имеющих переходные металлы, работу нитрогеназы удается моделировать.

Эти исследования дают основание утверждать, что со временем будет разработан промышленный способ мягкой химической фиксации молекулярного азота. Работу по моделированию процесса азотфиксации ведут в СССР А. Е. Шилов, Г. И. Лихтенштейн и другие ученые.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ, ФОСФОРА, ЖЕЛЕЗА

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЦИКЛ СОЕДИНЕНИЯ СЕРЫ

Сера — необходимый питательный элемент для организмов. В почве сера встречается в форме сульфатов, главным образом $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, Na_2SO_4 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, сульфидов (FeS_2 , Na_2S , ZnS и др.) и органических соединений. Сера содержится в аминокислотах белков растений, животных и микроорганизмов. Валовые запасы серы в почвах сравнительно невелики, и растения часто ощущают недостаток в ней.

Органические и неорганические формы серы под влиянием деятельности микроорганизмов подвергаются в почве различным превращениям (рис. 43). Направление трансформаций соединений серы регулируется в основном факторами внешней среды. Органические соединения серы могут быть разрушены и минерализованы. В определенных условиях восстановленные неорганические соеди-

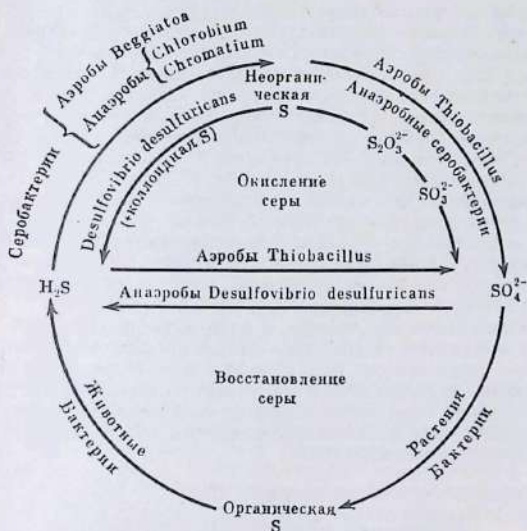


Рис. 43. Цикл соединений серы.

нения серы подвергаются окислению микроорганизмами, а окисленные соединения серы (сульфаты, сульфиты и др.) могут быть восстановлены в H_2S .

ОКИСЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ

Активными окислителями восстановленных соединений серы являются следующие группы микроорганизмов:

тионовые бактерии, представленные четырьмя родами: *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron* и *Sulfobolus*;

одноклеточные и многоклеточные (нитчатые) формы, образующие трихомы и относящиеся к родам *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Thiospira*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca* и др.;

фотосинтезирующие пурпурные и зеленые серобактерии, а также некоторые цианобактерии;

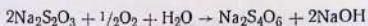
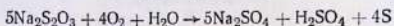
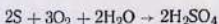
хемоорганогетеротрофные организмы из родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиномицеты и грибы (*Penicillium*, *Aspergillus*).

Первая группа микробов обитает в почве. Нитчатые формы встречаются главным образом в грязевых водоемах. Возможно их развитие в затопленных почвах, содержащих восстановленные формы серных соединений. Фотосинтезирующие бактерии свойственны водной среде (пруды, морские лагуны, озера и т. д.).

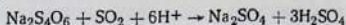
Наиболее широко распространены тионовые бактерии рода *Thiobacillus*, впервые выделенные из морского ила в 1902 г. Натансоном, а в 1904 г. — М. Бейеринком. Эти бактерии способны окислять тиосульфат, сероводород, сульфиды, тетрагидраты и тиоцианаты. Бейеринк отнес эти микроорганизмы к особой группе с родовым названием *Thiobacillus*. Род *Thiobacillus* представлен многими видами (*Th. thiooxidans*, *Th. thioparus*, *Th. novellus*, *Th. denitrificans*, *Th. ferrooxidans* и др.).

Бактерии рода *Thiobacillus* представляют собой неспорообразующие грамотрицательные палочки длиной от 1 до 4 мкм и диаметром около 0,5 мкм. Большинство видов этого рода подвижны и передвигаются посредством полярного жгутика. В качестве источника углерода для синтеза углеводов и других органических соединений бактерии используют CO_2 и бикарбонаты.

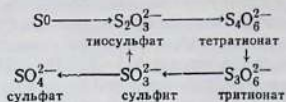
За исключением *Th. novellus* и некоторых других видов, относящихся к факультативным хемолитоавтотрофам и хемолитогетеротрофам, представители рода *Thiobacillus* — облигатные хемолитоавтотрофы, то есть живут за счет энергии, выделяющейся в процессе окисления неорганических соединений серы. Ход окислительных процессов, вызываемых серобактериями, может быть представлен следующими уравнениями:



Тетратрионаты могут подвергаться дальнейшему окислению до серной кислоты:



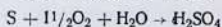
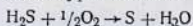
Гипотетическая цепь реакций окисления элементарной серы бактериями рода *Thiobacillus* может быть представлена в следующем виде:



По современным представлениям, сера из среды поступает в клеточную вакуоль (наполненную волютином) тиобактерии путем диффузии и накапливается в ней в виде запасного материала. Эта сера может окисляться по мере надобности. Скорость ее окисления зависит от площади соприкосновения серы с бактериальными клетками. Это позволило предположить, что на клеточной поверхности бактерий действуют ферменты, способствующие поступлению серы внутрь клетки, и под их воздействием сера восстанавливается до сульфидного иона, окисление которого происходит в дальнейшем внутриклеточно.

Тионовые бактерии — облигатные аэробы, за исключением *Th. denitrificans*, который в присутствии нитрата растет как анаэроб.

Одноклеточные бесцветные серобактерии представлены родами *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiospira* и др. Эти организмы имеют сферическую, овальную, палочковидную или извитую форму, подвижные и неподвижные, грамотрицательные. К **многоклеточным бесцветным (нитчатым) серобактериям** относятся микроорганизмы родов *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix* и др. Эти организмы окисляют сероводород до элементарной серы, которая временно откладывается внутри клеток. Установлена способность бактерий указанных родов окислять серу и использовать органические вещества. Способность автотрофного усвоения CO_2 в снабжении клеток углеродом пока не доказана. Окисление сульфида и серы происходит по следующим уравнениям:



В последнее время обнаружены сероокисляющие бактерии, способные расти при pH 2—3 и температуре 70—75°C. Эти ацидотермофилы представляют собой хемолитоавтотрофы и отнесены к роду *Sulfolobus*. Распространены они в термальных кислых источниках, кислых почвах, имеющих высокую температуру, и др.

Окисляют соединения серы также **фотолитоавтотрофные пурпурные и зеленые серобактерии**. Они обычно обитают в среде, где имеется H_2S . Большой роли в почвах не играют.

Серу могут окислять многие **хемоорганогетеротрофные микроорганизмы**. Например, некоторые виды бактерий родов *Bacillus*,

Pseudomonas, актиномицетов и грибов окисляют порошковидную серу. Хемоорганогетеротрофные микробы окисляют серу в присутствии органических веществ. Окисление серы — экзотермический процесс, но хемоорганогетеротрофные микроорганизмы не используют эту энергию. Такое превращение является для них побочным процессом в главном метаболизме. Окисление серы хемоорганогетеротрофными микроорганизмами идет довольно медленно и слабо.

Бактерии, окисляющие неорганические соединения серы, применяются при разработке месторождений полезных ископаемых. Так, в Институте микробиологии АН СССР С. И. Кузнецовым проведены исследования, которые позволили начать применение окисляющих серу бактерий из рода *Thiobacillus* (*Th. ferrooxidans*) для выщелачивания бедных сульфидных руд. Наиболее разработаны методы микробиологического выщелачивания меди из минералов, в которых медь соединена с серой. Обработке подвергаются отвалы бедных руд на поверхности или руды под землей. Аналогичным образом бактерии из рода *Thiobacillus* можно использовать для получения различных металлов и редких элементов из минералов, содержащих серу.

Использование микробов в качестве «металлургов» экономически выгодно. Так, стоимость меди, полученной микробиологическим выщелачиванием, обходится в 2,5 раза дешевле, чем гидрометаллургическим способом. Сейчас микробиологический способ разработки полезных ископаемых применяется во многих странах мира.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ

В плохо аэрированных, затопляемых почвах, с дефицитом O_2 , а также в водах (лиманах, некоторых морях и других водоемах) в зоне анаэробнозиса происходит микробиологическое восстановление сульфатов. Иногда этот процесс называется десульфификацией.

Бактерии, вызывающие восстановление сульфатов, разделяют на два рода: неспорообразующие — *Desulfovibrio* и спорообразующие — *Desulfotomaculum*.

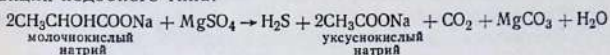
К роду *Desulfovibrio* относят неспороносные, грамтрицательные изогнутые палочки, иногда S-образные или спиральные, имеющие полярные жгутики и отличающиеся усиленной подвижностью. Это облигатные анаэробы, мезофилы (оптимальная температура для них $30^\circ C$). Обнаружены в морской воде и иле, пресной воде и почве. Типичный вид *Desulfovibrio desulfuricans*.

Бактерии рода *Desulfotomaculum* представлены грамтрицательными, прямыми или изогнутыми палочками. Образуют споры, подвижны, с перитрихальным расположением жгутиков. Облигатные анаэробы восстанавливают сульфаты до сульфидов. Обнаружены в пресных водах, почвах, геотермальных областях, некоторых испорченных продуктах, кишечнике насекомых и в рубце животных. Один из видов этого рода — *Desulfotomaculum nigrificans* мо-

жет превращать сульфаты в сульфиды при высоких температурах (оптимум развития 55°C).

Сульфатвосстанавливающие бактерии — весьма специализированная группа микроорганизмов, которая использует сульфат в качестве акцептора электронов (водорода) в анаэробных условиях для окисления органических соединений или водорода. Вопреки ранее распространенным представлениям сульфатвосстанавливающие бактерии не способны к автотрофному связыванию CO₂ и для своего роста нуждаются в готовых органических веществах, то есть они относятся к хемоорганогетеротрофам. Донором электронов (водорода) служат углеводы, органические кислоты, спирты, а также молекулярный водород. Водород окисляемых органических субстратов переносится на окисленные соединения серы (сульфаты, сульфиты, тиосульфаты), которые восстанавливаются до H₂S.

Анаэробное окисление органических веществ сульфатвосстанавливающими бактериями является неполным и ведет к аккумуляции уксусной кислоты в качестве конечного продукта. Приведем пример реакции подобного типа:



Сульфатвосстанавливающие бактерии могут наносить ущерб, разрушая материалы, неустойчивые к сероводороду. Так, установлено разрушение этими организмами нефтяных продуктов, загрязнение сероводородом промышленного газа и т. д. Деятельность сульфатвосстанавливающих бактерий — одна из причин коррозии металлического оборудования в анаэробной зоне. Считают, что ущерб от коррозии трубопроводов под землей наполовину вызван этими микроорганизмами.

Сероводород имеет токсические свойства. В случае накопления его в почве растительность быстро погибает. Если сероводород образуется в водоеме, то растения и животные в нем также гибнут. В некоторых озерах, лиманах и даже в открытом море на определенной глубине (в Черном море на глубине 200 м) сероводород накапливается в таком количестве, что развитие живых существ там подавляется.

В то же время бактерии, восстанавливающие сульфаты, играют большую роль в геологических процессах. Они образуют H₂S, участвующий в образовании серных руд. При окислении H₂S серобактериями появляются залежи серы промышленного значения. Сульфатвосстанавливающие бактерии участвуют не только в возникновении месторождений серы, но и в образовании сульфидных руд.

ПРЕВРАЩЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА

По значению в питании растений фосфор занимает второе место после азота. Он находится в почве, растениях и микроорганизмах, в органических и неорганических соединениях.

В почве фосфор может быть в различных формах:

1) он входит в структуру первичных минералов и встречается в форме фосфатов кальция (апатиты, оксиапатиты, фторапатиты, фосфориты), фосфатов или оксифосфатов железа (вивианит);

2) от 25 до 85% общего фосфора в разных почвах находится в органической форме. Органический фосфор составляет от 0,5 до 2% количества органического вещества почвы. Фосфор входит в состав фитина и других инозитфосфатов, нуклеиновых кислот и нуклеотидов, лецитина и гумусовых соединений.

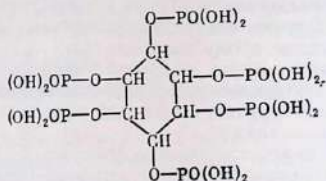
В почву соединения фосфора поступают с растительными и животными остатками, а также с минеральными удобрениями.

Сельскохозяйственные растения содержат в своих тканях от 0,05 до 0,5% фосфора. У растений (как и у животных) этот элемент находится в форме органических соединений (фитин, фосфолипиды, нуклеиновые кислоты и т. д.). Фосфор (неорганический ортофосфат) может также присутствовать в клеточных вакуолях в качестве внутреннего буфера.

В противоположность азоту и сере, которые в тканях находятся в восстановленной форме ($-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$), фосфор входит в органические соединения в окисленной форме в виде фосфата.

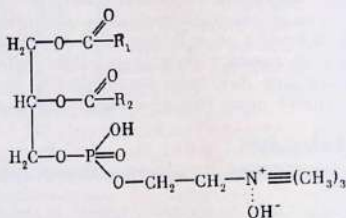
Кратко рассмотрим некоторые фосфорорганические соединения.

Фитин — кальцимагниева соль инозитфосфорной кислоты:



инозитфосфорная кислота

Фосфатиды (фосфолипиды, или сложные жиры) представляют собой эфиры глицерина и высокомолекулярных жирных кислот. Один из спиртовых гидроксильных глицерина образует эфир с фосфорной кислотой, которая, в свою очередь, связана с каким-либо другим соединением. Этим соединением может быть холин, тогда фосфолипид носит название лецитина, а если коламин — кефалина.



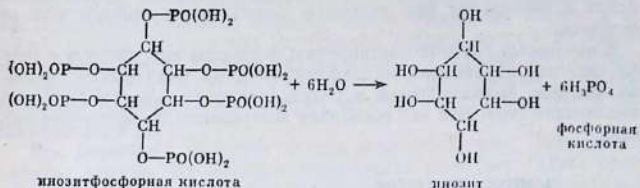
лецитиноподобное соединение
(R_1, R_2 -жирные кислоты)

Нуклеопротенды состоят из белков и нуклеиновых кислот. В молекулу последних входит ряд пуриновых и пиримидиновых оснований, пентоза (сахар) и фосфат.

Большой резерв органического фосфора в почве не может быть использован растениями без превращения его микроорганизмами в доступную неорганическую форму.

Органические источники фосфора разлагаются микроорганизмами с различной скоростью. Легче всего дефосфорилируются нуклеиновые кислоты, фитин разлагается медленно. Лецитин по скорости разложения занимает среднее положение.

В качестве примера показано разложение фитина микроорганизмами. Под влиянием фермента фитазы фосфат отщепляется от инозитфосфорной кислоты или ее кальциймагниевого соли — фитина с образованием инозита и фосфорной кислоты:



Органические соединения фосфора разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*), грибами из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, *Alternaria*, некоторыми актиномицетами и другими микроорганизмами. Разложение указанных соединений также осуществляют дрожжи (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* и др.).

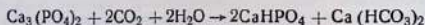
При разложении органических веществ микроорганизмами последние фиксируют в своих клетках определенные количества фосфора, содержащегося в этих веществах. Поэтому внесение в почву органических соединений, слишком бедных фосфором, например соломы, может вызвать биологическое закрепление фосфатов и связанное с ним фосфорное голодание растений.

ПРЕВРАЩЕНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ФОСФАТОВ

Ряд неорганических форм фосфора в почве представлен нерастворимыми фосфатами кальция (например, апатитами, оксиапатитами, фосфоритами), которые содержатся в основном в нейтральных и щелочных почвах (в кислых почвах преобладают соли железа и алюминия). Эти соединения фосфора, входящие в состав минералов, недоступны или слабо доступны растениям. Однако многие микроорганизмы могут переводить нерастворимые соединения фосфорной кислоты в растворимое состояние. К ним относятся представители бактерий, актиномицетов, грибов и других групп микроорганизмов (роды *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacte-*

gium, Penicillium, Aspergillus и т. д.). Растворение фосфатов в почве происходит в результате образования углекислого газа или различных кислот.

Появляющийся в процессах дыхания и разрушения органического вещества углекислый газ CO_2 в присутствии воды переходит в углекислоту, которая более или менее быстро растворяет нерастворимый фосфат:



Мобилизация нерастворимых соединений фосфора происходит также благодаря образованию микроорганизмами органических кислот и кетокислот при неполном окислении углеводов или их брожении.

В некоторых случаях растворению фосфатов способствуют азотная кислота, образуемая нитрифицирующими бактериями, и серная кислота, появляющаяся в результате деятельности бактерий, окисляющих серу. Все это повышает доступность фосфора для растений.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ЖЕЛЕЗО

Железо в небольших количествах необходимо для всех существ. В почве оно содержится в виде органических и неорганических соединений. Растительные организмы усваивают неорганические соединения железа, находящиеся в почве в растворимом виде. Существенную, если не основную, роль в трансформации железа в природе, в частности в переводе нерастворимых соединений в растворимые и обратно, играют микроорганизмы. Биологический цикл железа показан на рисунке 44.

Органические вещества, содержащие железо (ферменты каталаза, пероксидаза, цитохромы, железопорфириновые соединения и др.), разлагаются микроорганизмами.

Минерализацию органических соединений, в состав которых входит железо, могут осуществлять многие хемоорганогетеротрофные организмы (бактерии, актиномицеты и грибы). Органическую часть молекулы, содержащей железо, использует тот или иной микроорганизм, а железо освобождается и в аэробных условиях, как правило, осаждается в виде гидрата его окиси. Таким образом, осаждение этого элемента часто происходит в результате непосредственного воздействия микроорганизмов на органическую часть соединения, а не на железо.



Рис. 44. Биологический цикл железа.

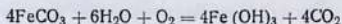
ОКИСЛЕНИЕ ВОССТАНОВЛЕННЫХ (ЗАКИСНЫХ) И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ОКИСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА

Многие микроорганизмы прямо или косвенно участвуют в окислении железа. Среди них имеются хемоорганогетеротрофы. Эти организмы окисляют комплексные органические соединения железа. Образующийся гидрат окиси железа откладывается на поверхности клеток микроорганизмов. Такие микроорганизмы обитают в водоемах (бактерии рода *Blastocaulis* и др.) и в почвах (бактерии родов *Huphomicrobium*, *Seliberia* и др.).

Выявлены также разнообразные по морфологии микроорганизмы, способные окислять неорганические соединения железа в болотах, ручьях, железистых источниках, озерах, дренажных трубах и других водоемах с образованием охристых осадков. Эти организмы называют железобактериями. К ним относятся нитчатые бактерии (*Leptothrix*, *Crenothrix*), бактерии родов *Gallionella*, *Metallogenium* и др.

Род *Leptothrix* включает в себя железобактерии, образующие цепочки клеток. Их боковая поверхность выделяет гидрат окиси железа, который образует цилиндрический чехол, покрывающий всю цепочку. По мере утолщения чехла ограничивается доступ к клеткам закисного железа, кислорода и CO_2 . Вследствие этого бактериальные клетки покидают старые чехлы, медленно выходя наружу, и затем одеваются новыми чехлами. Пустые чехлы, скапливаясь, образуют охристые осадки в водоемах.

Leptothrix окисляют двухвалентное железо (FeCO_3) до трехвалентного $\text{Fe}_2(\text{CO}_3)_3$ с последующим гидролизом до $\text{Fe}(\text{OH})_3$:



Нитчатые бактерии живут в воде. Их можно культивировать на средах с органическим веществом, по-видимому, они хемоорганогетеротрофы. Некоторые из этих бактерий (*Leptothrix ochraceae*) свободно плавают в воде, не прикрепляясь к субстрату; другие прикрепляются к какому-либо твердому предмету в воде.

Размножаются нитчатые бактерии поперечным делением клеток, образуя тельца, аналогичные конидиям, а также зооспорами и гонидиями (подвижными клетками).

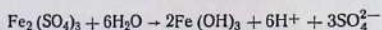
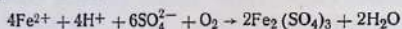
Род *Gallionella*. Типичный представитель этого рода *Gallionella ferruginea* имеет вибриоидные клетки со жгутиками. Клетки расположены на длинном плоском, спирально-перекрученном стебельке. Одна сторона клетки вогнутая, другая — выпуклая. Последняя выделяет наружу отложение коллоидного гидрата окиси железа, из которого постепенно образуется стебелек.

При делении клетки стебелек расходится, образуя дихотомическое ветвление. Электронно-микроскопическое изучение стебельков показало, что они способны к самостоятельному росту и на них возникают клеточные образования. В стебельках обнаружен белок.

По-видимому, стебельки — живые образования, а не мертвые части железобактерий.

Известны и настоящие хемолитоавтотрофные бактерии, обладающие способностью получать энергию в результате окисления закисного железа и использовать углерод из углекислоты. К этим бактериям относится уже описанный выше сероокисляющий организм — *Thiobacillus ferrooxidans*.

Реакции окисления железа этой бактерией можно записать следующими уравнениями:



Окисление закисного железа дает малый выход энергии, и для поддержания роста бактерии расходуют большое количество железа. Так, для образования 1 г сырой биомассы клеток бактерии должны окислить около 500 г сернокислого железа.

Углеродное питание *Thiobacillus ferrooxidans* обеспечивается углекислотой. Этот организм — строгий хемолитоавтотроф.

Выявлены термофильные бактерии, подобные тиобациллам, которые наряду с соединениями серы могут окислять двухвалентное железо.

В последнее время установлена способность к накоплению окислов железа некоторыми фототрофами, в частности цианобактериями. Подобную способность проявляют нитчатые зеленые бактерии и отдельные водоросли.

Считают, что хемолитотрофные и ряд хемоорганогетеротрофных микроорганизмов, под влиянием которых происходит трансформация железа в природе, принимают участие в образовании железистых отложений. Последние обуславливают формирование осадочных железистых руд в болотах, озерах и других водоемах.

Следует упомянуть также бактерии, окисляющие марганец. Б. В. Перфильевым был выделен микроорганизм *Metallogenium symbioticum*, осуществляющий окисление марганца в строго аэробных условиях. В присутствии марганца этот организм имеет вид «пучка» с нитями, покрытыми окислами марганца и расходящимися из одного центра.

Полагают, что *Metallogenium* — микоплазмоподобный организм, который может развиваться, только паразитируя на других микроорганизмах. Следовательно, эти бактерии нельзя считать автотрофами. Окисление марганца хотя и является для *Metallogenium* специфической функцией, но, как показано Г. А. Завариным, она не энергетическая. Некоторые исследователи считают, что не только *Metallogenium*, но и железобактерии *Gallionella* и *Siderocapsa* представляют собой сапрофитные микоплазмы.

В хорошо дренированных почвах и водах большая часть железа и марганца встречается в окисленном состоянии. При анаэробнозе происходят восстановительные процессы, в основном это — результат активности микроорганизмов. Окисные соединения железа и марганца восстанавливаются многими гетеротрофными аэробными организмами, резко смещающими окислительно-восстановительный потенциал среды, в которой они развиваются.

СПЕЦИАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Глава 13

ПОЧВООБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ПРОЦЕСС И ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ЦЕНОЗОВ ПОЧВЫ

РАЗВИТИЕ ВЗГЛЯДОВ НА РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОБРАЗОВАНИИ ПОЧВЫ

С давних времен происхождение почвы связывали с обогащением поверхностного слоя Земли растительными остатками. Подобный взгляд, например, развивал Б. Палисси (1499—1589).

Наиболее глубокие положения о почвообразовательном процессе были сформулированы великим русским ученым М. В. Ломоносовым. Академик И. В. Вернадский считал Ломоносова не только первым русским почвоведом, но и первым почвоведом вообще. Интересуясь развитием сельского хозяйства в России, Ломоносов перевел книгу С. Губертуса, сыгравшую в XVIII в. существенную роль в ознакомлении русского общества с правилами ведения сельского хозяйства. В сочинении «О слоях земных» (1763) Ломоносов писал, что сущность почвообразовательного процесса, осуществляемого во времени и сопровождающегося накоплением плодородия, это результат взаимодействия растительности с горными породами. Он рассматривал почву не как всю кору выветривания, а как только верхний слой ее, имеющий огром-

ное значение в жизни растений. Представления Ломоносова на многие десятилетия опередили зарубежную науку о почве.

Основоположником современного научного почвоведения является В. В. Докучаев (1846—1903). По его представлению, почва — особое самобытное тело природы. В различных условиях образуются разные почвы, и они изменяются во времени. Докучаевым был сформулирован закон зональности, который может быть отнесен не только к почвам, но и ко всему живому миру Земли.

По определению Докучаева, почвой следует называть «дневные», или поверхностные, горизонты горных пород (все равно каких), естественно измененные влиянием ряда факторов. Тип почвы складывается в зависимости от: а) материнской породы, б) климата, в) растительности, г) рельефа страны, д) возраста почвообразовательного процесса.

Большое внимание Докучаев уделял условиям, определяющим плодородие почвы. Он утверждал, что человек может управлять плодородием почвы и непрерывно повышать его. Для каждой зоны страны Докучаев наметил важнейшие мероприятия по подъему сельского хозяйства, основанные на принципе одновременного воздействия на весь комплекс условий, от которых зависит плодородие почвы.

Разрабатывая научные основы почвоведения, Докучаев отмечал огромную роль живых организмов, и в частности микроорганизмов, в формировании почвы.

Период творчества Докучаева совпал со временем великих открытий Л. Пастера, показавших значение микроорганизмов в превращении разнообразных веществ. В конце прошлого и в начале текущего века был сделан ряд важных открытий в области микробиологии, имевших принципиальное значение для почвоведения и земледелия. Установлено, в частности, что в почве содержится огромное количество разных микроорганизмов. Это давало повод думать о существенной роли микробиологического фактора в формировании и жизни почвы.

Вполне естественно, что Докучаев, разрабатывая основы почвоведения, стремился изучить мир микроскопических обитателей почвы и даже старался организовать в университетах чтение курса микробиологии. Нельзя не отметить высокого мнения Д. И. Менделеева о работах Докучаева. В одном из писем к Докучаеву Менделеев писал, что он с огромным интересом прочитал ряд его статей о почвоведении и микробиологии. За эту работу скажут спасибо в настоящее время и в будущем. Гениальный химик отметил, что если земля — труп в сказаниях, то у нас она кормилица живая.

Современником Докучаева был выдающийся ученый-почвовед П. А. Костычев. В монографии «Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства» (1886) он писал, что геология имеет второстепенное значение в вопросе о черноземе, потому что накопление органического вещества происходит в

верхних слоях земли, геологически разнообразных, и чернозем является вопросом географии высших растений и вопросом физиологии низших растений, разлагающих органическое вещество. Костычев провел ряд опытов по выяснению роли отдельных групп микроорганизмов в создании перегной почвы.

Большой вклад в представления о роли биологического фактора в преобразовании Земли и в процессе почвообразования внес ученик Докучаева академик В. И. Вернадский. Он считал, что главным фактором в миграции химических элементов в верхней части земной коры являются организмы. Их деятельность затрагивает не только органические, но и минеральные вещества почвенного и подпочвенного слоев. Соединения макро- и микроэлементов, трансформированные почвенными процессами, поступая в растения, определяют их обмен веществ.

Позднее академик А. П. Виноградов развил учение о биогеохимических провинциях, устанавливающее закономерности распределения микроэлементов на поверхности Земли. Это учение позволяет понять ряд особенностей в процессах, протекающих в почвах отдельных зон нашей страны.

Большое внимание биологическим процессам в почвообразовании уделял академик Б. Б. Полынов, который, в частности, считал, что глинистые минералы в почвах имеют биологическое происхождение.

Многие моменты, связанные с почвообразующей деятельностью животных, нашли отражение в трудах Н. А. Димо.

Биологический аспект почвообразовательного процесса был разработан академиком В. Р. Вильямсом. Он считал, что отдельным почвенным типам свойственны специфические группировки микроорганизмов. Образование перегной почвы, являющегося основой ее плодородия, он тесно связывал с деятельностью микроскопических существ.

Интерес к микроорганизмам как факторам почвообразования и плодородия к концу прошлого века так возрос, что на VIII съезде естествоиспытателей и врачей в С.-Петербурге, состоявшемся в 1890 г., были заслушаны доклады, имевшие микробиологический аспект. И. В. Ковалевский в сообщении «Запросы современного сельского хозяйства к естествознанию» основное внимание уделил значению микроорганизмов в создании плодородия почвы. Профессор Петровской сельскохозяйственной академии Г. Г. Густавсон в докладе «О микробиологических основах агрономии» убедительно показал, что почва представляет собой живую систему, огромную роль в которой играют низшие существа.

Через год после этого съезда русский ученый Д. И. Ивановский опубликовал работу «Из деятельности микроорганизмов почвы».

В 1894 г. состоялся IX съезд русских естествоиспытателей и врачей. На нем присутствовал Л. Н. Толстой и выступал К. А. Тимирязев. Известный микробиолог С. Н. Виноградский сделал

доклад «О круговороте азота в природе», в котором осветил роль микроорганизмов в цикле процессов, имеющих огромное значение для формирования почвенного плодородия.

К концу XIX в. сложилось мнение о возможности широкого использования в сельском хозяйстве «биологического» азота. Об этом, в частности, свидетельствует выступление Б. Л. Исаченко в 1889 г. на собрании сельских хозяев в С.-Петербурге, где он прочитал лекцию на тему «О бактериальном способе удобрения растений азотом».

Отмечая наиболее значимые успехи наших ученых в области общей и сельскохозяйственной микробиологии, целесообразно остановиться на работах основоположников этих наук С. Н. Виноградского (1856—1953) и В. Л. Омелянского (1867—1928).

Изучая железо- и серобактерий, С. Н. Виноградский обнаружил существование особой группы бактерий, у которой обычный дыхательный акт заменен окислением минеральных соединений (хемоавтотрофы). Ученый установил также, что подобные организмы вызывают процесс нитрификации. Виноградским впервые был обнаружен анаэробный микроб, фиксирующий атмосферный азот, — *Clostridium pasteurianum*.

В 1894 г. Виноградский был избран членом-корреспондентом Российской академии наук, а в 1924 г. — членом Французской академии наук.

Длительное время с С. Н. Виноградским работал его ученик В. Л. Омелянский. Он провел обширное исследование по методике изолирования чистых культур нитрифицирующих бактерий и установил их физиологические свойства. Им были изучены анаэробные целлюлозные бактерии, вызывающие метановое и водородное брожение. Последние работы были связаны с улучшением технологии мочки льна.

Большое внимание Омелянский уделил микроорганизмам, связывающим молекулярный азот. Этому вопросу посвящена его монография «Связывание молекулярного азота почвенными микроорганизмами» (1923). Ученый интересовался геологической деятельностью микроорганизмов и другими процессами, ими вызываемыми.

В 1916 г. В. Л. Омелянский был избран членом-корреспондентом Академии наук, а в 1923 г. — действительным членом.

Ученые следующего поколения внесли большой вклад в разработку методических приемов, позволяющих расширить представление о составе почвенных микроорганизмов, их физиологических функциях, экологии и т. д. Из них нельзя не упомянуть Н. Г. Холодного, Б. В. Перфильева, В. Н. Шапошникова, Н. А. Красильникова, Н. Н. Худякова, М. В. Федорова.

Широкие исследования по изучению биодинамики почв в географическом аспекте были начаты в 20-х годах текущего столетия академиком С. П. Костычевым в созданном им Институте микробиологии ВАСХНИЛ. Это направление было развито во многих научных учреждениях нашей страны.

Работа в области почвенной микробиологии интенсивно велась и за рубежом. Соответствующие сведения будут даны в главах, посвященных специальным вопросам.

Совокупность полученных научных данных дает основание заключить, что почва представляет собой живую систему. В совершающихся в ней процессах микроорганизмы играют важную роль, без учета которой невозможно решение ряда хозяйственно важных вопросов.

ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ ПОЧВЫ И ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Все почвы на Земле образовались из выходящих на дневную поверхность весьма разнообразных горных пород, которые обычно называют материнскими. В качестве почвообразующих выступают главным образом рыхлые осадочные породы, так как изверженные и метаморфические породы выходят на дневную поверхность сравнительно редко.

Уже с начальных этапов превращения горных пород в почву роль микроорганизмов в процессах выветривания минералов вырисовывается весьма наглядно. Выдающиеся ученые В. И. Вернадский и Б. Б. Полюнов рассматривали выветривание горных пород как результат деятельности растительных, преимущественно низших организмов. К настоящему времени эта точка зрения подтверждена большим экспериментальным материалом.

Разрушение минералов микроорганизмами связано с рядом причин. Минералы, содержащие элементы с переменной валентностью (Fe, S, Mn), под действием микробных ферментов способны окисляться и восстанавливаться в зависимости от условий среды. Так, исследованиями Н. Н. Ляликовой, Г. И. Каравайко и других ученых показано, что бактерии рода *Thiobacillus* вызывают окислительную деструкцию пирита, халькопирита и других сульфидных минералов. Многие гетеротрофы при анаэробии в процессе энергетического обмена восстанавливают окисное железо. По данным Т. В. Аристовской, Г. А. Заварзина и других исследователей, это имеет место, например, в железомарганцевых соединениях.

Некоторые микроорганизмы продуцируют сильные минеральные кислоты (нитрификаторы, бактерии, окисляющие серу), разрушающие минералы. Многие бактерии, а также плесневые грибы выделяют органические кислоты, разлагающие минералы или дающие с их компонентами хелатные соединения. Слово «хелаты» произошло от греческого «хела», что означает «клешня», поскольку парные комбинированные связи, захватывающие у отмеченных соединений металл, можно образно сравнить по форме и функциям с клешней рака.

Среди активных хелатообразующих соединений можно отметить амины, аминок-, кетокислоты (в частности, α -кетоглутаровую кислоту), фенольные соединения, перегнойные вещества и т. д.

Не исключена роль биогенных щелочей в разрушении минералов. Отмеченные соединения, как показано Т. В. Аристовской и Р. С. Кутузовой, представляют собой соли слабых кислот и сильных оснований, образуемых некоторыми микроорганизмами.

Многие бактерии выделяют слизи, облегчающие контакт микроорганизмов с горной породой. Разрушение последней происходит как под влиянием продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, так и в результате образования комплексных соединений между веществами слизей и химическими элементами, входящими в состав кристаллических решеток минералов.

Рассмотрим примеры, иллюстрирующие деструктивную деятельность микроорганизмов.

До 60% земных минералов составляют алюмосиликаты. Их общая формула $R_2Al_2Si_2O_6$. Еще в начале текущего века немецким ученым Г. Кюнцем, а также польским исследователем К. Бассаликом была показана способность микроорганизмов разрушать алюмосиликаты в средах, содержащих органические вещества и минеральные соединения азота. Позднее эту способность обнаружили у фотосинтезирующих диатомовых водорослей академик А. П. Виноградов и Е. А. Бойченко (1942).

М. Гендерсон и Г. Дафф (1963) установили, что практически все исследованные ими минералы (волластонит, натролит, серпантинит и др.) постепенно разрушаются микроорганизмами. При этом в среде накапливаются SiO_2 и соединения металлов (Ca, Al, Mg и др.). Данные процессы идут очень медленно.

Освобождение SiO_2 из алюмосиликатов энергичнее происходит в культурах микробов-кислотообразователей, а растворение кварцита и растительного кремнезема вызывают микробы-щелочеобразователи.

Пионерами, поселяющимися на материнских породах, являются микроскопические водоросли, в частности диатомовые. Водоросли играют существенную роль как автотрофные накопители органических веществ, без которых не может протекать энергичная деятельность сапрофитных микроорганизмов. Последние продуцируют разные соединения, вызывающие выветривание минералов. Развивающиеся в этом ценозе цианобактерии (сине-зеленые водоросли) фиксируют азот и обогащают разрушаемую горную породу соединениями этого элемента.

В слое горной породы, обогащаемом в результате деятельности отмеченных микроорганизмов органическими веществами, начинает развиваться богатая бактериальная флора (в основном неспорообразующие бактерии).

Существенна роль лишайников, которые аккумулируют ряд элементов. Поэтому в мелкоземе, как установил Н. А. Красильников и другие ученые, под литофильной растительностью резко увеличивается количество не только органического вещества, но и фосфора, окиси железа, кальция и магния.

Заселение минералов микроорганизмами происходит избирательно. Состав микрофлоры, размножающейся на поверхности различных пород и минералов, неодинаков.

Выветривание горных пород в природе должно рассматриваться как единство двух противоположных процессов — распада первичных минералов и возникновения вторичных минералов. Новые минералы могут возникать при взаимодействии микробных мета-

болитов друг с другом. Так, имеются все основания предполагать, что образование минералов гетита и лимонита в коре выветривания происходит в результате жизнедеятельности микроорганизмов, интенсивно аккумулирующих железо.

На способности микроорганизмов переводить химические элементы в растворимые соединения в настоящее время основано промышленное получение ряда ценных элементов (меди, свинца, кобальта, никеля и т. д.).

Наряду с трансформацией горной породы в формирующейся почве накапливается гумус (перегной) — специфическое вещество почвы, определяющее весьма важные ее свойства, в том числе плодородие и водоудерживающую способность.

В образовании гумуса микроорганизмы принимают самое активное участие. Гумус начинает накапливаться в почвенном слое с первых этапов развития почвообразовательного процесса. Под термином «гумус» объединяется целая группа родственных высокомолекулярных соединений, химическая природа которых до сих пор точно не установлена. Гумус составляет 85—90% всего органического вещества почвы. В нем аккумулировано значительное количество азота, фосфора и других элементов. Гумус образуется из растительного опада, имеющегося на поверхности почвы, и отмершей корневой системы растений.

Растительные остатки различного происхождения имеют неодинаковый состав, что определяет быстроту их деструкции и состав образующегося гумуса. Огромное влияние имеет богатство растительных остатков азотом. Интенсивный их распад идет при условии, если азота содержится не менее 1,5%, при соотношении С к N, составляющем 20:1. Распад усиливается в субстратах с большим содержанием азота. Особенно медленно разлагается древесина и кора деревьев.

На быстроту распада растительных остатков в значительной степени влияет и химический состав компонентов растений. Белки и родственные им соединения (содержание их в растительном опаде 0,5—2%, гемицеллюлозы и пектиновые вещества (их содержится 15—35%), а также целлюлоза (до 15—50%) разлагаются микробами быстро. Весьма устойчив к воздействию микроорганизмов лигнин, который составляет 15—30% массы растительных тканей. Он представляет собой конденсированное соединение мономерных блоков — фенилпропановых спиртов. Состав лигнина разных растений неодинаков. Для лигнина хвойных пород характерная составная часть — кониферилловый спирт, лиственных — кониферилловый и синаповый спирты, для лигнина травянистых растений — кониферилловый и паракумаровый спирты.

Разрушать лигнин способны многие микроорганизмы — базидиальные грибы, аскомицеты и несовершенные грибы, актиномицеты и некоторые бактерии. Процесс деструкции лигнина идет медленно, через ряд последовательных реакций. По данным Л. А. Головлевой, происходит образование мономеров, их гидроксिलирование, а затем разрушение ароматического кольца.

В состав гумуса входит большая группа соединений, представляющих собой сложные гетероциклические вещества. Обычно в гумус превращается 10—20% растительных остатков. В нем содержится около 4—4,5% азота. Значительная часть азота входит в белковую фракцию, связанную с высокомолекулярным комплексом небелковой природы. Остальной азот включается в гетероциклическое ядро гумусовых веществ.

В составе гумуса имеется небольшое количество нуклеиновых кислот, в которых заключено до 3—5% азота. Содержание углерода колеблется в пределах 45—60%, а фосфора — от 0,27 до 1,45%.

По химической природе гумусовые соединения почвы не однотипны. По мнению М. М. Кононовой, их можно разделить на следующие группы: 1) гуминовые кислоты, 2) гумины, 3) гиматомелановые кислоты, 4) фульвокислоты. Имеются и иные предположения по классификации этих соединений. Химический состав и свойства указанных групп несколько различаются.

Гумусовые вещества — это генетически родственные соединения, отличающиеся степенью полимеризации молекул, дисперсностью, растворимостью в разных жидкостях и т. д. Так, гумины нерастворимы ни в воде, ни в щелочах. Гуминовые и гиматомелановые кислоты растворяются в щелочах, но первые растворимы еще и в спирте. Фульвокислоты растворяются в воде и щелочах. Легкая растворимость фульвокислот объясняет их большую миграцию в глубину почвы.

Соединения каждой из отмеченных групп близки, но нетождественны по своим свойствам. Так, гуминовые кислоты разных почв несколько отличаются друг от друга. Соотношение C:N в гумусовых соединениях сужается по мере движения от более северных почв к южным. При использовании хроматографического метода удается получить, например, ряд индивидуальных фульвокислот и т. д.

Процесс формирования гумуса в деталях еще не раскрыт, но многие моменты, касающиеся его синтеза, выяснены. Несомненно, что гумус представляет собой группу весьма сложных соединений, которые образуются в процессе синтетических реакций в почве.

Еще в 1914 г. А. Г. Трусов, основываясь на том, что в составе перегноя имеются ароматические соединения, высказал предположение, что окисление лигнина, ароматических и дубильных веществ с образованием хинонов играет существенную роль в синтезе перегнойных кислот.

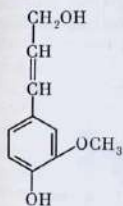
Позднее американский ученый С. Ваксман, исходя из представлений А. Г. Трусова, сформулировал теорию о лигнопротеиновом комплексе как ядре гумуса. По этой теории гумус формируется из лигнина растительных остатков и белка микробных клеток. Лигнин медленно разлагается микроорганизмами, и продукты его распада соединяются с белком отмерших микробов. Таким образом происходит формирование сложного комплекса гумусовых соединений.

Теорию С. Ваксмана многие исследователи подвергли критике. В настоящее время накоплены данные, показывающие, что в процессе гумусообразования лигнин претерпевает существенные изменения. Его участие в образовании гумусовых соединений идет через разложение и высвобождение структурных единиц, которые и служат материалом для формирования гумуса. Помимо лигнина, растительные ткани содержат еще и ароматические соединения типа полифенолов различного происхождения, значение которых в образовании гуминовых кислот нельзя отрицать. Не исключается участие в гумусообразовании дубильных веществ и ряда других соединений. Весьма существенно также то, что лигно-протеннаты и природные гумусовые вещества различаются между собой.

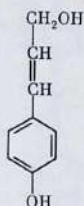
Следует отметить, что в продуктах микробного синтеза возможно образование ароматических соединений. В частности, многие микроорганизмы имеют темную пигментацию, и химическая природа их пигментов близка к гумусовым соединениям. Допустимо также образование соединений ароматического ряда из алифатических веществ биохимическим путем.

Таким образом, лигнин растительных остатков не может рассматриваться как единственный источник ароматических соединений, входящих в состав гумуса, но, несомненно, это — один из основных источников его образования.

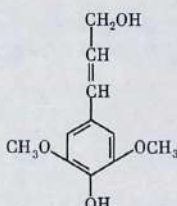
При разрушении лигнина микроорганизмами обнаруживается целый ряд соединений ароматической природы. Ниже приведены некоторые из продуктов распада лигнина:



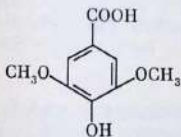
кониферильный спирт



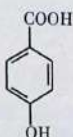
кумаровый спирт



синаповый спирт



сиреневая кислота

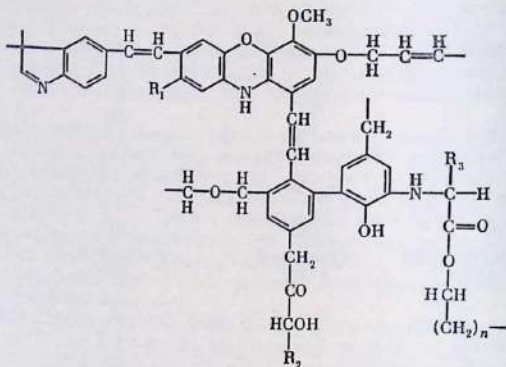


p-гидроксibenзойная кислота

Многие образовавшиеся при распаде лигнина ароматические соединения могут конденсироваться и давать сложные комплексы. Большой способностью к конденсации обладают хиноны, появляющиеся при воздействии микроорганизмов на соединения ароматического ряда. Образование хинонов из полифенолов активируется фенолоксидазами бактериального происхождения.

Предполагают, что в формировании гумуса играют роль не только мономеры, но и более крупные блоки, образующиеся при распаде лигнина. Они конденсируются с аминокислотами и пептидами, давая начало гумусовым веществам. В образующие комплексы, по данным В. Флайга, могут включаться и другие соединения. Л. А. Александрова отмечает, что многие мономеры представляющие собой продукты распада растительных остатков обладают кислыми функциональными группами, облегчающими конденсацию. Конденсационный процесс проходит при обязательном участии бактериальных оксидаз. Б. Новак отмечает, что для образования гумусовых соединений необходим доступ воздуха, лучше всего микроаэрофильные условия.

В последнее время Д. С. Орлов и И. Н. Лозановская (1983), анализируя накопленный экспериментальный материал, пришли к выводу, что следует отказаться от представления о гумусовых веществах как о сравнительно простых линейных цепях. Как гипотетическую, но наиболее вероятную схему структуры «ядерной» части гумусовых веществ, они принимают приведенную здесь формулу:



Сейчас выяснено, что до 17 аминокислот входят в периферическую гидролизуемую часть гумуса. Различные его фракции близки по составу аминокислот. Часть азота прочно закреплена в негидролизуемой фракции гумуса.

До 30—50% фосфора входит в состав гумуса в виде минеральных соединений. В черноземах, например, преобладает гидроксилapatит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Гумус содержит и органические соединения фосфора: инозитфосфаты, фосфолипиды, сахарофосфаты, нуклеиновые кислоты и т. д.

Часть гумусовых соединений почвы связана с металлами. Соединения с железом и алюминием наиболее трудны для разложения микроорганизмами. Относительно простые по структуре фульвокислоты минерализуются быстрее, чем имеющие более сложное строение гуминовые кислоты и гумины.

В природных условиях накопление гумуса в почве представляет собой результат двух диаметрально противоположных процессов — его синтеза и распада. Существенное значение при этом имеет поступление в почву растительных остатков. По данным Л. Е. Родина и Н. И. Базилевич, количество растительного опада в разных почвенно-климатических условиях колеблется в широких пределах (в т на 1 га в год):

тундры арктические	1,0	пустыни полукустарниковые . . .	1,2
дубравы	6,5	субтропические леса	21,0
степи умеренно засушливые . .	11,2	влажные тропические леса . . .	25,0

Однако не всегда поступление большого количества органического вещества определяет накопление в почве значительных запасов гумуса. На Севере, особенно крайнем, распад растительной массы протекает медленно из-за низкой температуры, кроме того, почвы здесь бедны растительными остатками. В черноземной зоне почва обогащается опадом и массой корневых остатков, но они в теплый период времени не столь быстро минерализуются из-за дефицита увлажнения. В тропических лесах основной опад находится на поверхности земли и при обилии влаги быстро разлагается микроорганизмами.

М. М. Кононова составила схему, показывающую взаимосвязь между содержанием гумуса в почвах и наличием в них сапрофитных бактерий (рис. 45). Как видно, сильное развитие микроорганизмов (в сероземах), равно как и слабое (в тундрово-глеевых почвах), не способствует накоплению гумуса.

Между накоплением гумуса и климатическими условиями должна быть закономерная связь. В. Р. Волобуев предложил формулу функциональной зависимости содержания гумуса в почве и гидрофактора (рис. 46), характеризующего изменение условий увлажнения при различных соотношениях количества осадков (P) и среднегодовой температуры (T). Значение гидрофактора вычисляют по формуле:

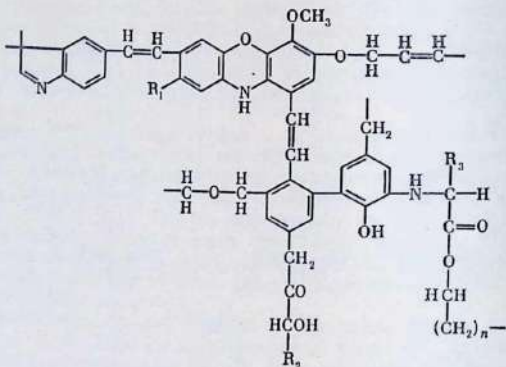
$$Hf = 43,2 \lg P - T.$$

Гумус существенно изменяет физические свойства почвы. Он способствует созданию структуры почвы, улучшает ее тепловые свойства, обладая большой влагоемкостью, обуславливает сохранение влаги в почве. Последнее свойство особенно важно для зон

Многие образовавшиеся при распаде лигнина ароматические соединения могут конденсироваться и давать сложные комплексы. Большой способностью к конденсации обладают хиноны, появляющиеся при воздействии микроорганизмов на соединения ароматического ряда. Образование хинонов из полифенолов активируется фенолоксидазами бактериального происхождения.

Предполагают, что в формировании гумуса играют роль не только мономеры, но и более крупные блоки, образующиеся при распаде лигнина. Они конденсируются с аминокислотами и пептидами, давая начало гумусовым веществам. В образующие комплексы, по данным В. Флайга, могут включаться и другие соединения. Л. А. Александрова отмечает, что многие мономеры, представляющие собой продукты распада растительных остатков, обладают кислыми функциональными группами, облегчающими конденсацию. Конденсационный процесс проходит при обязательном участии бактериальных оксидаз. Б. Новак отмечает, что для образования гумусовых соединений необходим доступ воздуха, лучше всего микроаэрофильные условия.

В последнее время Д. С. Орлов и И. Н. Лозановская (1983), анализируя накопленный экспериментальный материал, пришли к выводу, что следует отказаться от представления о гумусовых веществах как о сравнительно простых линейных цепях. Как гипотетическую, но наиболее вероятную схему структуры «ядерной» части гумусовых веществ, они принимают приведенную здесь формулу:



Сейчас выяснено, что до 17 аминокислот входят в периферическую гидролизуемую часть гумуса. Различные его фракции близки по составу аминокислот. Часть азота прочно закреплена в негидролизуемой фракции гумуса.

До 30—50% фосфора входит в состав гумуса в виде минеральных соединений. В черноземах, например, преобладает гидроксилapatит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Гумус содержит и органические соединения фосфора: инозитфосфаты, фосфолипиды, сахарофосфаты, нуклеиновые кислоты и т. д.

Часть гумусовых соединений почвы связана с металлами. Соединения с железом и алюминием наиболее трудны для разложения микроорганизмами. Относительно простые по структуре фульвокислоты минерализуются быстрее, чем имеющие более сложное строение гуминовые кислоты и гумины.

В природных условиях накопление гумуса в почве представляет собой результат двух диаметрально противоположных процессов — его синтеза и распада. Существенное значение при этом имеет поступление в почву растительных остатков. По данным Л. Е. Родина и Н. И. Базилевич, количество растительного опада в разных почвенно-климатических условиях колеблется в широких пределах (в т на 1 га в год):

тундры арктические	1,0	пустыни полукустарниковые	1,2
дубравы	6,5	субтропические леса	21,0
степи умеренно засушливые	11,2	влажные тропические леса	25,0

Однако не всегда поступление большого количества органического вещества определяет накопление в почве значительных запасов гумуса. На Севере, особенно крайнем, распад растительной массы протекает медленно из-за низкой температуры, кроме того, почвы здесь бедны растительными остатками. В черноземной зоне почва обогащается опадом и массой корневых остатков, но они в теплый период времени не столь быстро минерализуются из-за дефицита увлажнения. В тропических лесах основной опад находится на поверхности земли и при обилии влаги быстро разлагается микроорганизмами.

М. М. Кононова составила схему, показывающую взаимосвязь между содержанием гумуса в почвах и наличием в них сапрофитных бактерий (рис. 45). Как видно, сильное развитие микроорганизмов (в сероземах), равно как и слабое (в тундрово-глеевых почвах), не способствует накоплению гумуса.

Между накоплением гумуса и климатическими условиями должна быть закономерная связь. В. Р. Волобуев предложил формулу функциональной зависимости содержания гумуса в почве и гидрофактора (рис. 46), характеризующего изменение условий увлажнения при различных соотношениях количества осадков (P) и среднегодовой температуры (T). Значение гидрофактора вычисляют по формуле:

$$Hf = 43,2 \lg P - T.$$

Гумус существенно изменяет физические свойства почвы. Он способствует созданию структуры почвы, улучшает ее тепловые свойства, обладая большой влагоемкостью, обуславливает сохранение влаги в почве. Последнее свойство особенно важно для зон



Рис. 47. Соотношение между оптимальными температурами развития сапрофитных бактерий, выделенных из различных почв, и июльской температурой воздуха.

низмы, предъявляющие повышенные требования к теплу. Например, южные почвы значительно богаче теплолюбивыми грибами рода *Aspergillus*, в то время как в почвах Севера преобладает род *Penicillium*, представители которого развиваются при более низких температурах.

Теплолюбивые микроорганизмы при оптимальной для них температуре более активны, чем психрофильные их формы. Термофилы обладают исключительно высокой биохимической активностью. В связи с этим в южных почвах при благоприятных условиях микробиологические процессы протекают более энергично, чем в северных. Однако термофильных микроорганизмов даже в южных почвах очень мало, и существенной роли в почвенных процессах они не играют. Это объясняется тем, что при сильном нагревании почва быстро пересыхает и создается неблагоприятная обстановка для размножения термофилов. Термофильные микроорганизмы поступают в почву в основном с навозом, при созревании которого происходит их массовое размножение. Поэтому богатство почвы термофилами может служить косвенным признаком степени ее унавоженности.

Чтобы получить представление о различной напряженности микробиологической деятельности в почвах разных климатических зон в связи с различиями температурного фактора, можно сопоставить температуры почвы за теплый период с оптимальными температурами мезофильных бактерий (табл. 4).

4. Сопоставление температуры почвы с потребностью сапрофитных бактерий в тепле

Пункт	Средняя температура почвы за май и август (а)	Примерная оптимальная температура для сапрофитных бактерий (б)	Разница (б - а)
Архангельск	10,5	28,5	18,0
Москва	12,7	30,0	17,3
Курск	16,4	34,0	17,6
Северный Кавказ	22,4	35,5	13,1
Ташкент	30,0	38,0	8,0

Из данных таблицы видно, что оптимальные температуры развития бактерий во всех пунктах лежат значительно выше физической температуры почвы. Лишь в отдельные моменты, причем только на юге, эти точки могут совпадать. Однако в южной зоне дефицит тепла меньше, и потому при благоприятной влажности микробиологические процессы здесь могут протекать более интенсивно.

Возникает вопрос — как сказываются низкие температуры зимнего периода на почвенной микрофлоре. Казалось бы, что в это время происходит массовая гибель микроорганизмов, но исследования нередко указывают на увеличение количества бактерий. Предполагали, что в почве существует особая группировка холодоустойчивых микроорганизмов, но эта точка зрения не подтвердилась. Увеличение числа бактерий объясняется, видимо, десорбцией микроорганизмов из почвенных частиц, наступающей при коагуляции коллоидов под влиянием холода. Возможно, определенную роль играет и замедленное отмирание бактерий при низких температурах.

Температурный режим почвы до некоторой степени поддается управлению. Легче всего это достигается в теплицах, в результате чего получают значительный эффект. Так, в производственном опыте, проведенном Л. Н. Черемных и А. Н. Наумовой, было установлено, что при 30—35°C в парниковом грунте энергичнее, чем при более низких температурах, мобилизуется азот и существенно повышается урожайность томата (табл. 5).

В полевых условиях также можно улучшить температурные условия для микроорганизмов и растений. Это достигается соответствующей обработкой почвы, ее мульчированием, созданием экранов, путем нанесения на почву темноокрашенных веществ (торф, зола и т. д.).

Огромное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов оказывает влажность почвы. Вода, составляющая жидкую фазу почвы, содержит в себе то или иное количество растворенных веществ. В основном из почвенного раствора растения и микроорганизмы усваивают питательные вещества.

Корневая система растений или клетки микроорганизмов для ассимиляции водного раствора должны иметь более высокое осмотическое давление, чем раствор. По величине осмотического давления микроорганизмы почвы существенно различаются (см. главу

5. Влияние температурного режима на мобилизацию азота и урожайность томата

Температура грунта, °С	Количество N—NO ₂ , нако- пившееся за 2 месяца в почве, мг на 1 кг	Урожайность томата, кг на 1 м ²	Температура грунта, °С	Количество N—NO ₂ , нако- пившееся за 2 месяца в почве, мг на 1 кг	Урожайность томата, кг на 1 м ²
13—17	30	7,1	Около 30	96	13,0
Около 20	54	10,7	» 35	150	13,9

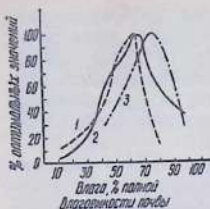


Рис. 48. Интенсивность биологических процессов при различной влажности почвы:

1 — нитрификация; 2 — аммонификация; 3 — азотфиксация (по Д. Гривсу и М. Картеру).

В солончаках, богатых растворимыми солями, осмотическое давление может достигать $1,6 \cdot 10^7$ Па.

Можно считать, что мобилизационные, агрономически желательные процессы лучше всего протекают при влажности почвы, приближающейся к 60% ее полной влагоемкости. При таком увлажнении в почве достаточно воды и воздуха, находящихся между почвенными агрегатами. При более сильном увлажнении воздух из почвы вытесняется, что подавляет аэробные микробиологические процессы. Подобная обстановка, например, создается на залитых водой рисовых полях, где относительно аэробные условия имеются лишь в самом поверхностном слое почвы.

Д. Гривс и М. Картер, изучая влияние влажности на разные процессы, нашли, что аммонификация и нитрификация лучше всего проходили при влажности почвы, равной 60% полной влагоемкости, а оптимум фиксации азота был несколько сдвинут в сторону более высокой влажности (рис. 48). Это, очевидно, объясняется тем, что связывать молекулярный азот могут многие бактерии, склонные к анаэробнозису.

В природной обстановке влажность почвы сильно колеблется, особенно резко в неорошаемых почвах южной зоны. Здесь в период дефицита влаги нередко подавляется деятельность бактерий, но активизируются актиномицеты и грибы. В периоды значительного иссушения почвы активная деятельность микроорганизмов в ней вообще прекращается. В сухих степях поэтому более энергичные микробиологические процессы в почве протекают обычно не летом, а весной и осенью — при более низкой температуре, но в достаточно влажной почве.

Таким образом, в почвенных процессах огромное значение имеет сочетание температурных условий и влажности. М. М. Кононова разработала схему интенсивности биологических процессов в почве на основе учета температурного фактора и влажности (табл. 6). Эта схема помогает создать примерное представление

5). Большинство из них способны развиваться в почве при наличии по крайней мере гигроскопической влаги. Южные культуры микробов адаптированы к более сухим условиям существования. Некоторые микроорганизмы, преимущественно актиномицеты и ряд грибов, могут развиваться при ничтожной влажности почвы.

Растения более требовательны к влаге. Как известно, завядание большинства их происходит уже при влажности почвы равной 1,5 максимальной гигроскопичности («мертвый» запас).

В обычных почвах со средней влажностью осмотическое давление раствора колеблется в пределах $0,5 \cdot 10^5$ — $5 \cdot 10^3$ Па.

6. Градации возможной интенсивности микробиологических процессов при различных условиях среды

Температура почвы, °С	Коэффициент увлажнения по Иванову *	Возможная интенсивность микробиологической деятельности
≥ 30	≥ 1,5	Слабая
30—20	1,49—1,0	Очень интенсивная
20—10	0,99—0,6	Довольно интенсивная
10—5	0,59—0,30	Слабая
5	0,29—0,13	Очень слабая

* Коэффициент увлажнения представляет собой отношение количества выпавших осадков к количеству испарившейся воды.

о напряженности микробиологических процессов в разных почвенно-климатических условиях: как высокая, так и низкая температура подавляет эти процессы в почве, а интенсивнее всего они идут при температуре 20—30°C.

Следует отметить, что при малой влажности, не обеспечивающей сколько-нибудь интенсивного развития микробиологических процессов в почве, достаточно деятельны разнообразные ферменты. Это показывает, что в период дефицита влаги почва не является инертным субстратом.

В полевых условиях благоприятный водный режим может быть создан обработкой почвы, ее поливом, мелиорацией и т. д. Температурно-водный режим оказывает большое влияние на формирование микробного ценоза почвы. Наблюдения свидетельствуют о закономерной смене микробных ассоциаций в ходе распада органического вещества. Так, в первые фазы разложения растительных остатков на них развиваются грибы и неспорообразующие бактерии. Позднее увеличивается число бацилл и актиномицетов. Происходит также смена систематических группировок микроорганизмов. Поскольку в разных климатических зонах разложение органического вещества идет с различной быстротой, то это существенно сказывается на составе создающихся в почве группировок микроорганизмов.

Температуры почвы и ее влажность в сочетании имеют также огромное значение для полевой всхожести семян сельскохозяйственных растений. При низких температурах снижается иммунитет семян к различного рода микроорганизмам, а высокая влажность почвы приводит к уменьшению содержания кислорода в почвенном воздухе, который необходим развивающимся растениям.

Не меньшее значение для микробиологических процессов почвы, чем температура и влажность, имеет воздушный режим. Воздух содержится в почвенных порах, которые составляют в отдельных случаях от 25 до 70% общего объема почвы. Содержание воздуха в почве подвержено сильным колебаниям в зависимости от ее увлажнения, уплотнения и т. д.

В связи с потреблением кислорода почвенными организмами и корнями растений содержание его в почве снижено. В затопленных почвах иногда кислорода почти нет. В воздухе слежавшей почвы имеется около 2% кислорода, в хорошо взрыхленной — 20%.

В почвенном воздухе повышено содержание углекислого газа, который выделяют микроорганизмы и корни растений. Чаще всего в почвенном воздухе содержится 0,3—1,5% углекислого газа, в то время как в атмосферном — только 0,03%. В затопленных почвах количество CO_2 повышается до 10%. В атмосфере щелочных почв углекислый газ практически отсутствует. В целом газовый состав почвенного воздуха подвержен суточным и сезонным колебаниям.

Большое количество CO_2 ежесуточно выделяется из почвы, вместо него из атмосферы поступает воздух. Этот процесс «дыхания» почвы имеет огромное значение для жизни растительного мира.

Следует иметь в виду, что различным газам свойственна неодинаковая растворимость в воде. Так, при 20°C в 100 мл воды растворяется 3,1 мл кислорода, 1,5 мл азота, 87,8 мл углекислого газа. При повышении содержания CO_2 в воздухе почвенный раствор сильно обогащается этим газом. Вследствие высокой растворимости CO_2 в воде при обогащении им почвы может возникнуть обстановка, близкая к анаэробноз, несмотря на относительно высокое содержание в почвенном воздухе кислорода, который растворяется хуже. Анаэробноз легче создается в микропорах капиллярных промежутках почвы.

Аэробные микроорганизмы хорошо переносят повышенное содержание в воздухе CO_2 . Нередко отмечается даже улучшение и роста при обогащении воздуха углекислотой. Тем не менее при концентрации CO_2 1—1,5% и выше в деятельности некоторых групп микроорганизмов начинает проявляться депрессия. Вероятно, отчасти по этой причине в нижних горизонтах пахотного слоя меньше микроорганизмов, чем в верхних.

Однако аэробные цианобактерии лучше развиваются при повышенном содержании CO_2 в почве. Оптимальная для них концентрация CO_2 равна 1%, а максимальная — для ряда представителей достигает 12% и выше.

Семена зерновых культур лучше всего прорастают при содержании кислорода в почве около 20%. Если его запас снижается до 10—15%, то прорастание семян тормозится. При содержании в почве 2,5—5% кислорода семена обычно прорастают медленно, а развитие всходов сильно задерживается.

Обеспеченность почвы кислородом связана с ее окислительно-восстановительными условиями, характеризуемыми величиной Е_h (окислительно-восстановительный потенциал). В верхнем слое подзолов значение Е_h обычно колеблется в пределах 600—750 мВ, в черноземах — 350—600, в сероземах — 350—400 мВ. Эти показатели усреднены, так как почва представляет собой

гетерогенную среду и в отдельных ее зонах имеются существенные колебания значений Eh.

При снижении Eh до 200—250 мВ в почве начинают развиваться микробиологические процессы резко восстановительного характера, например образование глея. В нейтральных почвах уже при Eh, равном 250 мВ, восстанавливаются такие количества марганца, что образовавшиеся закисные соединения этого элемента могут отравить растение. При Eh 340 мВ создается обстановка, благоприятствующая энергичному восстановлению нитратов до свободного азота.

В затопляемых почвах, например на рисовых полях, более или менее удовлетворительно обеспечивается кислородом самый поверхностный слой в несколько сантиметров. Глубже значение Eh снижается до 100—110 мВ, вследствие чего здесь начинают идти восстановительные процессы, в частности образование сероводорода из сульфатов.

Не столь желательны для почвы и резко окислительные условия. Так, в нейтральных почвах (рН 6,5—7) при Eh 550 мВ, а в кислых (рН около 5) при Eh 680 мВ происходит почти полное окисление солей железа и марганца, и они выпадают из раствора в виде гидратов окиси, что приводит к нарушению питания растений этими элементами.

На окислительно-восстановительный потенциал почвы могут оказать влияние ионы растворимых элементов, меняющие свою валентность, например Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} и другие, а также изменение рН, сказывающееся на стойкости отмеченных ионов.

Вещества, образующие твердую и коллоидно-дисперсную фазу, в установлении окислительно-восстановительного потенциала почвы не участвуют, но обладают буферным действием и служат резервом для образования потенциалопределяющих ионов. Это, в частности, относится к гумусовым соединениям почвы.

Диапазон колебаний окислительно-восстановительных условий различных почв в зависимости от их кислотности схематично показан на рисунке 49. Как видно, в нормально увлажненных почвах создаются более или менее аэробные условия. Относительно анаэробную обстановку можно наблюдать часто лишь внутри отдельных комочков почвы, потому что микроорганизмы, находящиеся на поверхности агрегатов, поглощают кислород и не пропускают его внутрь комка. В течение вегетационного периода значение Eh в почве более или менее колеблется.

На рисунке 50 показаны результаты опыта японских исследователей Т. Нагатсука и Х. Фурузака по изучению влияния степени аэрации на развитие смешанной группировки аэробных и анаэробных бактерий. При давлении кислорода, равном $2 \cdot 10^4$ Па, в почвенной суспензии развивались только аэробы. При уменьшении доступа кислорода доминировали анаэробы.

К аэробным микроорганизмам почвы относятся плесени, большинство актиномицетов и значительная часть бактерий. Аэробные актиномицеты и бактерии могут существовать при относительно

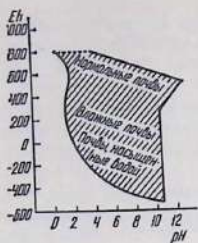


Рис. 49. Диапазоны Eh и pH разных почв (по Л. Баас-Беккингу).

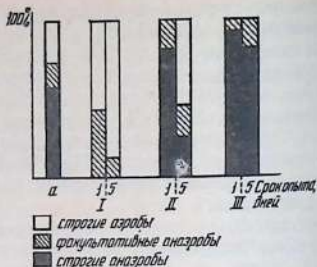


Рис. 50. Влияние аэрации на состав бактериального населения почвы:

а — исходная проба; I; II; III — соответственно дальнейшее кислотоудаление; 1—2; 0 мм рт. ст. (по Т. Нагатсука и Ш. Фурусака).

небольших запасах кислорода, что делает понятным их размножение в глубоких слоях почвы. Как было показано Н. Н. Худяковым, некоторые аэробные почвенные микроорганизмы (*Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* и др.) могут размножаться при содержании в почве 0,13—0,26% кислорода.

Отдельные группы аэробных микроорганизмов неодинаково относятся к обеднению воздуха кислородом. Так, мукоровые грибы более аэробны, чем представители рода *Penicillium*. Некоторые бактерии, например *Bacillus mycoides*, тяготеют к верхним слоям почвы, а *Bac. idosus* одинаково хорошо растет как в верхних, так и в нижних слоях. Это объясняет, почему по мере углубления в почву, наряду с уменьшением количества микроорганизмов, существенно изменяется соотношение их групп и видов.

Большинство аэробных бактерий при росте на жидких питательных средах снижает значение Eh до 100—120 мВ. Многие из них могут жить и в анаэробных условиях, используя связанный кислород (нитратов, сульфатов и т. д.).

Возникает вопрос о месте обитания в почве анаэробных микроорганизмов, к которым в основном относятся бактерии. Их численность обычно невелика: не более 10% бактерий почвы принадлежит к строгим и факультативным анаэробам. Больше всего анаэробных бактерий в верхних слоях почвы. Это связано с тем, что здесь имеется небольшое количество органических веществ, а анаэробные микрозоны, в которых эти микроорганизмы размножаются, есть в каждом комочке почвы.

Для хорошего развития сельскохозяйственных растений необходимы определенные окислительно-восстановительные условия. Ухудшение аэрации ослабляет мобилизационные процессы, что снижает урожай. Так, в опыте В. Крюгера при выращивании

ячменя в вегетационных сосудах с пойменной суглинистой почвой были получены следующие результаты:

Вариант опыта	Относительный урожай, %
нормальная почва	100
немного уплотненная почва	102
сильно > >	74

Оптимизации окислительно-восстановительных условий в почве можно достигнуть обработкой и мелиоративными мероприятиями. Корневая система некоторых растений (например, риса) может хорошо развиваться в почвах, где преобладают восстановительные процессы.

В результате деятельности разных групп микроорганизмов газовый состав почвы значительно отличается от атмосферного. Так, в почве имеются газы, практически отсутствующие в атмосфере. Это окислы азота, сероводород, метан, окись углерода, молекулярный водород и др. Количество их варьирует в зависимости от условий, создающихся в почвенной среде.

На характер микрофлоры большое влияние оказывает активная кислотность почвы. По величине рН почвы могут быть разделены на следующие группы: сильнокислые — рН 3—4, кислые — 4—5, слабокислые — 5—6, нейтральные — 6—7, щелочные — 7—8, сильнощелочные — 8—9 и выше.

В подзолах значение рН находится в пределах 3,5—5, в черноземах эта величина достигает 6,5—7,2, а в сероземах — 7,5.

Значение рН одной и той же почвы на разных, даже близко расположенных, участках поля может несколько различаться. В течение вегетационного периода реакция почвенной среды также подвержена изменениям. Это связано с жизнедеятельностью микроорганизмов, образованием ими CO_2 , кислот и т. д.

Следует иметь в виду, что значение рН почвы, определяемое обычными методами, дает лишь средний показатель ее кислотности. На самом деле рН отдельных точек одной и той же почвы различен, и микроорганизмы разных микрзон находятся далеко не в одинаковых условиях. В кислых почвах имеются микрзоны, где могут размножаться микроорганизмы, не переносящие низкого значения рН, а в щелочных почвах встречаются относительно кислые микрзоны.

Кроме того, одна и та же величина рН может иметь неодинаковое значение в жизнедеятельности микроорганизмов в разных почвах. Так, в подзолах некоторое снижение рН вызывает освобождение алюминия, токсически действующего на ряд микроорганизмов. Этого не наблюдается в богатых кальцием черноземах. Поэтому подкисление подзолов вызывает более сильное подавление микробиологических процессов, чем такое же подкисление черноземов. К алюминию особо чувствительны актиномицеты, азотобактер и многие водоросли. Повышенное количество этого элемента легко переносят грибы и ряд бактерий. Отчасти вслед-

стве этого северные почвы бедны актиномицетами и азотобактером.

Микроорганизмы одной и той же систематической группы одинаково относятся к кислотности среды. Так, большинство бактерий почвы не развивается при значении рН ниже 4,5—5, некоторые из них (например, *Thiobacillus thiooxidans*) могут существовать в жизнеспособном состоянии даже при рН 0,9. Минимальные значения рН для грибов составляют 2—3, но некоторые грибы (представители рода *Mortierella*) не выносят подкисления среды. Весьма чувствительны к снижению рН актиномицеты. Все это делает понятным, почему в любой почве могут быть найдены представители основных групп микроорганизмов, но в кислых почвах относительно больше микроскопических грибов, чем в щелочных. В последней группе почв лучше размножаются бактерии и актиномицеты.

Несмотря на разную кислото- и щелочеустойчивость, все группы микроорганизмов наиболее активно проявляют свою жизнедеятельность в нейтральной среде. Поэтому нейтрализация кислых и снижение значения рН щелочных почв приводит к активизации желательных для агрономической практики процессов.

На деятельность почвенных микроорганизмов большое влияние оказывает механический состав почвы. Как же распределены микроскопические существа между твердой фазой почвы и почвенным раствором и какие частицы почвы больше заселены микроорганизмами?

Основная масса почвенных микроорганизмов (до 90—99%) связана с твердой фазой почвы, и только незначительная доля их находится в почвенном растворе. Это объясняется особенностью твердых частиц почвы удерживать (адсорбировать) клетки микроорганизмов.

Работами Н. Н. Худякова и его учеников было показано, что микроорганизмы активно поглощаются частицами почвы. Можно полагать, что в основе адсорбции почвами микроорганизмов лежит взаимодействие положительно заряженных частиц почвы с отрицательно заряженными клетками микробов.

В крупных почвенных агрегатах находится значительно больше микроорганизмов, чем в мелких. Д. Г. Звягинцев объясняет это не только величиной агрегатов, но и большим содержанием в них органических веществ, что обуславливает размножение микроорганизмов.

Способность почв адсорбировать микроорганизмы не остается постоянной, она зависит от влажности почвы, ее температуры, рН дисперсности и других факторов. Поскольку эти факторы меняются в течение года, то изменяется и адсорбция.

В почвенном растворе имеются питательные для микроорганизмов вещества, что способствует размножению микробов не только на поверхности твердых частиц, но и в водной фазе почвы. На распределение микроорганизмов в твердой и водной фазах почвы значительно влияют растительные остатки, обогащающие

почвенный раствор органическими соединениями. На растительной массе происходит также обильное размножение микробов.

Очень много микроорганизмов находится в ризосфере растений и на поверхности корней (ризоплане), так как выделяющиеся из корней в почву органические соединения служат пищей для микрофлоры. Такое же значение имеет корневой опад, то есть отмирающие корни. Много микроорганизмов скапливается и на погибших почвенных животных.

Для некоторых групп микроорганизмов источником питания могут служить гумусовые соединения, а также продукты их распада.

Поэтому богатство почвы гумусовыми веществами существенно влияет на состав почвенной микрофлоры.

Для каждого типа почвы характерен свой профиль. У одних почв гумусовый слой невелик, у других он очень мощный. От этого зависит глубина распространения микроорганизмов в почве. Однако по мере углубления в почву количество гумуса уменьшается более постепенно, чем численность микроскопических существ.

На характер сообщества микроорганизмов почвы большое влияние оказывают биотические факторы и прежде всего взаимоотношения микробов, которые бывают весьма различными. Можно наблюдать так называемые метабиотические отношения, при которых продукты жизнедеятельности одних микроорганизмов служат источником существования для других. Так, нитрификаторы развиваются лишь тогда, когда в почве имеется достаточно аммиака, вырабатываемого гнилостными микробами.

Существуют синтрофные взаимоотношения микроорганизмов. Под этим термином понимают явление, когда два вида микроорганизмов или более растут на среде, недоступной каждому виду в отдельности. Г. А. Заварзин объясняет это обменом факторами или субстратами роста, а иногда удалением одним микроорганизмом какого-либо компонента токсических для другого микроба соединений.

У представителей микромира отмечен и прямой паразитизм. Имеются хищные грибы, образующие кольца или липкие головки, с помощью которых они улавливают нематод, служащих им источником питания (рис. 51).

Описаны скользящие нитевидные бактерии, которые могут тесно присоединяться к клеткам других видов бактерий, водорослей и нематод, вызывая их лизис. Эти микроорганизмы П. Христененом и Ф. Куком отнесены к виду *Lysobacter*.

Имеется большая группа грибов, паразитирующих на других грибах. Эти паразиты получили название микофильных грибов. Мелкая бактерия *Vdellovibrio* (вibriопиявка), как обнаружил К. Штольп, внедряется в клетки более крупных бактерий и питается их содержимым. Паразитами многих микроорганизмов являются фаги.

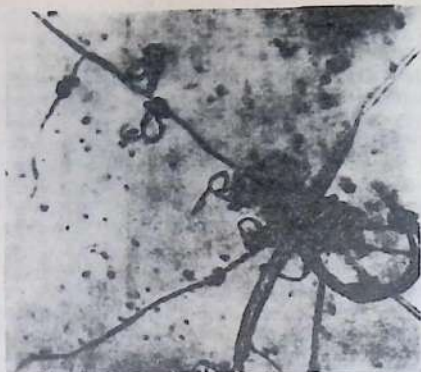


Рис. 51. Ловчие кольца, образуемые мицелием хищного гриба; в одном из них поймана нематода (по А. Р. Сопрунову).

Б. В. Громов у микроскопических водорослей выявил паразитов *Arhelidium* и *Атомеоарhelidium*, представляющих собой промежуточные формы между простейшими и водорослями.

Паразитами бактерий, актиномицетов и водорослей являются вирусы — фаги. Protozoa (простейшие) поедают большое количество бактерий и грибных организмов. Пищей для мелких клещей и других животных служит не только мертвый органический субстрат, но и микроорганизмы. Р. Сайре, В. Вергин описали микробов-паразитов, поражающих нематод.

Таким образом, развитие микроорганизмов в почве определяется целым комплексом абиотических и биотических факторов.

Глава 14

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА МИКРОБНЫХ ЦЕНОЗОВ ПОЧВ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА И АКТИВНОСТИ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Мир почвенных микроорганизмов весьма разнообразен, однако здесь в основном будут рассмотрены бактерии, микроскопические грибы, актиномицеты и близкие к ним существа. Эти организмы обычно изучаются в курсах микробиологии.

Прежде всего встает вопрос об общем количественном анализе микроорганизмов почвы. Наиболее объективный метод такого анализа — прямое микрофотографирование почвы, принцип которого был предложен С. Н. Виноградским. При этом методе готовят почвенную суспензию и под микроскопом в определенном ее объеме подсчитывают общее число микроорганизмов. При подготовке почвенной суспензии целесообразно использовать один из рекомендуемых способов диспергирования почвы и десорбции микроорганизмов из почвенных частиц: растирание почвы, обработка поверхностно-активными веществами, ультразвуком и т. д. Пересчетом можно установить, сколько микроорганизмов приходится на 1 г исследуемой почвы. С. Н. Виноградский готовил препараты на предметном стекле и просматривал их под оптическим микроскопом. В поле зрения можно было видеть палочковидные бактерии, мелкие и крупные кокки, обрывки мицелия грибов и актиномицетов и другие микроорганизмы.

Определение числа бактериальных клеток прямым микрофотографированием облегчается при использовании люминесцентного микроскопа, красителей микробных клеток. При этом микроорганизмы лучше видны среди мелких частиц почвы. В качестве красителей применяют акридиновый оранжевый, изотиоционат и другие вещества.

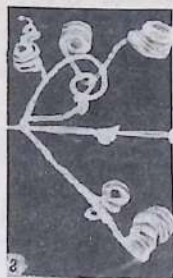
При окрашивании акридиновым оранжевым красный тон приобретают мертвые клетки, зеленый — живые. Для окраски грибного мицелия и установления его длины при прямом микрофотографировании пользуются диацетатом флуоресцена.

Иногда прямую микрофотографию применяют для микробиологического анализа срезов почвы, помещенных в метилметакрилат, фильтратов почвенных суспензий на фильтрах Зейца, окрашенных дианиловым голубым или метиленовым синим и т. д.

Б. В. Перфильев и Д. Р. Габе для подсчета микроорганизмов в почве рекомендовали пользоваться сконструированной ими капиллярной камерой, глубина которой не превышает 30—40 мкм, а ширина не более поля зрения микроскопа. Подсчитав число микроорганизмов в капилляре, можно затем сделать пересчет на 1 г почвы.

Д. И. Никитин использовал для прямого подсчета микроорганизмов почвы электронный микроскоп. С его помощью наряду с обычными микроорганизмами можно обнаружить множество мельчайших форм микроскопических существ. Сейчас для прямого анализа микрофлоры почвы начинают применять сканирующий электронный микроскоп, дающий объемное изображение анализируемых объектов (рис. 52).

Прямые методы дают представление об общем количестве микроорганизмов в почве. Однако внешний облик микроорганизмов не позволяет судить об их функциях, поэтому необходимо дополнительно определить принадлежность микроскопических существ, обнаруженных в почве, к разным систематическим и физиологическим группам.



7. Соотношение показателей численности микроорганизмов, определенных разными методами в дерново-подзолистых почвах

Метод	Число микроорганизмов в 1 г почвы	Соотношение показателей, полученных разными методами
Посев на твердые питательные среды	1—3·10 ⁶	1*
Прямой подсчет под оптическим микроскопом	5—20·10 ⁶	150—1500
То же под электронным микроскопом	20—25·10 ⁹	До 15 000

* Принят за единицу.

Состав отдельных групп микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, грибы и т. д.) может быть уточнен посевом почвенной суспензии на разные по составу твердые питательные среды, на которых затем развиваются зародыши тех или иных групп микроорганизмов. В практике обычно используют агаризованные или желатинизированные, а иногда силикогелевые питательные среды.

После инкубации засеянных чашек в термостате подсчитывают выросшие на твердой питательной среде колонии. Допуская, что каждая колония произошла из одного зародыша того или иного микроорганизма, устанавливают число клеток во взятом образце почвы. Подобный пересчет имеет ряд условностей. Например, бактериальные колонии могут вырасти на питательной среде не из одной клетки, а из группы их, оставшихся неразделенными в почвенной взвеси. Колонии грибов и актиномицетов вырастают из обрывков мицелия разной величины и из спор. Дифференцировать колонии, образованные из спор и из мицелия этих микроорганизмов, невозможно. Поэтому правильнее богатство почв мицелиальными микроорганизмами учитывать, измеряя длину их мицелия при прямом микроскопировании.

Представляют значительный интерес примерные соотношения числа микроорганизмов, подсчитываемых в одной и той же почве различными методами. В таблице 7 приведены соответствующие данные Д. И. Никитина для дерново-подзолистых почв Подмосковья.

Как видно, прямая микроскопия дает показатели, во много раз превосходящие те, которые получены методом посева. Это объясняется прежде всего тем, что при прямом анализе подсчитывают живые и мертвые клетки. Число последних может быть велико, так как индивидуальная жизнь микроорганизмов очень

Рис. 52. Почвенные микроорганизмы под сканирующим электронным микроскопом:

а — неспорообразующая бактерия; б — спорообразующая бактерия; в — споры бациллы; г — *Streptomyces* sp.; д, е — спораносцы стрептомицетов; ж — конидиеносец *Penicillium*; з — конидии *Penicillium*; и — конидиеносец *Aspergillus* (по Г. С. Гузеву и др.).

коротка. Однако численность мертвых микробов в почве обычно не превышает 25% их общего числа.

Общие показатели численности микробов, как бы условны они ни были, представляют интерес. На их основании можно примерно вычислить массу совокупности микроорганизмов в почве. Как показывают подсчеты, она составляет десятые доли процента массы почвы. По мере перехода от северных почв к южным процент микробной массы в них увеличивается.

В последнее время для установления микробной массы почвы применяют косвенный метод, рекомендованный Д. Дженкинсоном. Почву обрабатывают летучим антисептическим веществом, убивающим микробов. После дефумигации почвы определяют количество выделяемой углекислоты, которая в основном образуется из отмерших клеток. Затем расчетным путем можно примерно установить массу органического вещества микробов.

Предложены и другие косвенные методы определения в почве массы отдельных групп микроорганизмов — для бактерий по специфической для прокариот мурамовой кислоте, для грибов — по хитину, входящему в состав их клеток, для водорослей — по количеству хлорофилла и т. д. Почвенную биомассу можно примерно измерять по компонентам микробной клетки — АТФ и ДНК, но более точным биохимическим методом считают ее установление по содержанию аденозина и аденина при помощи флуорометрии.

В последнее время сотрудники МГУ предложили оригинальный «регидрационный метод». Почву подсушивают при температуре не выше 70°C, что нарушает барьер проницаемости микробных клеток, и в водную или солевую вытяжку переходит часть внутренних компонентов клетки. Их концентрация может быть измерена с использованием определенного коэффициента и установлена биомасса микроорганизмов в почве.

По обобщенным данным Д. Г. Звягинцева, сырая масса бактерий в пахотном слое различных почв колеблется от 0,5 до 15 т/га, микроскопических грибов — от 5 до 20 т/га.

В связи с тем что при микроскопическом исследовании почв отдельные показатели являются условными, надежнее использовать одновременно несколько методов.

При анализе почв нередко учитывают число отдельных физиологических групп микроорганизмов. Это делают так называемым методом титра, при котором твердые или жидкие избирательные (элективные) питательные среды для определенных групп микроорганизмов заражают разными разведениями почвенной суспензии. Устанавливая после выдерживания в термостате степень разведения, показавшего наличие искомой группы микроорганизмов, можно простым пересчетом определить численность ее представителей в почве. Таким путем узнают, насколько богата почва нитрификаторами, денитрификаторами, целлюлозоразлагающими и другими микроорганизмами.

Метод титра используют при учете почвенных водорослей и простейших. Для водорослей берут минеральные среды, которые

после заражения рядом разведений почвенной суспензии выдерживают при искусственном освещении. При учете простейших, используя также разведения почвенной суспензии, инфицируют среды, содержащие микроорганизмы, которыми простейшие могут питаться.

Для характеристики типа почвы и ее состояния важны не только показатели численности разных групп микроорганизмов, но и анализ состояния в почве отдельных их родов и видов. За редким исключением, физиологические группы микроорганизмов очень разнообразны. Внешняя обстановка может резко менять видовой состав почвенных микроорганизмов, но почти не отражается на числе их физиологических групп. Поэтому при анализе почвы важно стремиться установить состояние отдельных видов микроорганизмов.

Совершенно очевидно, что диагностика до вида, даже всех обычных сапрофитов почвы, невозможна. Поэтому сейчас стремятся выявить микроорганизмы, характерные для определенных почв. Список подобных индикаторных микроорганизмов пока не столь велик, но он будет возрастать по мере развития почвенной микробиологии. Однако уже в настоящее время определение индикаторных микроорганизмов помогает установить тип почвы, ее окультуренность и характер воздействия на почву агротехнических и агрохимических приемов.

Приведенные методы анализа позволяют определить численность микробов или отдельных их групп в почве, но не показывают их состояния (распределения, взаимосвязей и т. д.). Для выяснения этого вопроса существует ряд подходов. Так, в 30-х годах текущего столетия академик АН УССР Н. Г. Холодный рекомендовал изучать микробные пейзажи почвы с помощью «стекел обрастания». При работе по этому методу в почву закладывают предметные стекла и оставляют там на определенный срок. Поверхность стекол обрастает микрофлорой, характерной для данной почвы. Микроскопический анализ стекол позволяет получить представление как о составе, так и о взаимоотношениях микроорганизмов в почве.

Новые возможности в области изучения микробных пейзажей почвы открывает капиллярный метод Б. В. Перфильева и Д. Р. Габе. Для изучения группового состава микроорганизмов почв ими сконструирован капиллярный прибор — педоскоп, который может быть использован и для работы с грунтами. Педоскоп представляет собой набор капиллярных ячеек с 5—6 прямоугольными каналами. Ячейки закладывают в пазы широкого стеклянного держателя (рис. 53) и заполняют полужидкой агаризованной средой, содержащей в качестве органического субстрата гумусовые вещества (фульвокислоты). Это создает для микроорганизмов условия, близкие к почвенным. Педоскоп выдерживают в почве 1,5—2 месяца, затем просматривают его под микроскопом. С помощью этого метода удается выявить характерные для почвы микробные ассоциации.

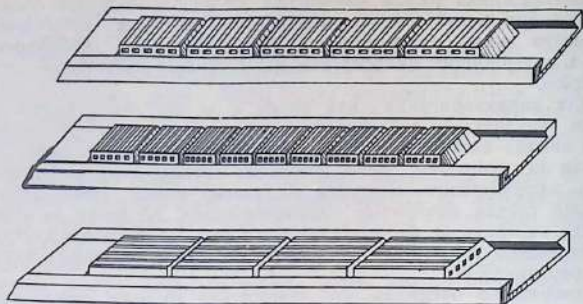


Рис. 53. Педоскоп с различными типами капиллярных ячеек (по Б. В. Перфильеву и Д. Р. Габе).

Важно установить не только состав микронаселения почвы, но и ее суммарную биохимическую активность. Одним из показателей такой активности служит нитрификационная способность почвы, характеризующая мобилизуемость азотного запаса почвы в результате деятельности микроорганизмов. Нитрификационную способность устанавливают по нарастанию в почве количества нитратов после выдерживания ее при определенных условиях в термостате. Описанная проба свидетельствует о потенциальной способности почвы накапливать то или иное количество минерального азота. В ряде случаев этот показатель важен для практики.

Если в начале опыта в почву внести соль аммония, то по накоплению нитратов можно получить дополнительное представление об энергии работы нитрифицирующих бактерий.

При изучении почвенной биодинамики определяют выделение почвой CO_2 («дыхание» почвы). Данная проба показывает в основном энергию процесса разложения в почве органических соединений.

Можно установить быстроту распада в почве любого химического вещества путем учета продуктов распада или убыли внесенного в почву соединения. Для этого в почву помещают полосы бумаги или лучше льняной ткани, закрепленной на стекле, — метод «аппликаций». Периодически тесты извлекают из почвы, просматривают и фиксируют зоны распада материала (рис. 54).

Метод аппликаций весьма показателен при решении некоторых агрономических задач. С его помощью, например, можно выявить интенсивность процессов в разных горизонтах пахотного слоя, установить действие различных удобрений, мелиорирующих средств и т. д.

Для оценки активности почвы могут быть использованы и ферментные показатели. Ферменты, находящиеся в почве, в основном продуцируются микроорганизмами. Поэтому между фермен-

тативными показателями почвы и определенными микробиологическими процессами намечается коррелятивная зависимость. Подобная связь устанавливается, например, между активностью инвертазы и интенсивностью дыхания почвы, активностью оксидазы и динамикой нитратов. Абсолютное значение отдельных ферментных показателей, по данным А. Ш. Галстяна, Т. А. Щербаковой, Ф. Х. Хазиева и других ученых, различно у почв разных климатических зон, что может быть использовано в диагностических целях.

Следует отметить, что при отмирании микроорганизмов окружающая среда еще более обогащается ферментами, которые в значительной части адсорбируются почвенными коллоидами, что способствует их стабилизации. Наши исследования показали, что ферментные процессы в почве прекращаются при значительно более низкой влажности, чем деятельность микроорганизмов. Следовательно, биохимические процессы могут протекать даже в относительно сухих почвах. Определение активности ферментов почвы, как показано А. Ш. Галстяном, может дать представление об их плодородии.

В приведенном обзоре указаны лишь основные подходы к выявлению состава и активности почвенных микроорганизмов.

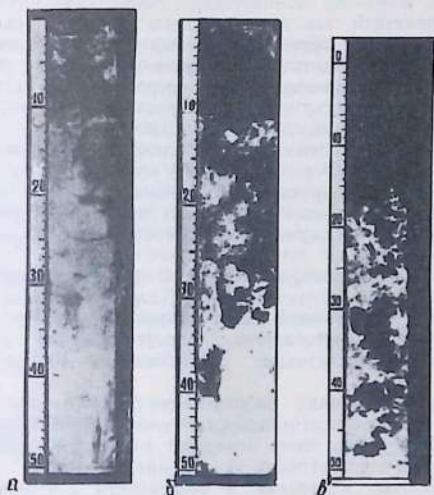


Рис. 54. Распад льняной ткани в черноземе:
а, б, в — в течение 1, 2 и 3 месяцев соответственно.

В зависимости от теоретических или практических задач, стоящих перед почвенными микробиологами, следует пользоваться различными комплексами методов анализа почвы*.

МИКРООРГАНИЗМЫ ПОЧВ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ

В. В. Докучаевым была выявлена закономерность распределения типов почв на земной поверхности. В связи с тем что почвы резко разнятся по своим свойствам, возникло предположение о существовании различия в составе населяющих их микроорганизмов. В дореволюционной России были сделаны попытки решения этого вопроса, но из-за недостаточной разработанности методики исследований они не дали результата. После Великой Октябрьской социалистической революции большая экспериментальная работа по биодинамике различных почв была проведена в Институте сельскохозяйственной микробиологии ВАСХНИЛ под руководством академика С. П. Костычева. Эти исследования были выполнены путем выявления активности в почве ряда физиологических групп микроорганизмов. Удалось установить большую энергию мобилизационных процессов в южных почвах. Так, рельефно выявлялось усиление процесса нитрификации при переходе с севера на юг.

Следует отметить, что до последнего времени существовала точка зрения на микроорганизмы вообще и на почвенные в частности как на космополиты, представители которых более или менее однородно распределены на поверхности земного шара. Поэтому предполагалось, что почвы различаются лишь по численности, но не по составу их микронаселения.

Детальное изучение специфики микрофлоры почвенных типов началось в СССР в 40-х годах. Этому содействовало учение о биогеоценозе, сформулированное академиком В. Н. Сукачевым. Сейчас работа по изучению микробных ценозов различных почв проводится во многих научно-исследовательских учреждениях нашей страны.

Численный состав микроскопических существ различных почв отличается большой динамичностью. Даже за относительно короткие промежутки времени число микроорганизмов в почве может значительно изменяться. Это следствие динамики температуры и влажности почвы, состояния растительного покрова и т. д. (рис. 55).

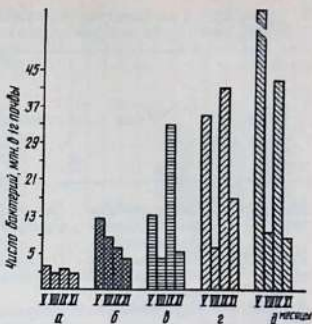
Почти во всех почвах наблюдается бóльшая или меньшая активизация деятельности микроорганизмов весной. Очевидно, это связано с обогащением почв отмершей за осенне-зимний период растительностью и достаточной их увлажненностью.

Кроме сезонных изменений, в численности почвенной микрофлоры отмечаются кратковременные флуктуации. О их причине

* Более подробно методы анализа см. в книге: Методы почвенной микробиологии и биохимии/Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1980.

Рис. 55. Динамика численности сапрофитных бактерий в горизонте А разных почв:

а — северный подзол; б — дерново-подзолистая; в — серая лесная почва; г — чернозем; д — каштановая почва.



имеются разные предположения. Некоторые исследователи допускают, что число бактерий может резко снижаться из-за уничтожения их фагами или простейшими. Возможно также накопление каких-то токсических веществ в почве (этилена, окиси этилена и др.), временно подавляющих развитие определенных групп микроорганизмов.

Однако, скорее всего, отмеченное явление зависит от неравномерного распределения микроорганизмов в почве. В связи с этим каждая взятая проба отличается по составу микробов от другой, что создает впечатление существенной динамики в их численности.

Динамика количества микроскопических существ не снимает вопроса о разной плотности заселения микроорганизмами почв различных типов. Несмотря на колебания, легко заметить, что в одних почвах микробов больше, в других меньше. Если ориентироваться на средние цифры, полученные при наблюдениях за численностью микробов в почве, то можно составить представление о богатстве тех или иных почв микроорганизмами.

Микробиологические анализы дают условные показатели, но при использовании одной и той же методики для изучения разных почв получают вполне сопоставимые результаты. Все использованные методы (прямое микроскопирование и посев на разные питательные среды) свидетельствуют о большем богатстве микробами южных почв.

Ниже приведены данные Д. И. Никитина, полученные при электронно-микроскопическом анализе почв, по общему числу микроорганизмов в 1 г почвы:

тундровая почва — карликовый подзол	около $0,4 \cdot 10^8$
сильно оподзоленная	> $0,4 \cdot 10^9$
чернозем	> $10 \cdot 10^9$
краснозем	> $20 \cdot 10^9$

По мере перехода от более холодного северного климата к южному микронаселение почв все более возрастает, и потому в южных почвах микробиологические процессы протекают более энергично.

8. Численность и соотношение отдельных групп микроорганизмов в почвах разных типов (учет методом посева)

Зоны	Почвы	Состояние почв	Общее число микроорганизмов, тыс. на 1 г почвы	%			
				Бактерии	Споры (из числа бактерий)	Актиномицеты	Грибы
Тундра и тайга	Тундрово-глебовые и глеево-подзолистые	Целинные	2140	95,6	0,7	1,4	3,0
		Окультуренные	4870	98,0	0,6	1,6	0,4
Лесо-луговая	Подзолы и дерново-подзолистые	Целинные	1080	89,3	12,0	8,1	2,6
		Окультуренные	2620	70,7	14,9	28,2	1,1
Луговая степь и степь	Черноземы	Целинные	3630	63,8	21,4	35,4	0,8
		Окультуренные	4530	64,4	24,5	35,1	0,5
Сухая степь	Каштановые	Целинные	3480	64,8	19,3	34,7	0,5
		Окультуренные	6660	67,6	23,0	32,0	0,4
Пустынная степь и пустыня	Бурые и сероземы	Целинные	4490	63,4	17,7	36,1	0,5
		Окультуренные	7380	66,1	19,8	33,6	0,3

Примечания. 1. Общее число микроорганизмов вычислено как сумма бактерий, актиномицетов и грибов. Количество бактерий включено в общее число бактерий. 2. Большая обсемененность микроорганизмами почв тундры и тайги по сравнению с почвами лесолуговой зоны объясняется, очевидно, тем, что северные почвы анализировали только летом, когда число микробов в почве максимальное. Данные для других почв получены в результате динамических наблюдений.

Наиболее изучена сапрофитная, или зимогенная*, группировка микрофлоры различных почв, то есть микрофлора, разлагающая в основном органические соединения. Ее обычно учитывают методом посева на твердые, а иногда и жидкие питательные среды, содержащие те или иные органические вещества. Наиболее часто используют мясо-пептонный агар и крахмало-аммиачный агар, на которых, помимо бактерий, хорошо выявляются актиномицеты. Для учета микроскопических грибов чаще всего используют подкисленный сусло-агар, среду Чапека и т. д.

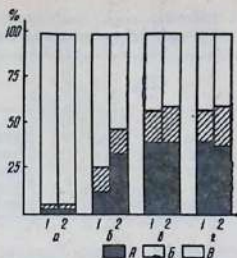
В таблице 8 приведены усредненные данные о численности и соотношении основных групп сапрофитных микроорганизмов в верхних слоях различных почв (горизонт А целинных почв и пахотный слой окультуренных).

Данные таблицы не только подтверждают положение о большом богатстве почв южной зоны микроорганизмами, но и позволяют вскрыть закономерность, которая не выявляется прямым микроскопированием. Оказывается, что в почвах северной зоны спорообразующих бактерий и актиномицетов значительно меньше, чем в южных. На рисунке 56 видно, как резко возрастает процентное содержание этих групп организмов в почвах южной зоны.

* От лат. zimogenic — возбуждающие брожение.

Рис. 56. Соотношение отдельных групп микроорганизмов в различных почвах:

а — тундровая; б — дерново-подзолистая; в — чернозем; г — каштановая. 1 — целина; 2 — окультуренная почва. А — актиномицеты; Б — бактерии; В — неспорообразующие бактерии.



Здесь отражена степень разложения органического вещества в разных почвах. Бактерии и актиномицеты размножаются на более поздних этапах разложения растительных остатков, кроме того, северные почвы имеют кислую реакцию, которую плохо переносят актиномицеты.

В южных почвах относительное число грибов уменьшается при одновременном увеличении их видового состава. Окультуренные почвы всех зон обычно богаче микроорганизмами, чем целинные.

Более правильно пересчитывать число бактерий не на 1 г почвы, а на 1 г гумуса, так как жизнедеятельность сапрофитных микроорганизмов связана не со всей почвенной массой, а с ее органическим веществом. Подобный расчет позволяет объяснить весьма энергичную трансформацию органического вещества микроорганизмами в южных почвах. В таблице 9 сделан пересчет данных, полученных методом посева, на 1 г гумуса.

Вертикальная поясность влияет на состав почвенной микрофлоры так же, как и широтная зональность.

Приведенный материал, а также накопленные к настоящему времени достаточно обширные экспериментальные данные позволяют сделать заключение, что численность микроорганизмов в почвах различных типов неодинакова. Существенно различны в них и соотношения отдельных групп микроорганизмов.

Кратко остановимся на вопросе о глубине проникновения сапрофитных микроорганизмов в почву. Отдельные почвы существенно различаются по глубине их микробиологического профиля. С углублением в почву количество микроорганизмов постепенно уменьшается и меняется их состав. Снижение их численности с глубиной до

9. Содержание сапрофитных микроорганизмов целинных почв разных типов в расчете на 1 г гумуса

Зоны	Почвы	Примерное число микроорганизмов, тыс.
Тундра и тайга	Тундрово-глеевые и подзолистые	1800
Лесо-луговая	Подзолы и дерново-подзолистые	3200
Луговая степь	Черноземы	5700
Сухая степь	Каштановые	10 500
Пустынная степь	Сероземы	20 000

10. Встречаемость *Pseudomonas fluorescens* и *Arthrobacter* в разных почвах, % колоний, учтенных на питательной среде

Зона	Почвы	<i>Pseudomonas</i>	<i>Arthrobacter</i>
Тундра	Тундровые подзолы	До 80	0—5
Лесо-луговая	Подзолы и дерново-подзолистые	> 20	0—5
Сухая степь	Черноземы	> 15	До 10
Пустынная степь	Сероземы	> 8	50—60

известной степени связано с уменьшением количества гумуса в нижележащих слоях почвы, но прямая корреляция здесь отсутствует. Обычно с глубиной численность микроорганизмов снижается более резко, чем уменьшается содержание гумуса. В гумусных и нейтральных почвах микробиологический профиль, как правило, все же более глубок.

При постепенном углублении в почву значительно изменяется и характер микрофлоры. В более глубоких слоях относительно больше бацилл и часто актиномицетов. Это особенно заметно в черноземах и сероземах — почвах, где отмеченных микробных группировок больше.

Как видно из приведенных данных, в составе зимогенной микрофлоры богато представлены *бактерии*, особенно неспорообразующие формы, родовую и видовую принадлежность которых устанавливать довольно трудно. Количество этих микроорганизмов неодинаково во всех почвах. Так, можно считать доказанным, что гнилостные бактерии *Pseudomonas fluorescens*, являющиеся пионерами освоения органических растительных остатков, богато представлены в почвах севера, где медленно идет процесс минерализации. В почвах юга они обнаруживаются в значительном числе лишь в течение короткого времени после внесения растительных остатков.

Представители рода *Arthrobacter*, по ряду признаков родственные актиномицетам, в большем числе встречаются в почвах южной зоны (табл. 10). Они свойственны более поздним стадиям распада органического вещества и предпочитают нейтральную среду. В почвах севера очень часто находится значительное количество кориневых бактерий.

Из неспорообразующих азотфиксирующих бактерий *Beijerinckia* распространены только в кислых субтропических почвах (латеритах и желтоземах). Представители рода *Enterobacter* в большом количестве находятся в лесных почвах средней полосы, а рода *Spirillum* — в южной зоне.

Основательнее изучены группировки спорообразующих бактерий, развитие которых связано с присутствием в почве более переработанного органического вещества. Каждому типу почв свойствен характерный набор преобладающих видов бацилл (табл. 11). Другие виды здесь могут быть, но в очень малом количестве.

11. Доминирующие виды бацилл разных почв

Зона	Почвы	Bac. agglomeratus	Bac. asterosporus	Bac. mycoides	Bac. cereus	Bac. virgulus	Bac. idosus	Bac. megaterium	Bac. mesentericus, Bac. subtilis	Bac. adherens	Bac. gasificans	Bac. brevis	Bac. salanyperda
Тундра	Тундрово-глеевые	+											
Тайга	Глеево-подзолистые	+			+	+							
Лесо-луговая	Подзолы	+		+	+	+							
	Дерново-подзолистые	+		+	+								
Луговая степь и степь	Черноземы				+		+	+			+		
Сухая степь	Каштановые						+	+	+		+	+	+
Пустынная степь	Буроземы и сероземы						+	+	+		+	+	+
Полупустыня	Солонцы						+	+	+	+	+	+	+

В почвах с более энергичными мобилизационными процессами преобладают бациллы, использующие не только органический, но и минеральный азот (*Bac. megaterium*, *Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis*). Наоборот, в почвах со слабо протекающими процессами минерализации органических веществ доминируют спорообразующие бактерии, для которых необходим органический азот (*Bac. cereus*, *Bac. mycoides* и др.). В этом проявляется глубокая связь физиологии микроорганизмов со свойствами среды их обитания.

В достаточной степени изучена экология спорообразующих азотфиксирующих бацилл рода *Clostridium*. Некоторые из них (например, *Cl. pasteurianum*) в больших количествах встречаются только в северных почвах. В почвах южной зоны, по данным В. Т. Емцева, доминирует *Cl. acetobutylicum*.

При окультуривании почвы состав почвенной микрофлоры, в том числе бацилл, существенно меняется, появляются виды спорообразующих бактерий, свойственные более южной зоне.

Иногда с органическими удобрениями (навоз или компост) в почву вносят специфические для удобрений бациллы. Так, в разогретом при созревании навозе содержится весьма много зародышей *Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis* и термофильных бактерий.

С вертикальной поясностью почв связана в основном такая же смена бациллярных форм, как и с зональными почвами. Однако почвы вертикальной поясности нельзя считать полными аналогами горизонтально-зональных, поэтому и в микрофлоре их имеются некоторые различия.

Грибы. Северные почвы, имеющие кислую реакцию, наиболее богаты грибами. Вообще в разлагающейся растительной массе и в верхних слоях почвы их биомасса больше бактериальной. Учет массы грибного мицелия в разных почвах, проведенный Т. Г. Мирчиник, показал, что в тундре на 1 г почвы приходится 4 мг мицелия грибов, в лиственных лесах — до 1 мг, а в почвах южной зоны — 0,4—0,7 мг.

В почвах южной зоны родовой и видовой состав микроскопических грибов более разнообразен. В южных почвах доминируют представители рода *Aspergillus*, а в северных — *Penicillium*. По данным Т. Г. Мирчиник, род *Penicillium* в северных почвах представлен 35—40 видами, а в южных — лишь 10—15. Обратная картина наблюдается для грибов рода *Aspergillus*: в северных почвах в небольшом числе встречаются 3—5 видов этого рода, а в южных — 15—20. Северные почвы беднее, чем южные, грибами рода *Fusarium* (они особенно обильно размножаются в каштановых почвах и сероземах). Некоторые виды (например, *Fusarium sambicinum*) свойственны только щелочным почвам.

Мукоровыми грибами богаты почвы северных районов, однако некоторые роды (*Choanephora*, *Cunninghamella*, *Rhizopus*) приурочены к южным почвам.

В почвах обычно встречаются грибы с темнопигментированным мицелием (*Dematium*, *Cladosporium*, *Macrosporium*, *Alternaria* и т. д.). Их экология плохо изучена, но отмечается, что представители рода *Dematium* более распространены в почвах с малоактивными мобилизационными процессами, то есть в основном в северной зоне, а род *Alternaria* чаще встречается в освоенных почвах.

Выявлено, что одни виды грибов рода *Mortierella* (*M. vanaseae*, *M. usabellina*) распространены в кислых почвах, а другие (*M. alpina*, *M. dichotoma*) — в нейтральных.

В настоящее время установлены индикаторные микроскопические грибы для определенных типов почв.

Дрожжевая микрофлора почв и растительности разных зон изучена Н. П. Бабьевой. Приведем краткое обобщение полученных ею данных.

В тундре при большой пестроте почвенного покрова основная часть дрожжей сосредоточена на мхах и торфе. Доминантные виды дрожжей в тундровых почвах не относятся к типичным педобионтам и более характерны для живых и отмирающих частей растений. Они имеют базидиомицетовую природу (представители родов *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Cryptococcus*).

В лесных биогеоценозах много дрожжей имеется в подстилке. Они составляют группу, относящуюся к базидиальным грибам (виды *Candida*, *Trichosporon* и др.). В минеральных горизонтах почвы дрожжей значительно меньше. Здесь доминируют типичные педобионты — из аскоспоровых грибов *Lipomyces starkeyi* и из базидиомицетов — виды *Candida* и *Cryptococcus*.

В степном биогеоценозе травяной опад весьма богат дрожжами. Здесь встречается до 14 видов, относящихся к родам *Cryptococcus*,

Aureobasidium, *Rhodosporidium* и др. Для почвы характерно доминирование *Lipomyces tetrasporium*.

В биогеноценозах полупустынь и пустынь на растительности доминируют дрожжи из родов *Sporodiobolus*, *Tilletiopsis* и *Sporobolomyces*, образующих баллистоспоры, расселяющиеся токами воздуха и имеющие в жизненном цикле стадии, устойчивые к засухе, — хламидоспоры. Их численность невелика. Дрожжи приурочены не к поверхностному слою почвы, они обитают на некоторой глубине — ниже 20 см. Род *Lipomyces* в почве пустынь отсутствует. Доминируют криптококки.

Стрептомицеты (актиномицеты). Группа стрептомицетов и близких к ним организмов чрезвычайно обширна и включает до 40 родов. Экология и география не только видов, но даже отдельных родов изучена более чем поверхностно. Типичные их формы, относящиеся к аэробам и образующие мицелий, широко распространены в почве. Подобно бациллам, стрептомицеты бедно представлены в северных почвах, но в южных почвах их численность резко возрастает. Это подтверждается всеми методами исследования.

Слабый рост стрептомицетов в почвах северной зоны может быть объяснен как замедленным темпом разложения здесь органического вещества, так и слабой толерантностью их к почвенной кислотности. Северные почвы имеют обычно низкие значения рН.

Разобщенные данные о видовом составе стрептомицетов разных почв можно найти в работах Е. И. Андреев, Л. В. Калауцко, Н. С. Агре, Г. М. Зеновой и других ученых. Имеющиеся сведения нередко противоречивы, но все же можно сделать некоторые предварительные выводы. Так, несомненно, что почвы южной зоны не только богаче актиномицетами, но и имеют более разнообразный их видовой состав.

Очевидно, некоторые стрептомицеты распространены чрезвычайно широко (группы *albus*, *griseus*, *globisporus*, *violaceus* и аспорогенные формы *albus*). Однако группы *violaceus* и аспорогенные *albus* богаче представлены в южных почвах. Некоторые группы актиномицетов (*fradia*, *flavus*, *chromogenes*, *rubroaurantiacus*) в заметных количествах обнаружены в серых лесных почвах. К югу их численность возрастает.

Создается впечатление, что группа *verticillatus* и аспорогенные формы *flavus* и *chromogenes* тяготеют к наиболее южным почвам.

Смена состава актиномицетов в разных почвах хорошо выявляется на примере пигментированных культур. Они гораздо больше распространены в почвах, формирующихся в условиях более теплого климата.

Установлено, что стрептомицеты рода *Actinomadurga* широко распространены повсеместно, но их видовое разнообразие значительно богаче в южных почвах.

Целлюлозоразлагающие микроорганизмы. Процесс распада клетчатки, вызываемый как бактериями, так и грибами, представляет существенный интерес для познания почвообразования. Большая часть растительных остатков состоит из целлюлозы. Изучение

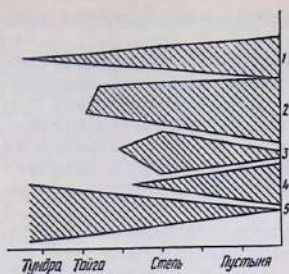


Рис. 57. Доминирующие целлюлозоразлагающие микроорганизмы в почвах разных зон:

1 — *Mycobacterium*, *Cellvibrion*; 2 — *Rhizophlyctis*; 3 — *Cytophaga*; 4 — *Chaetomium*, *Actinomyces*; 5 — *Dematium*, *Penicillium* и др.

состава микроорганизмов, разрушающих клетчатку, проведенное нами, показало, что он существенно меняется в разных почвах. В северных почвах (тундра) этот процесс связан с деятельностью некоторых медленно растущих грибов, относящихся главным образом к родам *Dematium* и *Penicillium*. В зоне тайги в этот ценоз начинают включаться микробактерии и род *Cellvibrion*. В южных почвах в значительной степени грибы вытесняются как указанными бактериями, так и представителями родов *Rhizophlyctis* и *Cytophaga*. В заметных количествах здесь появляются грибы рода *Chaetomium*. Этот ценоз в отличие от северного разрушает клетчатку быстро. Схема смены доминирующих целлюлозоразлагающих микроорганизмов при переходе из одной почвенной зоны в другую показана на рисунке 57.

Изучение особенностей физиологии разных групп целлюлозоразлагающих микроорганизмов позволило объяснить их своеобразную экологию. Эти особенности выражаются главным образом в требовательности к источникам азотного питания. Микроорганизмы северных почв (в основном грибы) могут, хотя и медленно, расти на бедных азотными соединениями средах. Микроорганизмы южных почв, разрушающие клетчатку, нуждаются в высоком уровне азотного питания. На юге процесс минерализации азота протекает значительно энергичнее, что благоприятствует развитию микроорганизмов, более требовательных к условиям среды.

Автохтонная микрофлора почвы*. Гумусовые соединения разлагаются группировкой микроорганизмов, названной С. Н. Виноградским автохтонной. Гумус представляет собой комплекс разных по сложности соединений, весьма стойких к воздействию микроорганизмов.

Имеются фракции гумуса, существующие в почве многие сотни лет. Некоторые же фракции гумуса (например, фульвокислоты) разлагаются относительно легко. Поэтому при недостаточном поступлении в почву растительных остатков содержание гумуса в ней существенно снижается, в основном за счет фульвокислот.

В последнее время выявлен ряд микроорганизмов, способных достаточно энергично минерализовать гумусовые соединения почвы. К ним прежде всего следует отнести представителей рода *Nocardia*, называемых иногда проактиномицетами. Этот род имеет

* От лат. *autochthonous* — коренная, местная.

довольно много видов, различающихся по морфологическим и физиологическим признакам. Гумусовые соединения разрушаются проактиномицетами, дающими краснопигментированные колонии (*N. rubra*, *N. corallina* и др.), бесцветные и желтоокрашенные формы проактиномицетов этой способностью не обладают.

Еще недавно нокардий в почвах не обнаруживали. Это объясняется тем, что на обычных питательных средах они дают колонии, по внешнему виду неотличимые от колоний большинства сапрофитных бактерий. Е. З. Теппер предложила использовать агаризованную среду с почвенной вытяжкой, на которой микроорганизмы рода *Nocardia* образуют колонии с мицелиальной периферией, что позволяет легко их диагностировать (рис. 58).

Разрушающие гумус проактиномицеты способны усваивать и простые органические соединения (аминокислоты, сахара, органические кислоты и т. д.). Исходя из этого, автохтонную группировку микроорганизмов следует воспринимать как подгруппу сапрофитов, обладающую более мощным ферментативным аппаратом и способную разлагать сложные циклические соединения.

Наблюдения показывают, что в почвах, где более энергично идут мобилизационные процессы, численность микроорганизмов рода *Nocardia* увеличивается.

К процессу разложения гумуса причастны и другие бактерии (представители родов *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Bactoderma*, *Clostridium* и т. д.), а также грибы (некоторые виды *Penicillium*, *Aspergillus* и т. д.). Доказано, что чистые культуры микроорганизмов менее активно разлагают гумус, чем смешанные. Микроорганизмы, трансформирующие гумусовые соединения, играют существенную роль в формировании почвенного профиля. Так, накопление Fe и Al в определенных горизонтах подзолистых почв связано с разрушением микроорганизмами перегнойных комплексов. Т. В. Аристовская установила отложение железа в культурах бактерий (*Pedomicrobium*, *Seliberia* и др.) на средах с железогумусовыми комплексами. Это свидетельствует об использовании этими бактериями гумусовой части как источника органических веществ. Освобо-

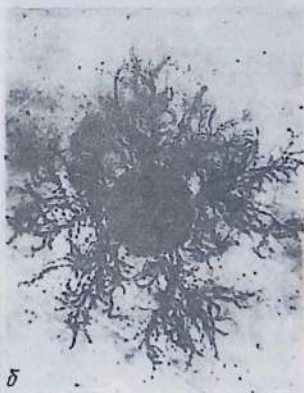


Рис. 58. Колонии *Nocardia* на разных питательных средах:

а — на мясо-пептонном агаре; б — на почвенном агаре (по Е. З. Теппер).

дившиеся гидроокиси Fe и Al могут вступать в реакции с фульво-кислотами и способствовать их выпадению из раствора и закреплению в аллювиальном горизонте почвы.

При избыточном увлажнении в глубине почвы создается анаэробизм, бактерии восстанавливают окисное железо и образуются оглеенные горизонты.

Олиготрофные микроорганизмы составляют большую группу почвенного микронаселения. Многие представители этой группы не растут на обычных питательных средах, так как не выносят высокой концентрации органических веществ. Они предпочитают ассимилировать питательные вещества из растворов с низкой концентрацией как азотсодержащих (олигонитрофилы), так и органических (олигокарбофилы) соединений.

Олиготрофы завершают минерализацию органических соединений, то есть являются группировкой, метаболически связанной с типичными представителями зимогенной микрофлоры. Олиготрофы относятся к группировке, названной Г. А. Заварзиным «микрофлорой рассеяния». Эта группировка очень разнообразна. В нее входят многие типичные сапрофиты, способные развиваться на бедных субстратах, а также ряд весьма специфических видов, отмеченных ниже. Олиготрофы могут быть учтены посевом почвенных суспензий на бедные питательные среды.

Убедиться в существовании значительной группы олиготрофов особенно в почве, удобряемой органическими веществами, можно на основании опыта, проведенного в ТСХА. В почве, паровавшей длительное время (более 50 лет), было очень мало олиготрофов (микробов, растущих на бедной среде). В почве, занятой бессменной рожью, то есть ежегодно обогащаемой пожнивными остатками, численность как зимогенной, так и олиготрофной группировки резко возрастала (рис. 59). В почве, обогащенной органикой олиго-

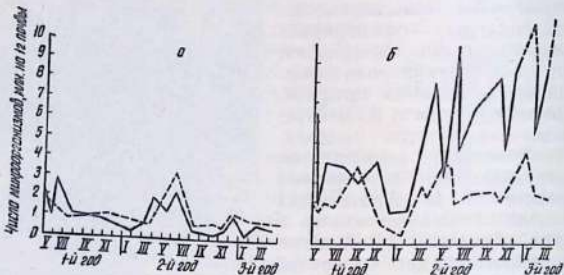


Рис. 59. Численность сапрофитных и олиготрофных микроорганизмов в дерново-подзолистой почве:

а — бессменный пар; б — бессменная рожь. Прерывистая линия — сапрофитные микроорганизмы; сплошная линия — олиготрофные микроорганизмы (по И. Е. Мишустининой).

трофы получали хороший запас питательных веществ после разрушения пожнивных остатков зимогенной микрофлорой.

Д. И. Никитин установил, что относительная численность олиготрофов в северных почвах намного ниже, чем в южных. Это может быть объяснено тем, что при более холодном климате минерализация органических соединений проходит медленно. В условиях же юга при достаточном увлажнении жизнедеятельность микрофлоры протекает весьма энергично. Органические остатки быстро разрушаются, и олиготрофы здесь активно размножаются.

Значительная часть олиготрофных бактерий отличается необычными морфологией и циклом развития. Они составляют большую группу так называемых новых форм микроорганизмов. Д. И. Никитин схематично делит их на следующие группы.

Почкующиеся бактерии — мелкие палочковидные микробы, обычно образующие протоплазматические гифы, на концах которых формируются почки. После созревания последние отделяются, и из них возникает новый организм. Молодые почки подвижны.

К этой группе относятся: *Nurhomicobium*, имеющий неветвящиеся гифы; *Pedomicrobium* — бактерия с ветвящимися гифами; *Nurhomonas*, которому свойствен плеоморфизм; *Blastobacter* — бактерия, не образующая гиф и формирующая почки на клетке.

Простекобактерии имеют на клетке выросты (простеки) 0,3 мкм в диаметре и менее. Эти выросты представляют собой часть клетки, включая клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану и цитоплазму.

К простекобактериям относится ряд родов: *Prosthecomicrobium* — палочковидная, размножающаяся делением бактерия, имеющая многочисленные заостренные выросты до 2 мкм в длину; *Apsalomicrobium* — микроб, близкий по морфологии к предыдущему, но с более длинными (более 2 мкм) пальцевидными выростами, размножающийся почкованием; *Labrys* — бактерия с радиально-лучевым строением клеток, напоминающая двухлезвийный топор (греч. лабрис) и размножающаяся почкованием; *Stella* — бактерия, имеющая форму морской звезды с радиально-лучевой симметрией, размножающаяся делением, а также ряд других микроорганизмов.

Стебельковые бактерии имеют вибрионидные или палочковидные клетки, снабженные стебельком, который окружен общей оболочкой с клеткой. До формирования стебелька молодые клетки имеют жгутики. Стебелек служит для прикрепления к субстрату. В чистых культурах, где плотность популяций высока, многие клетки прикрепляются друг к другу, образуя розетки. Размножаются делением перетяжкой.

В группу стебельковых бактерий входят часто встречающиеся в почве *Caulobacter* и *Asticcacaulis*. У первой бактерии стебелек отходит от конца клетки, у второй — прикреплен к боковой стороне клетки.

Торoidalные, или кольчатые, бактерии. Клетки их отличаются изогнутой формой. Бактерии неподвижны. Размножаются делением. К этой группе относятся: *Microcycclus*, имеющий изогнутую клетку;

Renobacter — бактерия с клеткой палочковидной формы и *Spirillum* — со спиралевидной клеткой.

Для некоторых представителей олиготрофных микроорганизмов пока трудно определить систематическое положение. Это, в частности, относится к *Seliberia* — бактерии с длинными палочковидными спирально изогнутыми клетками, часто соединенными в звездчатые комплексы (розетки). *Seliberia* размножается делением, образуя почки. Молодые клетки *Seliberia* подвижны. Впервые организм был описан Т. В. Аристовской.

Совершенно очевидно, что отдельные виды олиготрофов участвуют в разложении органических соединений на разных этапах. И экология и роль в почвенных процессах еще недостаточно изучены. Ряд представителей олиготрофной группировки бактерий пока зан на рисунке 60.

Хемоавтотрофные микроорганизмы почвы весьма разнообразны. Они вызывают окисление неорганических соединений, образующихся при микробной трансформации преимущественно органических веществ. Наиболее изучены из этих микроорганизмов нитрифицирующие бактерии, деятельность которых характеризует энергию мобилизационных процессов в почве. Еще в 20-х годах текущего столетия сотрудниками С. П. Костычева было установлено, что по мере движения от севера к югу активность нитрификационного процесса усиливается. Это результат усиления в условиях более теплого климата процессов распада органических остатков, при которых выделяется NH_3 , служащий энергетическим и питательным субстратом для нитрификаторов. В условиях вертикальной зональности наблюдается аналогичное явление — по мере подъема в горы, где климат более суров, энергия нитрификационного процесса снижается.

К настоящему времени может считаться доказанным, что некоторые сапрофитные микроорганизмы вызывают процесс нитрификации.

При микробиологических процессах в почве образуется ряд химических веществ (H_2 , H_2S , CO , CH_4 , C_2H_4 и т. д.), которые могут служить источником жизни для автотрофных микроорганизмов.

Помимо хемоавтотрофных микроорганизмов, в почвах находятся фотоавтотрофные микроскопические существа, среди которых имеются типичные бактерии и цианобактерии.

Из отмеченных микроорганизмов в экологическом аспекте более детально изучены водоросли. В почвах арктических пустынь и тундры, на поверхности и в глубине, развиваются зеленые и желто-зеленые водоросли, много азотфиксирующих цианобактерий.

В подзолистых почвах преобладают одноклеточные зеленые (виды *Chlamydomonas*, *Coccomyxa*, *Chlorococcum*, *Chlorella*) и некоторые нитчатые зеленые. Им сопутствуют нитчатые желто-зеленые и некоторые диатомовые водоросли. Цианобактерии, особенно в хвойных лесах, играют небольшую роль.

При дерновом процессе отмечается обильное разрастание водорослей, среди которых появляется значительное число видов цианобактерий.

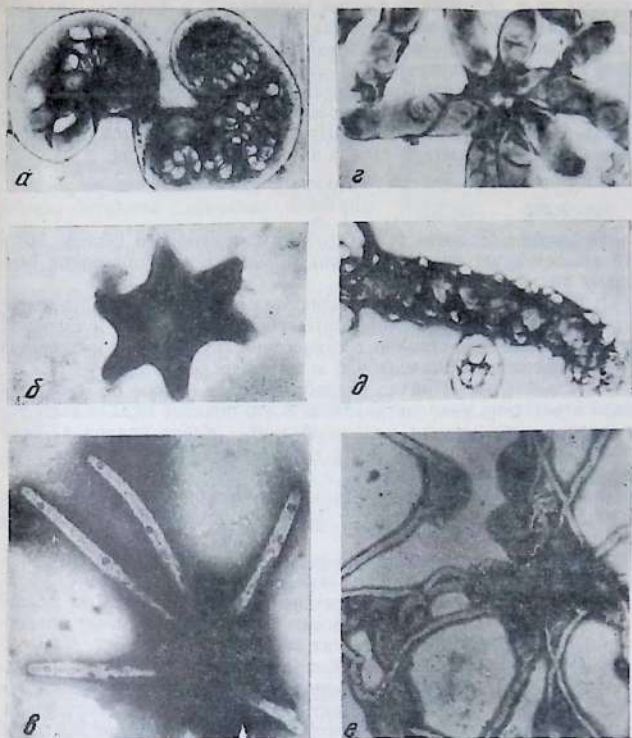


Рис. 60. Олиготрофные микроорганизмы (под электронным микроскопом):
 а — *Renobacter vacuolatum*; б — *Stella* sp.; в — *Nuphromicrobium* sp.; г — *Seliberia stellata*;
 д — *Tuberoidobacter mutans*; е — *Nuphromicrobium* sp. с почками на гифах (по Д. И. Накитину, Л. В. Васильевой).

нобактерий, в том числе азотфиксаторов (виды *Nostoc*, *Calothrix*, *Апабаена*, *Tolurothrix* и др.). Богато представлены зеленые и желто-зеленые водоросли.

В луговых и ковыльных степях черноземной зоны под густым травостоем водоросли развиваются менее интенсивно. Альгофлора представлена широко распространенными видами зеленых водорослей. Здесь интенсивно размножаются и цианобактерии.

В южных — сухих и полупустынных степях при разреженном травостое развитие водорослей усиливается. На поверхности каш-

тановых почв образуются пленки водорослей, в которых ведущая роль принадлежит цианобактериям, в том числе и азотфиксаторам.

При пустынном почвообразовании состав альгофлоры напоминает таковой в полупустынной зоне, но численность водорослей существенно снижается. Преобладают цианобактерии (осциляторные), распространены зеленые водоросли. Максимальное количество водорослей, по данным Э. А. Штина, Е. М. Панкратовой, наблюдается не в поверхностном слое, а на некоторой глубине.

* * *

На рисунке 61 дана схема структуры микробного ценоза, которая иллюстрирует взаимоотношения описанных группировок почвенных микроорганизмов.

Приведенный материал позволяет заключить, что в определенных почвах те или иные микроорганизмы отличаются различной выживаемостью, что связано с сукцессией групп микроорганизмов при трансформации минеральных и органических веществ.

В последнее время начал разрабатываться вопрос об «экологической стратегии» микроорганизмов. В это понятие вкладывают установление совокупности приспособлений, обеспечивающих виду возможность обитать совместно с другими микроорганизмами и занимать определенное положение в соответствующем биоценозе.

Принцип выделения «стратегов» микроорганизмов основывается на анализе динамики популяции. Могут быть намечены следующие типы стратегов:

r-стратеги — популяции их подвержены резким колебаниям численности. В эту группу входят зимогенные микроорганизмы, размножение которых зависит от периодических поступлений в почву органических веществ;

K-стратеги — устойчивые равновесные популяции, стремящиеся сохранить высокий уровень популяционной плотности в имеющихся условиях. К этой группе могут быть отнесены автохтонные, олиготрофные и некоторые другие микроорганизмы, довольствующиеся более скромным запасом питательных веществ;

L-стратеги, популяции которых нередко находятся на грани вымирания, но сохраняются благодаря наличию спор.

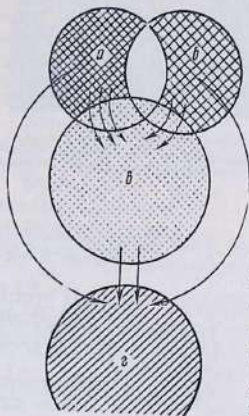


Рис. 61. Схема структуры микробного ценоза почвы:

a — зимогенная микрофлора; *б* — микрофлора, разлагающая гумус; *в* — олиготрофные микроорганизмы; *г* — хемоавтотрофы.

Описанная специфика живого микронаселения почвы подтверждает закон зональности В. В. Докучаева и делает возможной микробиологическую диагностику направленности почвообразовательного процесса, плодородия почвы и его изменения под влиянием деятельности человека.

Некоторые группировки микроорганизмов остаются довольно константными при антропогенном воздействии на почву. Они отражают тип почвообразовательного процесса и могут быть индикаторами, которые достаточно консервативны и хранят информацию о бывших состояниях факторов почвообразования. К таким сравнительно стабильным показателям относится соотношение основных групп микроорганизмов.

При окультуривании в микробном ценозе отмечаются существенные изменения. Увеличивается численность микробного населения, и в ценозе появляются организмы, свойственные более южной почвенной зоне. Об этом свидетельствует пример с целлюлозоразлагающими микроорганизмами, состав которых резко меняется при внесении удобрений (рис. 62).

Следовательно, микроорганизмы можно использовать для анализа типа и состояния почвы.

Глава 15

ВЛИЯНИЕ НА МИКРОНАСЕЛЕНИЕ ПОЧВЫ ЕЕ ОБРАБОТКИ И МЕЛИОРАЦИИ

Основной вид обработки почвы, влияющий на жизнедеятельность ее микрофлоры,— вспашка. Она должна создавать в почве благоприятные условия для протекания мобилизационных процессов, в результате которых накапливаются питательные вещества для растений.

В конце XIX — начале XX в. П. А. Костычев и другие ученые сформулировали теоретические положения, послужившие основой для разработки системы обработки почвы. Однако в то время некоторые существенные моменты, обосновывавшие обработку с оборотом пласта оставались невыясненными.

Наиболее четко основы теории механической обработки почвы были сформулированы академиком В. Р. Вильямсом. Он исходил из принципов микробиологического характера. Рекомендуя обязательный оборот пласта, Вильямс считал, что это необходимо не только

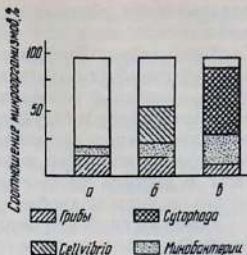


Рис. 62. Состав целлюлозоразлагающих микроорганизмов в различно удобренных дерново-подзолистых почвах ТСХА: а — контроль; б — минеральные удобрения; в — навоз.

для рыхления почвы и улучшения воздушно-водного режима пахотного слоя, но и для перемещения горизонтов пахотного слоя. Согласно теории Вильямса, распыленный и обедненный перегноем верхний горизонт пахотного слоя, сброшенный плугом на дно борозды, должен в условиях относительного анаэробнозиса восстановить плодородие и структуру почвы, так как недостаток кислорода подавляет минерализующую деятельность микроорганизмов и способствует накоплению перегноя, цементирующего почвенные агрегаты. В верхнем же слое почвы, лучше аэрируемом, гумус энергично разлагается микробами, и структура почвы ухудшается.

Значение глубокой вспашки с оборотом пласта признавали в прошлом многие видные ученые нашей страны (М. Г. Павлов, И. А. Стебут, А. В. Советов и др.).

В настоящее время допущение В. Р. Вильямса о более интенсивном синтезе перегноя в глубоких слоях почвы экспериментально не подтвердилось. Накопление перегноя больше всего происходит в микроаэрофильных условиях, свойственных верхнему слою почвы.

Существовали и другие точки зрения по этому вопросу. Так, еще в 1892 г. П. А. Костычев опубликовал работу, в которой сообщил, что на юге России при засухе мелкая вспашка способствует сохранению влаги в основной массе почвы и увеличивает урожай. Навоз он рекомендовал разбрасывать по поверхности почвы.

В самом конце XIX столетия русский агроном И. Е. Овсинский также выдвинул предположение о положительном значении мелкой безотвальной вспашки (на глубину 5 см). Он считал, что почва, как правило, пронизана корнями растений, ходами дождевых червей и трещинами. При мелкой обработке отмеченные пористые пространства вполне обеспечивают проникновение вглубь корневой системы растений. Овсинский считал, что его система создает условия, близкие к природным, когда корневая система разлагается в почве, а надземные части растений — в ее поверхностном слое. Для проведения мелкой безотвальной обработки Овсинский сконструировал специальный культиватор.

Проверка выводов И. Е. Овсинского на нескольких опытных станциях не дала ожидаемых результатов. Поля сильно зарастали сорняками. Позднее, однако, выяснилось, что не все рекомендации Овсинского были учтены во время постановки опытов. Это привело к обильному росту сорняков, так как гербициды тогда не применяли.

Следует отметить мнение Д. И. Менделеева, который писал об ошибочности положения о том, что чем большее число раз вспахивать почву, тем лучше.

В 30-х годах известный советский ученый академик Н. М. Тулайков показал, что мелкая вспашка на глубину 10—13 см в засушливых областях дает хороший результат.

В 40-х годах появились работы американских исследователей об успешном применении в течение многих лет в засушливых районах США и Канады безотвальной мелкой обработки почвы для предотвращения эрозии. Оставление пожнивных остатков на поверхности

полей значительно уменьшало водную и ветровую эрозию, испарение воды из почвы и ее сток с полей.

В СССР в последнее время широкое внимание агрономической общественности привлекли работы Т. С. Мальцева, предложившего проводить глубокое рыхление (на 40—50 см) без перемещения горизонтов пахотного слоя. Для такой обработки используют специальный безотвальный плуг. По мнению Мальцева, ежегодная вспашка почвы с оборотом пахотного слоя ухудшает ее структуру. При вспашке по его методу растительные остатки попадают в пахотный слой, не подвергающийся сильной эрозии, и поэтому лучше гумифицируются, оструктуривая почву. Глубокую безотвальную обработку почвы Т. С. Мальцев рекомендует проводить один раз в 5—6 лет, а в промежутке — безотвальное лушение почвы.

Коллектив ученых Всесоюзного научно-исследовательского института зернового хозяйства разработал для целинных и залежных земель вариант почвозащитной системы земледелия, в основе которой лежит замена вспашки плоскорезной обработкой, обеспечивающей сохранность на поверхности полей стерни. Мульча из пожнивных остатков защищает почву от ветровой эрозии и обеспечивает аккумуляцию осенних и зимних осадков, а также предохраняет почвенную влагу от испарения (А. И. Бараев).

Следует отметить разницу между обработками почвы по Мальцеву и Бараеву. В первом случае — стремятся стерню смять и хорошо перемешать с верхним слоем почвы, во втором — стерню предпочитают сохранить не только на зиму, но и на лето для борьбы с ветровой эрозией.

В ряде районов США, страдающих от ветровой эрозии, используется «нулевая» или «химическая» вспашка, когда высокоэффективными гербицидами подавляют сорняки, а посев делают по стерне. Обычно при этом применяют гербициды сплошного действия — дикват и паракват, использование которых запрещено в СССР из-за их высокой токсичности.

Таким образом, существуют разные подходы к решению вопроса о принципах обработки почвы. Обоснование их связано с почвенными микробиологическими процессами.

Переходя к анализу воздействия разных приемов обработки почвы на ее микрофлору, отметим прежде всего, что в настоящее время можно считать установленной биологическую разнокачественность пахотного слоя, которая выражается в общей тенденции постепенного снижения численности микроорганизмов по мере углубления в почву.

Снижение биологической активности в более глубоких горизонтах пахотного слоя проследим в двух почвах, достаточно окультуренных, но расположенных в разных зонах. Одна из них — дерново-подзолистая почва опытного поля ТСХА (под Москвой), другая — чернозем НИИ сельского хозяйства Центрально-черноземной полосы (Воронежская область). Первая почва была занята овсом, вторая яровой пшеницей. Анализ проводили в раннелетний период, когда почвы были достаточно увлажнены.

12. Распределение микроорганизмов в пахотном слое почвы, тыс/г

Слой почвы, см	Аэробные и факультативно-аэробные бактерии	Анаэробные бактерии	Нитрификаторы	Актиномицеты	Грибы
<i>Дерново-подзолистая почва</i>					
0—5	5700	270	1000	640	53
10—15	4400	230	1000	420	41
15—20	2700	180	100	250	20
<i>Чернозем обыкновенный</i>					
0—5	6300	310	10000	1950	48
10—20	5700	240	10000	2020	43
20—30	4800	180	1000	1860	41

Как видно из данных таблицы 12, по мере углубления в почву численность практически всех групп микроорганизмов снижается. При этом химический состав почв в пределах пахотного слоя практически тождествен. Снижение численности микронаселения с глубиной может быть следствием ухудшения воздушного режима и накопления каких-то токсических веществ в нижней толще почвы, очевидно продуктов неполного распада растительных остатков.

В зоне достаточного увлажнения, в частности в дерново-подзолистых почвах, верхний горизонт пахотной почвы остается более богатым микроорганизмами в течение всего вегетационного периода. В черноземах же, как и во всех неорошаемых почвах юга, часто отмечается иная картина. Такие почвы находятся в зоне недостаточного увлажнения, и летом их верхние слои обычно подсыхают, поэтому количество микроорганизмов в них заметно уменьшается.

Снижение микробиологической активности по мере углубления в почву подтверждается и таким суммарным показателем, как «дыхание» почвы, то есть выделение углекислого газа, являющегося продуктом жизнедеятельности микроорганизмов. Самый активный по энергии дыхания — верхний слой почвы. В таблице 13 показано

13. Активность дыхания отдельных горизонтов обработанного чернозема Каменной степи Воронежской области, % CO₂ в воздухе (по И. С. Вострову)

Обработка почвы	Почвенный слой, см		
	0—10	10—20	30—40
<i>Пар</i>			
Обычная вспашка	2,1	0,6	0,6
Глубокая безотвальная обработка	4,3	0,7	0,4
<i>Яровая пшеница по пару</i>			
Обычная вспашка	1,8	0,5	0,2
Глубокая безотвальная обработка	1,6	0,7	0,5

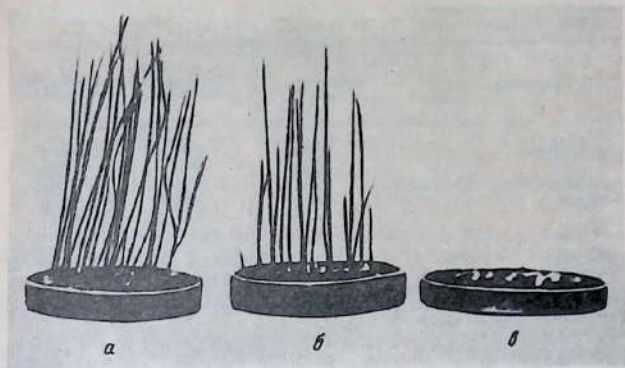


Рис. 63. Рост пшеницы на черноземной почве, взятой из различных горизонтов пахотного слоя:
а — 0—10 см; *б* — 10—20 см; *в* — 20—30 см (по И. С. Вострову).

обогащение замкнутого пространства углекислым газом, выделенным почвой, взятой из разных горизонтов пахотного слоя в течение суток (в колбы вместимостью 250 мл помещали 100 г почвы).

Данные таблицы свидетельствуют о том, что лучше аэрируемая парующая почва «дышит» энергичнее, чем занятая растительностью. Верхний слой парующей почвы при безотвальной обработке выделяет больше CO_2 , чем при вспашке. Это объясняется тем, что при безотвальной обработке основная масса растительных остатков находится наверху.

Весьма показательна аппликационная проба. На заложенном вертикально в почву полотне отчетливо выявляется зона максимальной активности. При нормальном увлажнении почвы эта зона расположена в верхнем горизонте пахотного слоя.

Почвы из глубоких горизонтов пахотного слоя, химически ничем не отличаясь от почвы из высоколежащего горизонта, неблагоприятно действуют на растение. Если чашки Петри наполнить почвой из разных горизонтов окультуренного чернозема и посеять в нее семена растений, то прорастание семян и развитие растений лучше всего происходит в почве из горизонта 0—10 см, хуже — из горизонта 15—25 см и совсем плохо в почве из горизонта 30—40 см (подпахотного). Это хорошо видно на рисунке 63.

Такой же эффект наблюдается и в условиях вегетационного опыта. Сосуды, вмещающие 8 кг почвы, были наполнены черноземом обыкновенным из Каменной степи Воронежской области, взятым с разной глубины. В почву был посеян овес. Как видно из данных таблицы 14, слой почвы 0—10 см из-под пшеницы дал значительно больший урожай, чем слой 20—30 см. Эти образцы почвы разли-

14. Масса растений овса, выросшего на почве разных горизонтов пахотного слоя чернозема обыкновенного, г/сосуд (по И. С. Вострову)

Почва	Слой почвы, см	Обычная вспашка	Безотвальная обработка
Из-под пшеницы	0—10	26,9	29,5
	20—30	17,8	13,8
Из-под вспаханного пара с оборотом пласта	0—10	25,1	27,8
	20—30	28,6	24,6

чались лишь по богатству микроорганизмами, а химический состав их был одинаков. Следовательно, можно сделать вывод, что плодородие почвы определяется не только ее химическим составом, но и деятельностью микроорганизмов.

Разные слои пахотной почвы, вспаханной с оборотом пласта, не отличались по плодородию. Верхний горизонт, перемещенный вниз, сохранил высокое плодородие, а в нижнем (ставшем верхним), при улучшении аэриоза, активизировались мобилизационные микробиологические процессы, и его плодородие существенно повысилось.

Наблюдения показывают, что отдельные горизонты пахотного слоя сохраняют свои особенности 1—1,5 месяца после вспашки. Позднее верхний слой обогащается микробами, а в нижнем — активность микроорганизмов подавляется.

Таким образом, в нижнем горизонте пахотного слоя происходит аккумуляция потенциального плодородия, которое переходит в плодородие эффективное при активизации деятельности микроорганизмов.

Накопление в нижних слоях почвы резерва плодородия подтверждается опытом, проведенным на хорошо окультуренной, дерново-подзолистой почве ТСХА Л. Н. Барсуковым, Е. Н. Мишустиным. На небольших делянках (20 м²) 5-сантиметровые слои почвы были сняты и затем перемещены так, как это происходит при разных приемах обработки. Разное расположение слоев существенно сказалось на урожае посеянного на делянке овса. При пересчете урожая на 1 га получили следующие данные:

Прием обработки	Урожайность овса, ц/га
Поверхностное рыхление слоя 0—5 см	11,9
Рыхление всех слоев и расположение их без оборота пласта	17,8
Рыхление всех слоев и перемещение их в обратном порядке	30,6
Смешивание всех слоев (имитация вспашки)	30,2

Эффект оборота пахотного слоя объясняется, вероятно, тем, что подвижные органические вещества, аккумулярованные в нижнем горизонте, при перемешивании и попадании вверх в условиях луч-

15. Относительное количество бактерий (учет на мясо-пептонном агаре) при разной обработке почвы

Слой почвы, см	Поверхностное рыхление слоя 0—5 см	Послойное рыхление на 20 см		Вспашка на 20 см
		без оборота пласта	с оборотом пласта	
0—5	100	98,8	146,1	128,8
10—15	71,2	74,6	131,5	102,4
15—20	34,6	57,6	100,4	71,2

Примечание. За 100% взяты показатели для слоя 0—5 см при поверхностном рыхлении.

шего аэробноза быстро подвергаются минерализации и повышают плодородие почвы.

Верхний слой почвы, наиболее биологически активный, постепенно делается менее плодородным. Это, в частности, отмечается в опытах, проведенных под руководством А. И. Бараева.

В приведенном опыте оборот пласта обеспечил более энергичное протекание микробиологических процессов, что сказалось на урожае (табл. 15).

Следовательно, оборот пахотного слоя может дать значительный эффект. Однако вопрос о том, как часто целесообразно его делать, остается открытым. Это зависит от многих условий (системы земледелия, почвенно-климатических условий и т. д.).

Разная обработка почвы оказывает большое влияние на формирование типа корневой системы сельскохозяйственных культур. Основная масса вторичных корней образуется в зоне запаханых растительных остатков. Поэтому при безотвальной обработке разветвленная корневая система находится в верхнем слое почвы, а при вспашке она размещается более глубоко (рис. 64). Первый тип корневой системы менее устойчив к засухе, чем второй. Поэтому безотвальная обработка почвы без обеспечения влагонакопления может дать хорошие результаты только в зоне с достаточным увлажнением. В условиях засушливого климата ее надо сочетать с приемами по задержанию влаги.

Вопросы обработки почвы должны решаться по-разному в конкретных почвенно-климатических условиях и даже в одной и той же зоне при различном использовании земли.

В Курганской области Т. С. Мальцев (колхоз «Заветы Ильича») на черноземах обыкновенных регулярно получает более высокие урожаи пшеницы при безотвальной обработке почвы.

Во Всесоюзном НИИ зернового хозяйства в Казахстане безотвальная обработка почвы дает хорошие результаты. Аналогичные данные получены во многих исследовательских учреждениях, в разных почвенно-климатических условиях.

Вместе с тем отмечены и неудачи при использовании безотвальной обработки почвы. Так, в опытах И. В. Матышука на каштановых почвах Целиноградской области в совхозе «Комсомольский» при глубокой безотвальной обработке в засушливый год урожайность яровой пшеницы получена в 2 раза ниже, чем при обычной вспашке. Это объясняется тем, что образовалась поверхност-

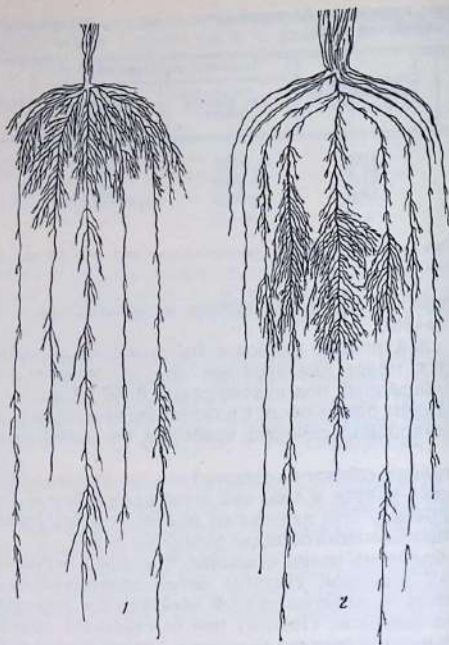


Рис. 64. Структура корневой системы пшеницы на различно обработанной черноземной почве:

1 — безотвальная обработка на глубину 35—40 см; 2 — вспашка на глубину 23 см (по И. В. Матышуку).

ная корневая система, неустойчивая к засухе, а мероприятия по влагонакоплению в данном опыте не были проведены.

В ряде случаев вспашка (даже глубокая) бывает несомненно полезна. Так, в 50-е годы И. Н. Антипов-Каратаев и Л. П. Белякова предложили глубокую заделку (на 45 см) люцернового пласта перед посевом хлопчатника. При глубокой заделке люцерны она медленно разлагается и более длительное время положительно действует на хлопчатник.

В последнее время академик АН Узбекской ССР М. В. Мухамеджанов провел основательные работы, подтвердившие благоприятное влияние глубокой заделки люцернового пласта в хлопково-люцерновом севообороте на плодородие почвы. Им разработана система рационального земледелия в зоне сероземных почв.

На поливных сероземных почвах, по данным Е. Г. Петрова, безотвальная обработка как целины, так и старопахотной почвы обычно снижает урожай хлопчатника на 2—4 ц/га при средней урожайности около 20 ц/га.

Следует отметить особенности структуры пахотного слоя затопляемых почв рисовых полей. В данном случае условия относительного аэробноза создаются лишь в самом поверхностном слое — до 5—7 см. Здесь развивается в основном

корневая система риса, и сосредоточивается основная масса микроорганизмов. Очевидно при этом целесообразна мелкая обработка почвы.

Л. Н. Барсуков, М. Г. Чижевский, В. В. Квасников и другие ученые, изучавшие обработку почвы, рекомендовали чередовать вспашку дерново-подзолистых и черноземных почв с мелкими безотвальными обработками.

В. Гриценко и другие ученые ТСХА недавно опубликовали данные, показавшие, что полная замена вспашки дерново-подзолистой почвы с оборотом пласта на безотвальное рыхление задерживает ее окультуривание и даже приводит к снижению плодородия, а следовательно, и урожая. Необходимо вспашку рационально сочетать с безотвальной обработкой.

Огромное значение в повышении плодородия почв имеют мелиоративные мероприятия. К ним относятся орошение почв в зонах недостаточного увлажнения, осушение избыточно увлажненных почв, внесение в кислые и щелочные почвы соединений, нормализующих реакцию среды, удаление из почвы избыточных солей и т. д.

В нашей стране последовательно осуществляется Долговременная программа мелиорации земель. На XXVII съезде КПСС поставлена задача продолжить реализацию этой программы. Комплексно решать вопросы мелиорации земель и их сельскохозяйственного освоения. Повысить эффективность использования орошаемых и осушенных земель, добиваться получения на этих землях проектной урожайности.

История агрономии не знает таких темпов почвенно-мелиоративных работ, какие были осуществлены в нашей стране. Созданы новые ирригационно-мелиоративные системы на юге и юго-востоке СССР, функционируют новые рисовые оросительные системы, в больших объемах проводится известкование кислых почв Нечерноземной зоны и т. д. Мелиорированные земли дают значительную часть продукции земледелия.

Рассмотрим влияние орошения на микрофлору почвы. В зонах недостаточного увлажнения при дефиците влаги микробиологические процессы приостанавливаются и большая часть микроорганизмов переносит засуху в анабиотическом состоянии. Увлажнение почвы активизирует микрофлору, что приводит к лучшему накоплению питательных веществ для растений и способствует их росту.

Полив должен быть строго нормирован. Избыточное увлажнение почвы приводит к нежелательным явлениям, снижающим плодородие (вторичное засоление, ухудшение структуры почвы и т. д.).

Осушение переувлажненных почв весьма благоприятно сказывается на составе микрофлоры, в частности, это относится к вводимым в культуру торфяникам.

В мелиорированных торфяниках обычно происходит избыточное накопление доступных растениям форм азота (аммиака и нитратов). Часть нитратов поступает в дренажные воды и теряется для урожая. Поэтому следует учитывать возможные изменения микробиологических процессов при мелиорации и регулировать их доступными приемами (глубиной дренажной системы, спуском из нее воды и т. д.).

К одному из методов предупреждения избыточной минерализации органических соединений торфяников относится насыпное пес-

кование, применяемое в некоторых странах Западной Европы. На поверхность торфа наносят 10—15 см песка, в дальнейшем механической обработке подвергается только песчаная насыпь. Это задерживает развитие в торфяной массе активных микробиологических процессов. Эксплуатация пескованных торфяников исчисляется иногда сотнями лет.

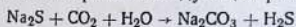
Для химической мелиорации кислых подзолистых и дерново-подзолистых почв широко применяют известкование. Применение извести устраняет вредную кислотность и уменьшает содержание в почве подвижного алюминия, токсичного для многих микроорганизмов и растений.

Внесение извести резко изменяет соотношение отдельных групп микроорганизмов почвы и активизирует деятельность некоторых их видов, имеющих важное значение для улучшения плодородия почвы (табл. 16).

Известь способствует образованию клубеньков у бобовых растений, особенно у люцерны и клевера. Лишь люпин в отличие от других бобовых культур предпочитает более кислую реакцию.

В южной зоне нашей страны большие площади заняты солонцовыми почвами. Для их сельскохозяйственного освоения проводят химическую мелиорацию, чаще всего гипсование. В результате этого приема натрий в почвенном поглощающем комплексе замещается на кальций, что заметно улучшает физические свойства почвы и нейтрализует ее реакцию (обычно щелочную). Состав почвенной микрофлоры нормализуется — угнетаются анаэробы, в частности редуцирующие сульфаты.

Бактерии, восстанавливающие сульфаты, образуют сульфиды, которые в рассматриваемых почвенных условиях (при наличии CO_2) превращаются в соду. Образование соды в результате редукции сульфатов можно изобразить следующей реакцией:



При внесении в почву гипса образуются труднорастворимый карбонат кальция, выпадающий в осадок, и сульфат натрия, который имеет нейтральную реакцию и может быть легко удален промывкой.

Огромное значение имеет вопрос о рекультивации почв, выведенных из сельскохозяйственного использования в связи с открытой

16. Изменение состава микрофлоры дерново-подзолистой почвы при известковании

Дата наблюдения	Вариант опыта	Число микроорганизмов, тыс. на 1 г почвы					
		бактерии всего	бациллы	актиномицеты	грибы	азотобактер	нитрификаторы
27/VI	Контроль	3900	770	160	67	0	1
	Известкование	6500	1600	250	10	2	5
10/VIII	Контроль	2900	880	200	130	0	1
	Известкование	15 500	2130	2200	50	15	10

разработкой полезных ископаемых. При рекультивации, когда удаётся поверхностный слой выровненной территории покрыть почвой, нормализация жизни почвенного слоя наступает весьма быстро. Наблюдения М. М. Голлербаха, Э. А. Штины показывают, что первоначально в заселении таких субстратов большое участие принимают цианобактерии, фиксирующие молекулярный азот. Им сопутствуют зеленые, желто-зеленые и диатомовые водоросли. Сопровождающая водоросли группировка бактерий представлена непорносными бактериями с преобладанием микобактерий. В более поздние сроки окультуривания субстрат обогащается бациллами и актиномицетами.

Глава 16

СИСТЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЧВЫ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОВЫШЕНИЯ ЕЕ ПЛОДОРОДИЯ

СЕВООБОРОТЫ И ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ

При сельскохозяйственном использовании почвы без удобрения она постепенно истощается и урожай падают. Это было отмечено еще в древности. Так, Тацит (I в. н. э.) писал, что германцы для посева растений каждый год меняют поля.

На юге России, в степной зоне, возникла «переложная» система, при которой более или менее тщательно обработанную целину несколько лет подряд засеивали пшеницей, рожью или овсом, а после истощения запускали в перелог (залежь).

В России существовала также «огневая», или «подсечная», система земледелия, которую применяли в более северной зоне. Поваленные летом деревья и кустарники осенью «теревили». Годную древесину вывозили, а оставшуюся на поле сжигали. После использования почву в течение ряда лет оставляли на «отдых» для восстановления плодородия.

При увеличении народонаселения потребность в земельной площади возросла, и возникла система «ускоренного» отдыха почвы в виде так называемой трехполки, при которой чередовались пар (залежь), озимые и яровые культуры. Эту систему широко применяли до начала XX в., когда постепенно стали внедрять более сложные севообороты, сохраняющие плодородие почвы.

После Великой Октябрьской социалистической революции на смену трехполью пришли травопольная и плодосменная системы, включавшие посев травосмесей. При травополье травами занимают до 30—40% почвы, при плодосмене — 20—25%. В каждой почвенно-климатической зоне требуется свое чередование культур.

Целесообразность и даже необходимость введения севооборотов возникла, когда было установлено неблагоприятное воздействие на

17. Влияние удобрения и севооборота на урожайность ржи и овса, ц/га

Удобрение	Рожь		Овес	
	бессменная	в севообороте	бессменный	в севообороте
—	6,7	13,4	7,1	13,2
НРК	10,6	20,5	10,1	17,8
Навоз	13,7	—	11,1	—

плодородие почвы длительного возделывания на поле одной и той же культуры. Ярким подтверждением этому служит опыт, заложенный Д. Н. Прянишниковым в ТСХА на дерново-подзолистых почвах. Средние урожай сельскохозяйственных культур, полученные спустя 50 лет после начала опыта, приведены в таблице 17. Совершенно очевидно, что в севообороте с клевером урожай были значительно лучшие, чем при бессменных культурах.

Аналогичные данные были получены в многолетнем опыте, проведенном на черноземе Мироновского института селекции и семеноводства пшеницы, где опыт также продолжался около 50 лет. Урожайность озимой пшеницы при бессменной культуре без удобрений составляла 20 ц/га, с внесением навоза — 26,9 ц/га; в севообороте — 35,5 и 54,4 ц/га соответственно.

Крестьяне вполне оценили значение чередования культур и не зря сложили поговорку: «Хлеб по хлебу сеять — ни молот, ни веять». Однако некоторые растения, например кукуруза и картофель, менее чувствительны к монокультуре. Иногда предшественник улучшает рост последующей культуры, что в значительной степени относится к бобовым культурам. Отмеченное явление, получившее в случае угнетения название «почвоутомления», известно давно. Еще в 1796 г. о нем писал Н. М. Максимович-Амбодик в работе «Первоначальные ботаники основания».

Как же предшественник может влиять на последующую культуру и какая роль принадлежит микробиологическому фактору? Здесь мы встречаемся с комплексом явлений. Некоторые растения односторонне обедняют почву отдельными элементами питания. Под пропашными культурами почва не только истощается, но и ее структура существенно ухудшается. Не рекомендуется возделывать друг за другом сельскохозяйственные растения, имеющие общих вредителей, в том числе микробиологических.

О том, что утомление почвы может быть вызвано микроорганизмами, свидетельствует опыт Н. А. Красильникова. В колбы с агаризованной минеральной питательной средой были внесены семена клевера. В часть колб поместили небольшое количество «утомленной» почвы. Это вызвало быструю гибель проростков под влиянием микроорганизмов. Та же почва, но простерилизованная, неблагоприятного эффекта не давала (табл. 18).

Токсические для растений вещества могут накопиться в почве многие микроорганизмы, развивающиеся в ризосфере растений и на

18. Влияние «клевероутомленной» почвы на прорастание семян клевера и развитие проростков

Вариант опыта	Число семян	Из них проросших	Число растений, сохранившихся через 10 дней
Контроль	51	45	45
Почва из севооборота	57	51	51
«Клевероутомленная» почва	54	11	0
То же, но простерилизованная	49	43	43

растительных остатках. Так, бактерии рода *Pseudomonas* образуют феназинкарбоновую кислоту, диацетилфлороглюцин и другие соединения, вредные для растений. Фитотоксины продуцируются многими почвенными грибами: *Aspergillus fumigatus* образует гельволевую кислоту, грибы рода *Penicillium* — патулин, *Trichoderma* — виридин и т. д. Поскольку каждому растению в почве сопутствует определенный ценоз микроорганизмов, то это может сказаться на накоплении определенных фитотоксических соединений. При монокультуре в почве часто накапливаются микроорганизмы — паразиты определенных растений.

Однако имеются и другие причины, определяющие влияние одного растения на другое, в частности химического характера. Это так называемое аллелопатическое действие растений. Термин «аллелопатия» был предложен немецким ученым Г. Молишем для определения химического воздействия одного растения на другое. Многие покрытосеменные растения способны вырабатывать те или иные токсические вещества, в том числе алкалоиды. Эти соединения не только аккумулируются в растительных тканях, но и частично выделяются в почву.

Отмеченное свойство присуще большинству культурных растений. Так, корневая система овса выделяет скополетин (вещество, близкое к кумарину), лен — ряд ароматических соединений (феруловую, гидроксибензойную кислоты и т. д.), люцерна — алкалоиды, сахарная свекла — циклические соединения (гидроксибензойную, кумаровую, феруловую, ванилиновую кислоты) и т. д.

Н. Г. Холодный, а затем другие исследователи установили, что аллелопатическое действие оказывают многие летучие соединения растений. Среди них имеются альдегиды, терпены, этилен, эфирные масла и т. д.

В пожнивных остатках культурных растений обнаружены некоторые вещества, токсически действующие на растения. В соломе злаковых растений к таким веществам относятся циклические соединения: кумаровая, гидроксибензойная, феруловая, сиреневая кислоты и др. Сильное аллелопатическое действие оказывают хиноны.

Г. Грюммер предложил называть вещества растительных организмов, оказывающие химическое воздействие на другие растения,

«колинами». В высоких концентрациях они угнетают рост растений, а в малых стимулируют.

Очевидно, научно обоснованное чередование культур должно строиться на учете аллелопатического фактора. Известно, что после сахарной свеклы плохо растет кукуруза, после овса резко падает всхожесть семян пшеницы, при вторичном посеве ячменя резко снижается его урожайность. Острое утомление почвы наблюдается при монокультуре сахарной свеклы, льна, гороха, клевера, люцерны многих плодовых растений. Однако кукуруза, картофель, рожь, табак, виноград и некоторые овощи не испытывают угнетения в монокультуре.

Благоприятное влияние на последующие культуры, как правило, оказывают бобовые (особенно многолетние) растения в связи с тем, что они в симбиозе с клубеньковыми бактериями обогащают почву азотом. Это приводит к значительному повышению урожайности последующих культур. По данным Д. Н. Прянишникова, после того как в Европе были введены плодосменные севообороты с посевом клевера, средняя урожайность зерновых культур поднялась с 7 до 16 ц с 1 га. В ТСХА на дерново-подзолистой почве шестипольный севооборот с клевером однолетнего пользования позволил на протяжении 50 лет собирать урожай ржи 13,4 ц/га (без внесения минеральных удобрений). В том же севообороте, но без клевера было получено лишь 6,7 ц/га.

На черноземе Воронежской области в четырехпольном севообороте без бобовых растений и удобрения озимая пшеница давала около 20 ц/га. При использовании в севообороте однолетнего клевера урожайность повышалась до 25, а двухлетнего клевера — до 28 ц/га. Такие урожаи устойчиво держались на протяжении 17 лет.

Общезвестна высокая эффективность как предшественников хлопчатника люцерны и рапса. В значительной мере это связано с тем, что корневая система этих растений выделяет в почву соединения (алкалоиды и другие вещества), угнетающие возбудителей вилта хлопчатника. Помимо этого, люцерна обогащает почву азотом.

Большая эффективность бобовых культур как предшественников сельскохозяйственных растений показана и зарубежными опытными учреждениями. В таблице 19 приведены данные Ротамстедской

19. Сопоставление люцерны и однолетних злаков (райграса) в качестве предшественников озимой пшеницы

Доза внесения азота под пшеницу, кг/га	Урожайность пшеницы (ц/га) по предшественнику:		Прибавка урожая по предшественнику люцерны
	люцерна	злаки	
0	56,9	35,3	+21,6
50,0	68,8	49,1	+19,7
100,4	70,0	60,5	+9,5
150,6	68,8	65,0	+3,8

опытной станции (Англия), наглядно свидетельствующие об этом.

На основании экспериментальных данных Д. Н. Прянишников сделал вывод о значительно большей ценности в качестве предшественников бобовых трав чистого посева по сравнению с их смесями со злаковыми травами.

В заключение отметим, что в середине XIX в., когда после работ немецкого ученого Ю. Либиха стали широко использовать минеральные удобрения, нередко не принимали во внимание значение севооборотов. Сначала урожай резко возрастал, но вскоре начинали снижаться даже при увеличении норм удобрений. Оправдалась точка зрения профессора Московского университета Я. А. Ливинского, который указывал, что при решении вопросов плодородия почв следует учитывать не только минеральное питание растений, но и другие факторы, в том числе севооборот.

БИОЛОГИЧЕСКИЙ АЗОТ В ЗЕМЛЕДЕЛИИ

Практически во всех почвах при их сельскохозяйственном использовании азот находится в первом минимуме. Поэтому при разработке мероприятий по повышению урожайности сельскохозяйственных культур прежде всего возникает проблема устранения азотного дефицита.

При этом один из наиболее эффективных способов — использование азота минеральных удобрений («технического азота»), в связи с чем производство азотных удобрений во всем мире растет значительно быстрее производства других видов удобрений.

Азот требуется растениям в довольно больших количествах. Можно считать, что для получения 1 ц зерна злаковых культур необходимо около 4,2 кг азота. Из них в зерне содержится 2,5 кг; в соломе — 0,7; в корневых и пожнивных остатках — 0,8 кг. Коэффициент использования азотных удобрений в практических условиях не превышает 40—45%. Поэтому если покрывать потребности растений в азоте только минеральными удобрениями, то для получения урожая зерновых культур 21 ц/га, нужно вносить в почву 220 кг азота на 1 га.

Сейчас в среднем под зерновые дают 30 кг азота на 1 га в форме азотных удобрений. Существен вклад азота в почву в форме органических удобрений и «биологического» азота. Конечно, следует стремиться увеличить дозировки минеральных азотных удобрений как эффективно и быстродействующих. Однако целесообразно также большее внимание уделять органическим удобрениям и биологическому азоту, что обеспечит накопление гумуса и повышение потенциального плодородия почв. Сочетание форм азотных удобрений должно строиться так, чтобы баланс азота был положительным и повышал почвенное плодородие (см. главу 17).

Возможно, более широкое использование биологического азота стало особенно актуальным в последнее время в связи с необходимостью рационального расходования энергии. Химический синтез азотных удобрений — энергоемкий процесс, на который затрачива-

ется до 25—30% энергии, используемой на сельскохозяйственное производство.

Д. Н. Прянишников в своем классическом труде «Азот в жизни растений и земледелии СССР» (1952) писал, что вопрос об азоте в сельском хозяйстве нашей страны целесообразно решать не только с помощью минеральных удобрений, но и необходимо более широко использовать «биологический» азот. Как было отмечено в главе II в почве находится две группы микроорганизмов, связывающих молекулярный азот. Одна из них живет в симбиозе с высшими растениями, образуя клубеньки на их корнях, другая обитает независимо от растений в почве. На эффективности симбиотических азотфиксаторов (бобовых культур) остановимся подробнее.

Благотворное влияние бобовых растений на плодородие почвы известно с античных времен. Свидетельством тому служат высказывания древнегреческого естествоиспытателя и философа Теофраста (372—287 гг. до н. э.), римлян Катона Старшего (234—149 гг. до н. э.), Варрона (116—27 гг. до н. э.) и др. В частности, Варрон писал, что бобовые растения надо сеять, особенно на легких почвах, не столько ради их урожая, сколько ради той пользы, которую получают последующие культуры.

В конце XVIII в. австрийский монарх Иосиф II возвел в дворянское достоинство агронома И. Шубарта, который ввел в культуру клевер, что способствовало резкому повышению урожаев других сельскохозяйственных культур. Берлинская академия наук удостоила Шубарта премии за сочинение о развитии кормовых трав.

В прошлом веке в Германии прославился Г. Шульце, окультуривший вересковые пустоши, использовав люпин как зеленое удобрение. На песчаных почвах при предшествующей культуре люпина урожай картофеля увеличивался с 8 до 20 т/га при одновременном обогащении почвы азотом.

Клевер — первая бобовая культура в России. Он был ввезен в 1776 г. из Англии, где культивировался в садах. Уже тогда первый русский ученый агроном А. Т. Болотов выдвинул и пропагандировал идею использования клевера как корма.

И. И. Самарин в 20-х годах прошлого столетия ввел в России клеверосеяние, причем на значительных площадях, и создал ценный сорт Каницевский, на основе которого был впоследствии выведен сорт Московский.

Позднее пропагандистами клеверосеяния стали земские агрономы. К. А. Тимирязев в своей лекции «Источники азота растений» (1840) упоминает имена А. А. Зубрилина и В. Г. Бажаева. К концу XIX — началу XX в. клевер уже широко культивировался в нашей стране. Перед первой мировой войной Россия экспортировала 500 тыс. пудов семян клевера. Довольно широко стали использовать и другие бобовые культуры.

После Великой Октябрьской социалистической революции В. И. Ленин обратился к известному селекционеру П. И. Лисицину с просьбой подготовить материалы для специального документа по введению в севообороты бобовых культур. Этот документ был опубли-

ликован в 1921 г. В нем были установлены льготы для сельских хозяйств, разводящих семена кормовых трав и сдающих эти семена Народному комиссариату земледелия, а также отмечено особо важное значение бобовых культур.

В настоящее время установлено, что не все бобовые растения в равной мере обогащают почву азотом. По данному признаку одно- и многолетние бобовые растения существенно различаются. Это объясняется тем, что усвоенный из атмосферы азот неодинаково распределяется у них по отдельным органам. У многолетних бобовых культур значительная часть фиксированного азота остается в корнях, а у однолетних к моменту созревания практически весь ассимилированный азот переходит в надземную часть.

Бобовые растения не только обогащают почву азотом, но и дают продукцию, богатую белком, азот которого в основном получен из молекулярного азота воздуха. Поэтому при учете объема азотонакопления бобовыми растениями следует принимать во внимание не только азот, оставляемый ими в поле, но и азот, находящийся в белке урожая. Решение вопроса о пищевом и кормовом белке рациональнее всего связывать с более широким использованием бобовых растений, весьма богатых белком. У зерновых культур содержание белка не превышает обычно 15%. Зерно гороха имеет около 25% белка, люпина — до 40, в соевых бобах его содержится до 45—50%. Весьма существенно также, что сено бобовых растений богато белком (до 20%), в то время как сено злаков содержит его в 2,5 раза меньше.

Кроме того, бобовые культуры по сравнению со злаковыми дают белковую продукцию, более богатую такими ценными аминокислотами, как лизин, метионин, цистин и триптофан.

Неудивительно, что в странах с большой территорией сельскохозяйственного использования, например в США, под бобовые культуры отводится значительная земельная площадь (около 26%). В СССР намечено расширить посевы бобовых культур и повысить их урожайность. Особое внимание уделяется повышению валового сбора зернобобовых культур.

Возникает вопрос, сколько азота в настоящее время накапливают бобовые растения в почве и в урожае? В почве азот остается в виде пожнивных и корневых остатков бобовых растений. Величина массы растительных остатков, запахиваемых в почву после уборки урожая, довольно точно определена большой серией исследований. Абсолютная и относительная масса растительных остатков меняется в зависимости от величины урожая. У многолетних травянистых бобовых растений при урожае сухого вещества 10—30 ц/га масса пожнивных остатков в 2 раза больше массы сена, у однолетних бобовых растений она составляет 20—35% массы надземной части. Лишь у люпина и кормовых бобов масса растительных остатков равна примерно 50% массы надземной части, убираемой с урожаем.

Бобовые растения часть азота берут из минеральных соединений почвы, а часть связывают из молекулярного азота атмосферы.

Последний процесс неодинаково энергично осуществляют различные растения, но для усредненных расчетов можно считать, что 2/3 накапливаемого ими азота фиксируется из воздуха.

Примерные подсчеты показывают, что в пахотные почвы СССР из растительных остатков бобовых растений поступает около 0,9 млн. т фиксированного азота и около 1,1 млн. т имеется в урожае (зерно, сено, солома).

Расчет фиксированного азота, поступающего в почву с растительными остатками, основан на анализе содержания азота в них. Этот показатель должен быть увеличен по крайней мере на 30%, так как часть азота поступает в почву с корневым опадом и экзосмосом. Это обычно не учитывается. Поэтому можно считать, что бобовые культуры обогащают пахотные почвы примерно 1,2 млн. т азота, но возможно и более (Е. П. Трепачев).

Нельзя не учитывать того, что азот кормов частично возвращается в почву в виде навоза (до 40—50%). Доля бобовых культур в азоте навоза равна примерно 20%. С навозом и экскрементами животных сельскохозяйственные угодья нашей страны получают около 4,6 млн. т азота, следовательно, около 0,9 млн. т из этого количества приходится на азот бобовых растений. Таким образом, от бобовых культур пахотные почвы ежегодно получают около 2 млн. т азота.

Азот остатков бобовых растений примерно на 25% используется следующей культурой и на 15% двумя последующими культурами. Остальная часть трансформируется в гумусовые соединения и служит фондом для повышения потенциального плодородия почвы, а также частично теряется из почвы в результате денитрификации и вымывания.

В дальнейшем при росте урожайности бобовых культур и увеличении площадей, занятых ими, размер биологического азотонакопления может возрасти. Вклад по существу дарового «биологического» азота целесообразно максимально использовать для нужд земледелия.

Продуктивное накопление азота бобовыми культурами требует создания комплекса условий для эффективного симбиоза их с клубеньковыми бактериями. Большое значение для накопления азота имеет обеспеченность почвы влагой, наличие в ней доступных форм фосфора, калия и кальция. Большинство бобовых культур предпо-

20. Влияние молибдена на урожай злаково-бобовой смеси, т зеленой массы на 1 га (по Э. А. Муравину)

Вариант опыта	Горохово-овсяная смесь		Бобово-злаковые многолетние травы	
	общий урожай	в том числе бобовых	общий урожай	в том числе бобовых
Контроль	12,8	5,2	19,1	12,0
Молибден, 25 г/га	17,6	11,2	24,8	18,3

читает нейтральные почвы и лишь некоторые из них (люпин) — более кислые.

Весьма эффективно на азотонакопление действуют и микроэлементы, особенно молибден, входящий в ферментативный комплекс нитрогеназы (табл. 20).

Бобовые культуры хорошо реагируют на органические удобрения и даже на внесение свежей соломы (рис. 65). Эффективное действие соломы как удобрения в значительной степени определяется тем, что при ее разложении выделяется углекислота, повышение содержания которой в приземном слое воздуха усиливает рост растений и повышает их продуктивность.

Еще не совсем решен вопрос о целесообразности внесения под бобовые культуры минеральных азотных удобрений. Нередко отмечается, что небольшие «стартовые» дозы минерального азота положительно влияют на развитие и урожай бобовых растений, особенно однолетних. Это относится, как правило, к почвам, недостаточно обеспеченным азотом в первые фазы развития посевов.

Повышенные дозы минерального азота подавляют инфекционный процесс формирования клубеньков, а в конечном итоге фикса-



Рис. 65. Влияние соломистого удобрения на урожай люпина (песчаная культура): 1 — контроль; 2 — измельченная солома из расчета 5 т/га внесена в слой 0—10 см; 3 — то же внесена на всю глубину сосуда.

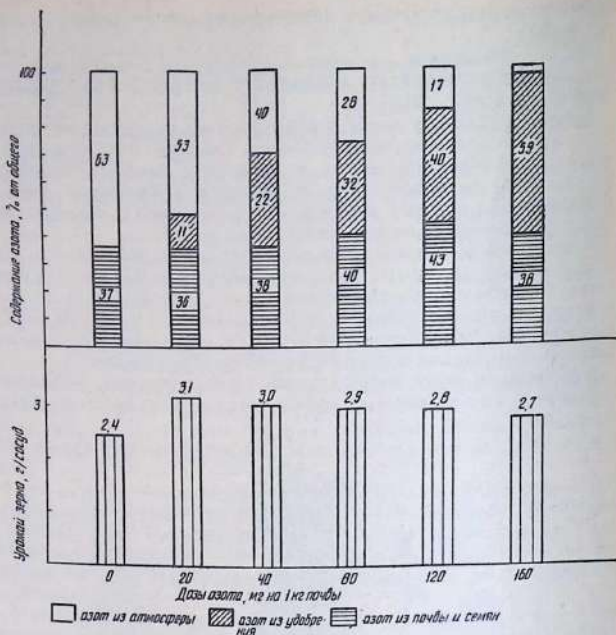


Рис. 66. Влияние минерального азота (NaNO_3) на продуктивность и азотфиксирующую способность гороха в вегетационном опыте (по Л. Ю. Верниченко).

цию молекулярного азота. Данные, полученные в исследованиях, позволяют заключить, что если в почве созданы хорошие условия для симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями, то даже высокие дозы азотных удобрений не повышают урожая и депрессируют связывание газообразного азота (рис. 66).

В таблице 21 приведены результаты полевых опытов по влиянию азотных удобрений на бобовые культуры при оптимальных условиях для их симбиоза с клубеньковыми бактериями на дерново-подзолистых почвах.

Как видно из приведенных материалов, козлец резко реагировал на внесение азотных удобрений, бобовые же культуры — очень слабо, но они сильно редуцировали процесс азотфиксации.

В случае удобрения разнотравья валовой урожай существенно увеличивается, но за счет небобового компонента бобовые растения угнетаются.

21. Действие азотных удобрений на урожай сена многолетних трав и азотфиксацию бобовыми культурами (по Е. П. Трепачеву)

Вариант опыта	Урожай сена, ц/га			Азот, кг/га			
	кострец	клевер	люцерна	общий	фиксированный	общий	фиксированный
				клевер		люцерна	
Фон	34,4	77,7	84,8	218,4	175,8	276,0	233,5
N ₃₀	46,1	76,5	84,0	239,4	181,5	276,1	223,1
N ₆₀	64,9	76,9	94,9	219,2	138,2	281,0	244,1
N ₉₀	75,0	79,6	98,0	222,6	107,4	325,5	209,3
N ₁₂₀	88,1	74,1	92,0	221,9	70,2	324,5	157,3
N ₁₈₀	113,2	77,5	94,0	205,0	—	309,0	88,7

Примечание. Данные для 2-го года использования трав.

Искусственное заражение бобовых культурами клубеньковых бактерий усиливает образование клубеньков и процесс фиксации азота.

В главе 11 было отмечено, что не только бобовые, но и другие высшие растения в симбиозе с микроорганизмами способны фиксировать молекулярный азот. Лучше изучены некоторые древесные растения (ольха и казуарина), на корневой системе которых клубеньки образует азотфиксирующий актиномицет из рода *Frankia*. В зависимости от возраста и состояния этих растений на 1 га связывается от 70 до 350 кг молекулярного азота.

Небобовые растения, симбиотически фиксирующие молекулярный азот, стали использовать в целях повышения плодородия почвы задолго до выяснения причины их полезного действия. Так, ольху применяют в течение многих веков для улучшения почвы, борьбы с эрозией почв и рекультивации земель в Англии, Китае и в ряде стран Американского континента.

В СССР произрастают черная и серая ольха, которые имеют большое значение как быстрорастущие деревья в условиях, неблагоприятных для других древесных пород. Черноольховые насаждения — продуценты ценного материала для различных отраслей деревообрабатывающей промышленности, их выращивают во многих местах при освоении болотных почв.

В США ценится красная ольха, а также лох. Во многих странах тропического и субтропического пояса культивируют казуарину (несколько видов) как древесную породу, дающую высококачественное топливо. Это растение обладает быстрым ростом и обогащает почву азотом.

Сейчас для инокуляции ольхи и казуарины начинают применять чистые культуры *Frankia*.

Рассмотрим вопрос о роли свободноживущих микроорганизмов в азотном балансе почв. До последнего времени считали, что деятельность этих микроорганизмов не имеет существенного значения в азотном питании растений. Однако длительные опыты опровергают эту точку зрения. Так, показано, что без применения азотных удобрений и без посева бобовых растений можно получить урожай

зерновых культур, для создания которых требуется внесение до 50 кг азота на 1 га. При этом к возможным источникам пополнения азота относятся деятельность свободноживущих азотфиксаторов и отчасти поступления этого элемента из атмосферы с дождевыми водами. Последний источник дает, однако, лишь несколько килограммов азота на 1 га в год.

По материалам многолетнего опыта ТСХА, на делянках бессменной ржи ежегодное азотонакопление при известковании почвы составляло 28 кг/га, а на неизвесткованном фоне, где условия для азотфиксаторов были хуже, — в 2,5 раза меньше.

По данным академика ВАСХНИЛ И. С. Шатилова, в удобряемых дерново-подзолистых почвах в год связывается 19 кг азота, а в удобряемых — 32—37 кг/га. Работой М. М. Умарова показано, что за вегетационный период на дерново-подзолистых почвах под сельскохозяйственными культурами фиксируется 30—40 кг молекулярного азота, а на парующей почве — 10—13 кг/га. Данные С. М. Гуревича свидетельствуют о том, что в типичных черноземах без выращивания бобовых культур в год связывается до 56 кг азота на 1 га.

На севере процесс азотфиксации свободноживущими микроорганизмами протекает крайне вяло. Как показывают наблюдения В. В. Егорова, например, на Кольском полуострове связывается лишь несколько килограммов азота на 1 га в год. На Ротамстедской опытной станции (Англия) в многолетнем опыте были учтены всевозможные статьи расхода и поступления азота в почву. Расчеты показали, что в среднем за год свободноживущие азотфиксаторы в удобрявшейся окультуренной почве фиксировали 17 кг азота на 1 га в год, а в удобрявшейся почве — 25 кг. В тропиках, по свидетельству ряда исследователей, биологически связывается до 100 кг азота и более в год.

Расчеты, сделанные Л. М. Пресманом с сотрудниками, позволяют заключить, что при средних урожаях культурных растений корневые и пожнивные остатки их дают возможность свободноживущим сапрофитным бактериям фиксировать до 20—23 кг молекулярного азота на 1 га.

Для усредненных расчетов мы принимаем, что на пахотных почвах СССР в среднем усваивается около 20 кг азота в год на 1 га. Молекулярный азот, ассимилированный свободноживущими сапрофитными микроорганизмами, не может быть сразу полностью использован растениями. Он становится доступным для растений по мере отмирания микроорганизмов. Часть фиксированного азота попадает в состав органического вещества почвы.

Как было отмечено, молекулярный азот связывается не только сапрофитными, но и некоторыми автотрофными микроорганизмами, анаэробными фотосинтезирующими бактериями и цианобактериями.

Эти группы микроорганизмов проявляют себя достаточно активно в сильно увлажненных и затопленных почвах, например на рисовых полях.

В нормально увлажненных почвах цианобактерии развиваются как эфемеры во влажные периоды года. Их вклад в азотонакопление на неорошаемых почвах невелик и не превышает нескольких килограммов азота в год. В орошаемых почвах они проявляют повышенную активность в течение некоторого времени после полива. По данным Е. М. Панкратовой, в зависимости от водного режима в пахотных почвах цианобактерии накапливают от 3 до 26 кг азота на 1 га.

В залитых водой почвах, используемых для культуры риса, при хорошем развитии цианобактерии могут накапливать за вегетационный период 50—70 кг азота и более на 1 га. Однако если под рис даются дозировки минерального азота около 40 кг/га, то азотфиксация тормозится, а при 100 кг/га сильно депрессируется. Имеются данные, что фосфорные удобрения несколько снижают неблагоприятное влияние высоких доз азотных удобрений на азотфиксацию.

Микроорганизмы-азотфиксаторы, находящиеся на поверхности растений и использующие органические выделения растительных тканей, фиксируют в год 2—10 кг азота на 1 га.

НАКОПЛЕНИЕ ГУМУСА И СОЗДАНИЕ СТРУКТУРЫ ПОЧВЫ

Гумус имеет большое значение для плодородия почвы. Он служит резервом питательных для растений веществ, которые освобождаются в процессе минерализации. Доказано, что минеральные удобрения более эффективны на почвах, богатых гумусом.

Чрезвычайно ценно свойство гумуса задерживать в пахотном слое влагу, имеющее особое значение в зоне недостаточного увлажнения.

В природных условиях каждый тип почвообразовательного процесса приводит к накоплению в почве определенного запаса гумуса. При сельскохозяйственном использовании в неудобряемых почвах гумусовые вещества подвергаются минерализации, и почва постепенно обедняется гумусом. По данным М. М. Кононовой, за 12—13 лет использования целинных почв происходят следующие потери гумуса: в дерново-подзолистой почве — до 40%, в черноземе — 7, в сероземе — 70%.

Стабилизация запаса гумуса в почве в основном определяется поступлением в нее органических веществ.

При этом важную роль играют пожнивные и корневые остатки, органические удобрения — навоз, компосты, а также зеленые удобрения.

Увеличить содержание гумуса в почве можно введением в севообороты многолетних трав. Когда ими занято поле севооборота, почву не обрабатывают, и в результате деятельности корневой системы и микроорганизмов происходит накопление гумуса.

Многолетние травы за 2—3 года могут увеличить количество гумуса в почве на 0,3—0,5%, или на 7,5—12 т/га. Кроме того, они оставляют в почве после себя до 10 т корневых остатков на 1 га,

которые также служат резервом питательных веществ для растений и источником гумуса.

Поскольку гумусовые соединения склеивают механические элементы почвы и создают агрегаты, то вопрос о динамике гумуса органически связан с оструктурированием почвы. Структура — важное свойство почвы. Структурная почва при рыхлении легко распадается на комочки, а бесструктурная — дает глыбистые отдельные части. Различают макро- и микроструктуру почвы. К макроструктурным элементам относятся почвенные комочки диаметром от 0,25 до 10 мм. Микроструктура — это комочки с диаметром менее 0,25 мм. Агрегаты крупнее 10 мм создают глыбистую структуру. В хорошо оструктурированных почвах до 70—80% почвенной массы находится в форме микроагрегатов.

В структурной почве много некапиллярных промежутков. Дождевая вода легко впитывается подобной почвой и рассасывается по капиллярам. Средние и крупные поры быстро освобождаются от воды, и в них образуется запас воздуха. Таким образом, в почве устанавливается благоприятное соотношение воды и воздуха. Структурную почву легче обрабатывать, и на ней реже возникают эрозийные процессы.

В бесструктурной почве мелкие частицы залегают сплошной массой на всю глубину пахотного слоя. Такая почва плохо впитывает осадки, и большое количество воды стекает с поля. На поверхности бесструктурной почвы легко образуется корка, резко ухудшающая и без того плохую аэрацию. При недостатке увлажнения бесструктурная почва, представляющая собой массу, прони-

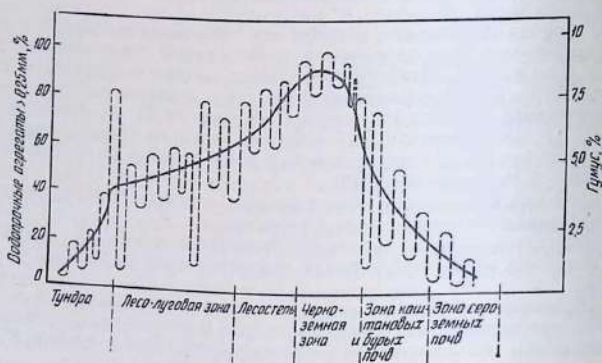


Рис. 67. Структура почв и содержание в них гумуса: сплошная линия — средний процент гумуса в почве; волнистая — диапазон колебаний процента микроагрегатов (по Н. И. Саввинову).

Для нейтрализации кислой реакции среды и повышения содержания полезного катиона применяют известкование таких почв, которое способствует и лучшему росту трав. Последние дают больше растительных остатков, служащих материалом для образования гумуса.

По данным опытов, проведенных в зоне черноземных (Воронежская область) и дерново-подзолистой почв (Московская область), видно, что на черноземе структура почвы изменялась в севообороте относительно мало, она несколько улучшалась под травосмесью. На известкованной дерново-подзолистой почве травосмесь также действовала положительно, но создавшиеся агрегаты быстро разрушались под последующими культурами, так как не обладали прочностью. Известкование здесь резко улучшало структуру, создаваемую травами (рис. 68).

В интенсивном земледелии поддержание и увеличение плодородия почвы стремятся осуществить на всех полях севооборота системой агротехнических мероприятий, которые проводят с учетом региональных условий.

Глава 17

УДОБРЕНИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОЧВЕ

Внедрение химии в сельское хозяйство — сейчас одно из важнейших условий интенсификации земледелия.

Еще в 1867—1869 гг. Д. И. Менделеев на основании опытов, поставленных им в четырех губерниях России, доказал огромное значение минеральных удобрений в повышении урожая. Страстным популяризатором минеральных удобрений был К. А. Тимирязев. Их использование пропагандировали и другие выдающиеся ученые того времени — А. В. Советов, И. А. Стебут, А. Н. Энгельгардт.

Ученик К. А. Тимирязева, выдающийся ученый академик Д. Н. Прянишников стал основателем агрохимической школы в нашей стране. Еще до Великой Октябрьской социалистической революции он указывал на необходимость широкого применения минеральных удобрений. Однако химическая промышленность в нашей стране была создана лишь в годы Советской власти. В. И. Ленин указывал, что химизация сельского хозяйства — важный показатель интенсивности земледелия.

За последние десятилетия в СССР было проведено более ста тысяч опытов по удобрению основных сельскохозяйственных культур. В результате этой работы установлено, что у нас практически нет зон и почв, где удобрения не повышали бы урожай.

Коммунистическая партия и Советское правительство придают огромное значение производству и применению удобрений. В основных направлениях экономического и социального развития СССР на 1986—1990 годы и на период до 2000 года намечено поставить сельскому хозяйству в 1990 г. 30—32 млн. т минеральных удобрений, довести использование органических удобрений до 1,5 млрд. т.

Химизация сельского хозяйства не уменьшает роли биологических факторов в земледелии. Использование их позволит более рационально применять минеральные удобрения. Поэтому следует учитывать достижения микробиологии, раскрывающие пути мобилизации и трансформации в почве питательных для растений веществ.

Без воздействия на микробиологические процессы почвы невозможно решить вопросы повышения коэффициента использования удобрений (особенно азотных), накопления «биологического» азота, рационального чередования культур в севообороте, установления времени детоксикации в почве пестицидов и т. п.

С учетом деятельности микроорганизмов очень важно увязать также накопление, подготовку и применение органических удобрений.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПОДГОТОВКЕ ОРГАНИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ

Органические удобрения (навоз, компосты, городские отходы и т. д.) способствуют созданию высокоплодородных, обогащенных гумусом почв. Минеральные же удобрения, увеличивая поступление в почву корневых и пожнивных остатков, лишь стабилизируют уровень гумуса.

Содержание органического вещества в навозе составляет 20—24%; количество питательных для растений веществ ограничивается долями процента: 0,5% азота, 0,2% P_2O_5 , 0,6% K_2O ; около 75% приходится на долю воды.

Органическая часть навоза в расчете на беззольную сухую массу содержит до 40% перегнойных соединений, около 30% целлюлозы и лигниноподобных веществ. В почву навоз вносят в довольно больших количествах.

При переводе животноводства на промышленную основу в хозяйствах получают «жидкий навоз». Он сильно обводнен (содержание воды достигает 90—98%). Фракция сухих веществ его по составу близка к навозу.

Д. Н. Прянишников различал следующие способы хранения навоза: 1) под скотом; 2) нерегулированное хранение на гноище; 3) приготовление «холодного» навоза путем его немедленного уплотнения в навозохранилище и 4) приготовление «горячего» навоза, что достигается временной его рыхлой укладкой и последующим уплотнением.

При хранении навоза под скотом получается навозное удобрение высокого качества. Однако антисанитарные условия, создающиеся при таком способе хранения, заставляют отказываться от его применения.

При неурегулированном хранении навоз вывозят и сваливают на гнище. В зависимости от условий хранения он может получаться удовлетворительного или низкого качества. Уплотнение навоза, защита его от дождя, предупреждение стока жидкости и т. д. могут обеспечить получение навоза с хорошими удобрительными свойствами.

«Холодный» навоз приготавливают в специальных навозохранилищах с бетонированным дном и стенами. В навозохранилищах должен быть колодец для сбора стекающей на дно навозной жижи. Завезенный в хранилище навоз сразу же подвергают уплотнению, а по заполнении помещения изолируют его поверхность от воздуха. Брожение такого навоза протекает замедленными темпами, и температура не поднимается выше 30—40°C.

При изготовлении «горячего» навоза его держат в хранилище некоторое время в виде рыхлой массы, без уплотнения, примерно метровым слоем. Через 2—4 дня, когда температура навоза поднимается до 60—70°C, его уплотняют и укладывают сверху второй слой навоза, который разогревается, а нижний уплотненный слой постепенно охлаждается и т. д.

Горячий способ приготовления вызывает значительные потери питательных для растений веществ, и прежде всего азота. Предполагали, что при горячем способе погибают семена сорняков. Это считалось преимуществом способа. Однако в специальных опытах указанное предположение не подтвердилось, поэтому горячий способ приготовления навоза считают нерациональным.

Динамика температуры при горячем и холодном способе приготовления навоза показана на рисунке 69. Интенсивность разогревания навоза зависит не только от доступа воздуха, но и от состава навоза. Существенное влияние на разогревание навоза имеет и количество находящейся в нем подстилки. Чем больше в нем соломы, тем сильнее он разогревается. Солома способствует более рыхлой укладке навоза, лучшей аэрации его массы и разви-

тию аэробных микробиологических процессов, выделяющих много тепла.

В свежем навозе размножается огромная масса разнообразных микроорганизмов. В зависимости от условий хранения навоза их развитие приобретает свою специфику. В таблице 22 приведены данные, характеризующие развитие сапрофитных мезофильных микроорганизмов при хранении смешанного навоза холодным способом. Они показывают, что главную роль в созревании холодного навоза играют неспорообразующие бактерии, а численность бацилл и

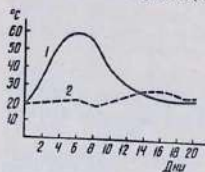


Рис. 69. Температура навоза, созревающего в разных условиях:

1 — при горячем способе хранения; 2 — при холодном.

22. Динамика микроорганизмов при созревании холодного навоза, млн. на 1 г навоза (по В. Н. Былинкиной)

Группа микроорганизмов	Исходный материал	Срок, прошедший с момента закладки навоза			
		дней	месяцев		
			15	1	2
Неспороносные бактерии	960	2600	1800	140	130
Бациллы	6	15	20	7	6
Актиномицеты	1	1,6	1,8	0,9	1,5

актиномицетов здесь невелика. В свежем навозе первоначально более половины микроорганизмов составляют кокковидные бактерии, число которых постепенно уменьшается. Кокки относятся к аммонификаторам, начинающим гнилостный процесс.

В навозе довольно много бактерий рода *Pseudomonas*, представителей группы кишечной палочки и других неспорообразующих палочковидных аммонификаторов. Некоторые из бактерий рода *Pseudomonas* могут вызывать денитрификацию. Восстанавливать нитраты способны также многие другие встречающиеся в навозе бактерии. В навозе имеются и гнилостные спорообразующие бактерии: *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. megaterium*, *Bac. thuyoides* и т. д., но при холодном способе его приготовления они размножаются слабо.

Многие аммонифицирующие бактерии навоза могут вызывать распад мочевины. Общее число подобных форм микроорганизмов достигает 200—300 млн. на 1 га навоза. Грибы существенного значения в созревании холодного навоза не имеют, так как для их развития нужен обильный доступ воздуха.

Многочисленна в навозе группа аэробных микроорганизмов, разлагающих клетчатку. Здесь много зародышей *Cytophaga*, несколько беднее представлен род *Cellvibrio* и др. В навозе обнаружены также анаэробные разрушители целлюлозы (*Clostridium melianskii*). В холодном навозе можно встретить термофильную целлюлозоразлагающую бактерию *Clostridium thermocellum*. Вообще группа термофильных и термотолерантных бактерий в холодном навозе немногочисленна и не превышает 1—1,5 млн. на 1 г его массы.

В навозе встречаются нитрификаторы, проявляющие активность только в самом поверхностном его слое, куда проникает необходимый им кислород. Помимо окисления аммиака, они разлагают в навозе пуриновые основания.

Иначе развивается процесс при горячем способе созревания навоза. В первый период в рыхлосложенной массе бурно развивается разнообразная мезофильная микрофлора — аэробные неспороносные бактерии, грибы и частично актиномицеты. Через несколько дней, когда температура навоза поднимется до 60—70°C, его уплотняют. В результате подъема температуры и удаления возду-

23. Изменение численности микроорганизмов при созревании горячего навоза мли. на 1 г навоза (по В. Н. Былинкиной)

Группа микроорганизмов	Исходный материал	Срок, прошедший с момента закладки: температура навоза, °С				
		2 дня; 30	5 дней; 60	6 дней; около 50	2 месяца; 20	3,5 месяца; 17
Бактерии (общее число)	450	610	15	16	17	19
Термофильные бактерии	0,03	2,0	5,0	4,0	0,3	0,2
Спores	1,8	1,7	1,9	3,1	9,3	8,5
Актиномицеты						
мезофильные	2,9	23,4	0,5	0,5	0,6	0,6
термофильные	0,2	0,6	0,6	3,3	1,8	1,3

ха из навоза большая часть мезофильной микрофлоры отмирает. Некоторая часть актиномицетов и неспорообразующих бактерий переносит повышенную температуру в анабиотическом состоянии. Активно размножаться в разогревшемся навозе могут лишь термофильные и термотолерантные актиномицеты и бактерии. Последние представлены в основном спорообразующими формами (*Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*). Целлюлозу в горячем компосте разлагает термофильная бактерия *Clostridium thermocellum*.

Абсолютная численность термофильных микроорганизмов в навозе даже в период разогревания не бывает высокой. Это можно объяснить тем, что если эти микроорганизмы быстро размножаются, то индивидуальная жизнь их очень коротка, и они быстро отмирают. Обмен веществ в клетке термофилов идет очень интенсивно, что приводит к сильному разогреванию субстрата, в котором эти микроорганизмы размножаются. Динамика численности микроорганизмов в горячем навозе приведена в таблице 23.

Степень повышения температуры навоза зависит не только от доступа кислорода, но и от состава навоза. Например, при окислении содержащих азот органических веществ выделяется больше тепла, чем при распаде углеводов. Поэтому конский навоз, в котором больше веществ, содержащих азот, разогревается сильнее, чем навоз крупного рогатого скота. Данные Д. Н. Прянишникова, характеризующие энергию разогревания навоза, приведены в таблице 24.

Таким образом, навоз разного происхождения имеет неодинаковую быстроту и продолжительность разогревания. Если, например, для парникового хозяйства нужно получить более равномерное и продолжительное разогревание почвы, то можно использовать смесь навоза разных животных.

Рассмотрим характер изменений основных компонентов, входящих в состав навоза, при его созревании. До 40% азота находится в навозе в виде гиппуровой и мочевоы кислот, но большая часть входит в состав мочевины. Мочевина легко гидролизуеться уробак-

24. Динамика температуры в разогревающемся навозе, °С

Навоз	Дни									
	3	4	5	12	16	20	24	28	32	36
Конский	5	50	75	55	25	24	22	20	18	17
Овечий	5	35	50	65	40	20	18	18	17	16
Крупного рогатого скота	5	15	25	35	42	40	30	20	10	10

териями и многими сапрофитными бактериями. При этом образуется углекислый аммоний, легко диссоциирующий на NH_3 и CO_2 . Если атмосфера насыщена углекислотой, то диссоциация углекислого аммония не происходит. Это способствует сохранению аммиака, так как после диссоциации он улетучивается из навоза. Поэтому при рыхлом состоянии навоза потери азота сильно возрастают. Плотная укладка навоза способствует насыщению всей его массы углекислотой, образуемой бактериями при разложении разных углеродсодержащих веществ, а также мешает испарению содержащегося в навозе свободного аммиака.

При повышенной температуре распад мочевины и $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ усиливается. Поэтому при горячем способе приготовления навоза потеря азота возрастает, достигая 30%. Правильное приготовление навоза холодным способом резко снижает потери азота. Если вместо соломенной подстилки применяют торфяную, хорошо поглощающую аммиак, то эти потери могут уменьшиться до нескольких процентов.

В аммиак постепенно превращаются и другие содержащие азот соединения — гиппуровая и мочевая кислоты, а также белковые вещества. Все эти соединения подвергаются микробиологическим трансформациям в начальный период созревания навоза.

При аэробных условиях азот в навозе частично может теряться вследствие развития процесса нитрификации. Если аммиак окисляется до азотной кислоты, то она вымывается из поверхностных слоев навоза в более глубокие и там подвергается разрушению денитрифицирующими бактериями. Нитриты, образующиеся при нитрификации, также могут реагировать с аминокислотами, и при этом выделяется свободный азот.

Для уменьшения потерь азота из навоза в него рекомендуется вносить гипс, который, реагируя с аммиаком, дает нелетучий сульфат аммония.

Убыль сухого вещества при созревании горячего навоза достигает 40%, а холодного — 20—25%. При этом основные потери определяются разложением углеродсодержащих соединений. Распаду подвергаются пентозаны, пектиновые вещества, клетчатка и другие соединения. Пентозаны и пектиновые вещества сбраживаются легче, чем клетчатка и особенно лигнин. В процессе приготовления навоза соотношение C : N постепенно суживается.

Значительная часть растительных остатков и других компонентов навоза во время его созревания подвергается гумификации. Гумусовые соединения медленно минерализуются в почве, вследствие этого азот навозного удобрения (частично и фосфор) действует не только в первый год после внесения навоза, но и в последующие годы, по крайней мере в течение двух лет.

В хозяйствах обычно используют полуперепревший навоз, в котором достаточно доступного растениям азота. Слабо перепревший навоз может вызвать в почве закрепление имеющегося там азота, а навоз с большой степенью гумификации (сыпец) обеднен подвижными формами азота.

В процессе приготовления навоза теряется часть фосфора, что может быть объяснено образованием его летучих соединений, в частности фосфористого водорода. Однако это мнение оспаривается.

При анаэробном созревании навоза, кроме углекислоты, выделяются другие газы — метан и водород. Это используется в практических целях для получения горючего газа.

Перевод животноводства на промышленную основу связан с применением бесподстилочного метода уборки экскрементов. Они удаляются механическими или гидравлическими средствами, а иногда самотеком. Рекомендуются жидкий навоз собирать в карантинные навозохранилища и в случае необходимости обезвреживать химическими средствами. Затем его перекачивают в основные навозохранилища.

Перед использованием жидкого навоза на полях его разделяют на твердую и жидкую фракции. Твердую часть используют после компостирования в качестве органического удобрения. Жидкую неразбавленную массу применяют как удобрение во вневегетационный период. В качестве удобрительно-увлажнительного полива ее можно применять во время вегетации растений при разбавлении водой в 2—10 раз.

В бесподстилочном навозе значительная часть азота (до 40—60%) содержится в форме аммиака. Поэтому при его использовании целесообразно применять ингибитор нитрификации.

Нередко в качестве удобрения используют низовой торф. Он обладает огромной влагоемкостью (полная влагоемкость достигает 90%). В сухом веществе его содержится до 80—93% органических соединений, $\frac{3}{4}$ которых состоят из гумусовых и лигниноподобных соединений. Содержание азота колеблется в пределах 1,5—4%, причем он минерализуется крайне медленно.

Большой экспериментальный материал свидетельствует о том, что даже огромные дозы торфа (100—200 т/га) не дают существенного удобрительного эффекта. В то же время торф — незаменимый подстилочный материал, в качестве которого его следует использовать.

Вблизи городов скапливается большое количество бытовых отходов, часть которых на специальных заводах перерабатывается на удобрения. Обычно используют установки, обеспечивающие

сильное самонагревание отбросов. Это ускоряет процесс компостирования и обеспечивает обеззараживание материала от гельминтов и патогенных микроорганизмов.

Некоторые хозяйства стремятся полностью перейти на «биологическое» земледелие, отказавшись от использования химических удобрений и средств защиты растений. Это связано с охраной окружающей среды. Однако для получения высоких урожаев с помощью только органических удобрений требуются высокие их дозы, обеспечить которые повсеместно не представляется возможным. Поэтому правильнее ставить вопрос о более широком использовании органических удобрений в сочетании с рациональными дозами минеральных.

Навоз, особенно не прошедший стадию самонагревания, обычно засорен значительным числом семян сорняков. Для борьбы с ними рекомендована обработка навоза, разбросанного в поле, гербицидами с учетом культуры, под которую отведено поле.

Обезвредить от патогенов жидкую фракцию бесподстильного навоза можно хлорированием или обработкой другими препаратами. Твердую фазу целесообразно компостировать в смеси с соломой, обеспечивая самонагревание до 55—60°C, что обезвреживает навоз.

ПОЛУЧЕНИЕ БИОГАЗА ИЗ ЖИДКОГО НАВОЗА

Сейчас в некоторых странах, преимущественно расположенных в южном поясе, широко используют навоз и растительные материалы (солома, растительные остатки и т. д.) для выработки горючего газа.

Для сбраживания жидкого и разбавленного водой навоза созданы специальные бродильные камеры. Имеются системы с переменным использованием реакторов, когда работа ведется не менее чем в двух установках. Существуют и непрерывно действующие (проточные) системы, загружаемые порциями навоза через короткие периоды при удалении части сброженного материала (шлама). Схема одной из бродильных установок показана на рисунке 70.

Получение биогаза основано на анаэробном разложении навоза. По данным Г. А. Заварзина, в процессе сбраживания можно выделить две фазы: 1) кислотогенную, идущую с выделением водорода, и 2) метаногенную. Процесс протекает при нейтральном значении рН и в случае существенного подкисления тормозится.

В первую фазу микроорганизмы, используя растворимые органические вещества, потребляют кислород, а также другие окислители (нитраты, сульфаты и т. д.) и создают строго анаэробные условия. Далее начинается гидролиз и разложение нерастворимых компонентов — целлюлозы, лигноцеллюлозы и т. д. Эти процессы протекают значительно медленнее.

Во время сбраживания органической массы накапливаются водород и органические кислоты — молочная, пропионовая, уксусная, а также спирты, альдегиды и т. д. Образовавшиеся продукты под-

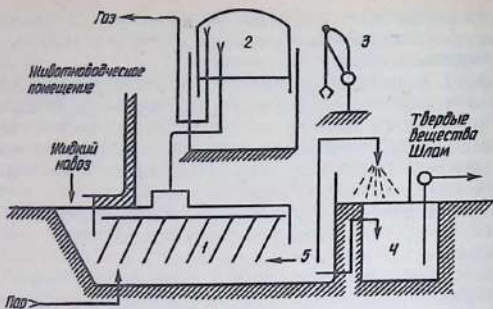


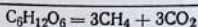
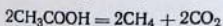
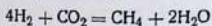
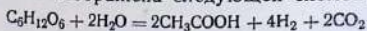
Рис. 70. Траншейная биогазовая установка:

1 — броидильная камера; 2 — газгольдер; 3 — грейфер для загрузки материала; 4 — накопитель шлама; 5 — перемешивающее устройство (по В. Баадер и др.).

вергаются дальнейшему метаболизму. Водород трансформируется специфическими водородными бактериями в метан и воду.

Полученную в больших количествах уксусную кислоту бактерии родов *Methanobacterium* и *Methanosarcina* также превращают в метан и углекислоту.

В итоге из основной части органического вещества получают преимущественно метан и углекислота. Совокупность отмеченных процессов, если в качестве органического вещества взять моносахарид, может быть изображена следующей схемой:



Экспериментальные работы показали, что в метантенках $\frac{2}{3}$ метана образуются из ацетата, а $\frac{1}{3}$ из углекислоты. В таблице 25 приведен состав образующейся газовой фазы.

Сбраживание органической массы может идти в мезофильных (20—35°C) и термофильных (56—60°C) условиях. Последние способствуют более быстрой переработке материала и обезвреживанию его. Сбраживание навоза вызывает потери около $\frac{2}{3}$ сухого вещества, при этом азота теряется незначительное количество.

25. Компоненты биогаза, полученного из навоза, %

Страна, в которой получены данные	CH ₄	CO ₂	H ₂	H ₂ S	N ₂
ГДР	55—70	27—44	21	3	
Индия	50—60	30—45	5—10	Следы	1—2

В среднем 1 кг органического вещества навоза крупного рогатого скота дает 200 л биогаза, навоза свиней — 300 л, птичьего помета — 400 л.

В Китае, Индии и других южных странах получение биогаза в сельской местности приобрело массовый характер. Отдельные семьи имеют собственные примитивные метантенки, обеспечивающие получение достаточного количества горючего для приготовления пищи и освещения. В условиях жаркого климата обычно происходит термофильное сбраживание навоза. Рассчитано, что крупные бродильные установки при переработке навоза от 275 коров могут обеспечить биогазом нужды примерно 500 человек.

В условиях СССР производство биогаза из-за неблагоприятных климатических условий обходится дороже получения естественного газа. Однако в отдельных пунктах получение биогаза может быть полезным. Образующийся после брожения биошлак возможно использовать как обычный жидкий навоз. Если разделить его на жидкую и твердую фракции, то последняя будет богаче азотом, чем обычный навоз.

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ И ОРГАНИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ НА МИКРООРГАНИЗМЫ И ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ

Внесение в почву удобрений не только улучшает питание растений, но и изменяет условия существования почвенных микроорганизмов, которые также нуждаются в минеральных элементах.

При благоприятных климатических условиях количество микроорганизмов и их активность после удобрения почвы значительно возрастают. Усиливается распад гумуса, а вследствие этого увеличивается мобилизация азота, фосфора и других элементов.

Существовала точка зрения, что длительное применение минеральных удобрений приводит к катастрофической потере гумуса и ухудшению физических свойств почвы. Однако экспериментальные материалы ее не подтвердили. Так, на дерново-подзолистой почве ТСХА академиком Д. Н. Прянишниковым был заложен опыт с разной системой удобрения. На делянки, где применяли минеральные удобрения, в среднем за год вносили 36,9 кг азота, 43,6 кг P_2O_5 и 50,1 кг K_2O на 1 га. В почву, удобрявшуюся навозом, его вносили ежегодно по 15,7 т/га. Через 60 лет был проведен микробиологический анализ опытных делянок.

В таблице 26 приведены данные, полученные при исследовании почвы, все время находящейся под паром, чтобы исключить влияние поступающих в нее растительных остатков. Парующая почва оказалась бедной сапрофитными микроорганизмами, так как в нее поступало ограниченное количество органических веществ, значительно развивались сорняки и цианобактерии. Минеральные удобрения активизировали деятельность бактерий. При наличии

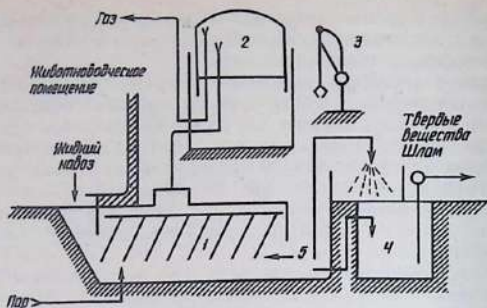


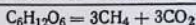
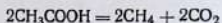
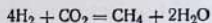
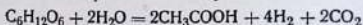
Рис. 70. Траншейная биогазовая установка:

1 — броидильная камера; 2 — газгольдер; 3 — грейфер для загрузки материала; 4 — накопитель шлама; 5 — перемешивающее устройство (по В. Баадер и др.).

вергаются дальнейшему метаболизму. Водород трансформируется специфическими водородными бактериями в метан и воду.

Полученную в больших количествах уксусную кислоту бактерии родов *Methanobacterium* и *Methanosarcina* также превращают в метан и углекислоту.

В итоге из основной части органического вещества получаются преимущественно метан и углекислота. Совокупность отмеченных процессов, если в качестве органического вещества взять моносахарид, может быть изображена следующей схемой:



Экспериментальные работы показали, что в метантенках $\frac{2}{3}$ метана образуются из ацетата, а $\frac{1}{3}$ из углекислоты. В таблице 25 приведен состав образующейся газовой фазы.

Сбраживание органической массы может идти в мезофильных (20—35°C) и термофильных (56—60°C) условиях. Последние способствуют более быстрой переработке материала и обезвреживанию его. Сбраживание навоза вызывает потери около $\frac{2}{3}$ сухого вещества, при этом азота теряется незначительное количество.

25. Компоненты биогаза, полученного из навоза, %

Страна, в которой получены данные	CH ₄	CO ₂	H ₂	H ₂ S	N ₂
ГДР	55—70	27—44	21	3	
Индия	50—60	30—45	5—10	Следы	1—2

В среднем 1 кг органического вещества навоза крупного рогатого скота дает 200 л биогаза, навоза свиней — 300 л, птичьего помета — 400 л.

В Китае, Индии и других южных странах получение биогаза в сельской местности приобрело массовый характер. Отдельные семьи имеют собственные примитивные метантенки, обеспечивающие получение достаточного количества горячего для приготовления пищи и освещения. В условиях жаркого климата обычно происходит термофильное сбраживание навоза. Рассчитано, что крупные бродильные установки при переработке навоза от 275 коров могут обеспечить биогазом нужды примерно 500 человек.

В условиях СССР производство биогаза из-за неблагоприятных климатических условий обходится дороже получения естественного газа. Однако в отдельных пунктах получение биогаза может быть полезным. Образующийся после брожения бишлак возможно использовать как обычный жидкий навоз. Если разделить его на жидкую и твердую фракции, то последняя будет богаче азотом, чем обычный навоз.

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ И ОРГАНИЧЕСКИХ УДОБРЕНИЙ НА МИКРООРГАНИЗМЫ И ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ

Внесение в почву удобрений не только улучшает питание растений, но и изменяет условия существования почвенных микроорганизмов, которые также нуждаются в минеральных элементах.

При благоприятных климатических условиях количество микроорганизмов и их активность после удобрения почвы значительно возрастают. Усиливается распад гумуса, а вследствие этого увеличивается мобилизация азота, фосфора и других элементов.

Существовала точка зрения, что длительное применение минеральных удобрений приводит к катастрофической потере гумуса и ухудшению физических свойств почвы. Однако экспериментальные материалы ее не подтвердили. Так, на дерново-подзолистой почве ТСХА академиком Д. Н. Прянишниковым был заложен опыт с ртзной системой удобрения. На делянки, где применяли минеральные удобрения, в среднем за год вносили 36,9 кг азота, 43,6 кг P_2O_5 и 50,1 кг K_2O на 1 га. В почву, удобрявшуюся навозом, его вносили ежегодно по 15,7 т/га. Через 60 лет был проведен микробиологический анализ опытных делянок.

В таблице 26 приведены данные, полученные при исследовании почвы, все время находящейся под паром, чтобы исключить влияние поступающих в нее растительных остатков. Парующая почва оказалась бедной сапрофитными микроорганизмами, так как в нее поступало ограниченное количество органических веществ, значительно развивались сорняки и цианобактерии. Минеральные удобрения активизировали деятельность бактерий. При наличии

26. Влияние удобрений на микроорганизмы парующей дерново-подзолистой почвы (средние данные за лето)

Удобрение	Гумус, * %	рН _{сол.}	Общее число микроорганизмов	Активомицеты	Грибы
			тыс. на 1 г почвы		
—	1,08	3,8	594	117	15,0
НРК	1,35	3,6	1246	61	23,6
Навоз	1,81	4,5	2297	250	30,0

* В исходной почве содержалось 2,2% гумуса.

минерального азота легче разлагался и использовался микроорганизмами гумус. Внесение минеральных удобрений вызывало некоторое снижение численности актиномицетов и увеличение грибного населения. Это могло быть следствием сдвига рН в кислую сторону в результате внесения физиологически кислых солей: актиномицеты плохо переносят подкисление, а размножение многих грибов ускоряется в более кислой среде.

Как видно, минеральные удобрения, хотя и активизировали деятельность микроорганизмов, но уменьшили потери гумуса. Навоз, как и следовало ожидать, оказал на все группы сапрофитного микронаселения почвы весьма благоприятное действие.

Таким образом, за 60 лет в паровавшей почве содержание гумуса уменьшилось, но в удобрявшихся почвах его потери были меньше, чем в неудобренной. Это можно объяснить тем, что внесение минеральных удобрений способствовало развитию в почве автотрофной микрофлоры (преимущественно водорослей), что привело к некоторому накоплению в парующей почве органических веществ, а следовательно, и гумуса. Навоз является прямым источником образования гумуса, накопление которого под действием этого органического удобрения вполне понятно.

На делянках с таким же удобрением, но занятых сельскохозяйственными культурами, удобрения действовали еще более благоприятно. Поживные и корневые остатки здесь активизировали деятельность микроорганизмов и компенсировали расход гумуса. Контрольная почва в севообороте содержала 1,38% гумуса, получавшая НРК — 1,46, а унавоженная — 1,96%.

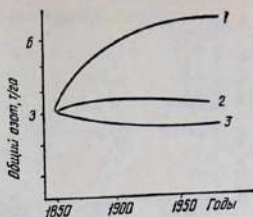
Следует отметить, что в удобряемых почвах, даже получавших навоз, уменьшается содержание фульвокислот и относительно увеличивается — менее подвижных фракций.

В общем, минеральные удобрения в большей или меньшей степени стабилизируют уровень гумуса в зависимости от количества оставляемых поживных и корневых остатков. Богатый перегноем навоз этот процесс стабилизации еще более усиливает. Если навоз вносят в больших количествах, то содержание гумуса в почве возрастает.

Весьма показательны данные Ротамстедской опытной станции (Англия), где проводили длительные исследования (около 120 лет)

Рис. 71. Содержание гумуса в слое почв 0—23 см при различном удобрении в многолетнем опыте:

1 — ежегодное внесение навоза (35 т/га); 2 — ежегодное внесение минерального азота (144 кг/га); 3 — без удобрений (расчет на общий азот, по Д. Дженкинсону).



с монокультурой озимой пшеницы. В почве, не получавшей удобрений, содержание гумуса немного снизилось.

При ежегодном внесении 144 кг минерального азота с другими минеральными веществами (P_2O_5 , K_2O и т. д.) отмечено очень небольшое повышение содержания гумуса. Весьма значительное возрастание гумусности почв имело место при ежегодном внесении в почву 35 т навоза на 1 га (рис. 71).

Внесение в почву минеральных и органических удобрений усиливает интенсивность микробиологических процессов, в результате чего сопряженно увеличивается трансформация органических и минеральных веществ.

Опыты, проведенные Ф. В. Турчиным, показали, что внесение азотсодержащих минеральных удобрений (меченных ^{15}N) увеличивает урожай растений не только в результате удобрительного действия, но и за счет лучшего использования растениями азота из почвы (табл. 27). В опыте в каждый сосуд, вмещавший 6 кг почвы, вносили 420 мг азота.

При увеличении дозы азотных удобрений доля используемого азота почвы повышается.

Характерный показатель активизации деятельности микрофлоры под влиянием удобрений — усиление «дыхания» почвы, то есть выделение ею CO_2 . Это результат ускоренного разложения органических соединений почвы (в том числе гумуса).

Внесение в почву фосфорно-калийных удобрений мало способствует использованию растениями почвенного азота, но усиливает деятельность азотфиксирующих микроорганизмов.

Изложенные сведения позволяют сделать заключение, что, помимо прямого действия на растения, азотные минеральные удобрения оказывают и большое косвенное влияние — мобилизуют поч-

27. Влияние азотного удобрения на использование овсом азота почвы

Почва	Вариант опыта	Использование растением азота, мг	
		из почвы	из удобрений
Дерново-подзолистая (суглинок)	Контроль	175	—
	$(NH_4)_2SO_4$	255	298
Чернозем	Контроль	114	—
	$(NH_4)_2SO_4$	195	291
Серозем	Контроль	236	—
	$(NH_4)_2SO_4$	325	326

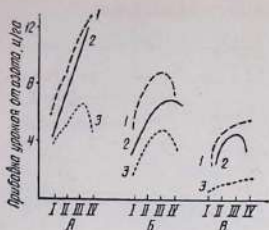


Рис. 72. Окультуренность почв и действие азотных удобрений на урожай зерновых культур:

1 — высококультуренные почвы; 2 — среднекультуренные; 3 — низкокультуренные. А — достаточное увлажнение; Б — избыточное; В — недостаточное. I — N₂₀; II — N₄₀₋₇₀; III — N₈₀₋₁₁₀; IV — N₁₂₀ (по А. П. Федосееву).

венный азот (получение «экстра азота»). В богатых гумусом почвах такое косвенное действие значительно больше, чем прямое. Это

сказывается на суммарной эффективности минеральных удобрений. Обобщение результатов 3500 опытов с зерновыми культурами, проведенных в Нечерноземной зоне европейской части СССР, сделанное А. П. Федосеевым, показало, что одинаковые дозы удобрений (НРК 50—100 кг/га) дают на плодородных почвах значительно большие прибавки урожая, чем на бедных почвах: соответственно 4,1; 3,7 и 1,4 ц/га на высоко-, средне- и слабокультуренных почвах.

Весьма существенно, что высокие дозы азотных удобрений (около 100 кг/га и более) оказываются эффективными только на высококультуренных почвах. На низкоплодородных почвах они обычно действуют отрицательно (рис. 72).

В таблице 28 приведены обобщенные данные ученых ГДР по расходу азота для получения 1 ц зерна на разных почвах. Как видно, экономичнее всего минеральные удобрения используются на почвах, содержащих больше гумуса.

Таким образом, для получения высоких урожаев нужно не только удобрять почву минеральными удобрениями, но и создавать достаточный запас питательных для растений веществ в самой почве. Этому способствует внесение в почву органических удобрений.

Иногда внесение в почву минеральных удобрений, особенно в высоких дозах, крайне неблагоприятно сказывается на ее плодородии. Обычно это наблюдается на малобуферных почвах при использовании физиологически кислых удобрений. При подкислении почвы в раствор переходят соединения алюминия, оказывающие токсическое действие на микроорганизмы почвы и растения.

28. Потребление растениями азота на разных почвах (кг на 1 ц зерна) при внесении одинаковых доз азотных удобрений

Почва	Всего	Из почвы	Из удобрений
Подзолистая супесчаная	4,4	1,6	2,8
Подзолистая суглинистая	4,1	1,9	2,2
Чернозем	3,3	2,4	0,9

29. Влияние удобрений на микрофлору подзолистой песчаной почвы и урожайность пшеницы

Вариант опыта	рН водн. почвы в конце опыта	Общее число микроорганизмов	тыс. на 1 г почвы		Урожайность в конце опыта, ц/га
			Активно-мицетм	Грибы	
Контроль	5,5	538	180	8	2,3
	4,4	324	150	14	0,4
Известь	6,1	640	260	10	4,5
Навоз	5,9	1136	610	16	10,9
Известь+навоз	6,1	1397	850	17	13,8

Неблагоприятное действие минеральных удобрений было отмечено на легких малоплодородных песчаных и супесчаных подзолистых почвах Соликамской сельскохозяйственной опытной станции. Один из анализов различно удобрявшейся почвы этой станции приведен в таблице 29. В этом опыте в почву ежегодно вносили N_{90} , P_{90} , K_{120} , навоз — 2 раза в три года (25 т/га). Из расчета на полную гидролитическую кислотность была дана известь (4,8 т/га).

Применение в течение ряда лет НРК существенно снизило численность микроорганизмов в почве. Не пострадали лишь микроскопические грибы. Внесение извести, и особенно извести с навозом, оказало весьма благотворное влияние на сапрофитную микрофлору. Изменяя реакцию почвы в благоприятную сторону, известь нейтрализовала вредное влияние физиологически кислых минеральных удобрений.

По истечении 14 лет урожай при внесении минеральных удобрений фактически снизились до нуля в результате сильного подкисления почвы. Применение известкования и навоза способствовало нормализации рН почвы и получению достаточно высокого для указанных условий урожая. В общем, микрофлора почвы и растения реагировали на изменение почвенного фона примерно одинаково.

Обобщение большого материала по использованию минеральных удобрений на территории СССР (И. В. Тюрин, А. В. Соколов и др.) позволяет сделать заключение, что их влияние на урожай связано с зональным положением почв. Как уже отмечалось, в почвах северной зоны микробиологические мобилизационные процессы протекают замедленно. Поэтому здесь сильнее ощущается дефицит для растений основных элементов питания, и минеральные удобрения действуют более эффективно, чем в южной зоне. Это, однако, не противоречит приведенному выше положению о лучшем действии минеральных удобрений на высококультурных фонах в отдельных почвенно-климатических зонах.

Кратко остановимся на использовании микроудобрений. Некоторые из них, например молибден, входят в ферментную систему азотфиксирующих микроорганизмов. Для симбиотической азотфикс-

саци необходим также бор, который обеспечивает формирование нормальной сосудистой системы у растений, а следовательно, и успешное протекание процесса азотоусвоения. Большинство других микроэлементов (Cu, Mn, Zn и т. д.) в небольших дозах усиливает интенсивность микробиологических процессов в почве.

Как было показано, весьма благоприятное действие на микрофлору почвы оказывают органические удобрения и особенно навоз. Скорость минерализации навоза в почве определяется рядом факторов, но при других благоприятных условиях она зависит в основном от отношения в навозе углерода к азоту (C:N). Обычно навоз вызывает повышение урожая в течение 2—3 лет в отличие от азотных удобрений, которые не имеют последствия. Полуперепревший навоз с более узким соотношением C:N проявляет удобрительное действие с момента его внесения, так как он не имеет богатого углеродом материала, вызывающего энергичное усвоение азота микроорганизмами. В перепревшем навозе значительная часть азота переведена в форму перегноя, который слабо минерализуется. Поэтому навоз-сыпец как азотное удобрение оказывает меньшее, но длительное действие.

Указанные особенности относятся и к компостам, и к другим органическим удобрениям. С учетом их можно создать органические удобрения, действующие в определенные фазы развития растений.

Широко используют также зеленые удобрения, или сидераты. Это органические удобрения, запаханные в почву, они более или менее быстро минерализуются в зависимости от почвенно-климатических условий.

В последнее время большое значение уделяют вопросу об использовании соломы как органического удобрения. Внесение соломы могло бы обогатить почву гумусом. Кроме того, в соломе содержится около 0,5% азота и другие необходимые растениям элементы. При разложении соломы выделяется много углекислоты, что также благотворно действует на посевы. Еще в начале XIX в. английский химик Ж. Деви указывал на возможность применения соломы в качестве органического удобрения.

Однако до последнего времени запахивать солому не рекомендовали. Это обосновывали тем, что солома имеет широкое отношение C:N (около 80:1) и ее заделка в почву вызывает биологическое закрепление минерального азота. Растительные материалы с более узким соотношением C:N такого явления не вызывают (рис. 73). Растения, посеянные после заделки соломы, испытывают недостаток азота. Исключение составляют лишь бобовые

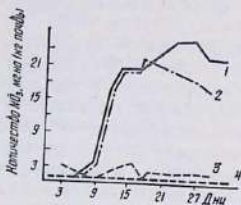


Рис. 73. Влияние на накопление нитратов (3 — контроль) в почве внесения:

1 — люцерны (C:N — 17,5:1); 2 — клевера (C:N — 16,4:1); 4 — соломы злаков (C:N — 82:1) (по Д. Хатчингсу).

культуры, которые обеспечивают себя азотом с помощью клубеньковых бактерий, фиксирующих молекулярный азот.

Недостаток азота после заделки соломы можно компенсировать внесением азотных удобрений из расчета 6—7 кг азота на 1 т запаханной соломы. При этом положение не вполне исправляется, так как солома содержит некоторые вещества, токсичные для растений. Требуется некоторый период времени для их детоксикации, которую проводят микроорганизмы, разлагающие эти соединения.

Проведенная за последние годы экспериментальная работа позволяет дать рекомендации по устранению неблагоприятного влияния соломы на сельскохозяйственные культуры.

В условиях северной зоны солому в виде резки целесообразно запахивать в верхний слой почвы. Здесь в аэробных условиях все токсичные для растений вещества довольно быстро разлагаются. При мелкой запашке, через 1—1,5 месяца происходит разрушение вредных соединений и начинает освобождаться биологически закрепленный азот. На юге, особенно в субтропической и тропической зонах, разрыв времени между заделкой соломы и посевом может быть самым минимальным даже при глубокой ее запашке. Здесь все неблагоприятные моменты исчезают весьма быстро.

При соблюдении этих рекомендаций почва не только обогащается органическим веществом, но и в ней активизируются мобилизационные процессы, в том числе деятельность азотфиксирующих микроорганизмов. В зависимости от ряда условий внесение 1 т соломы приводит к фиксации 5—12 кг молекулярного азота.

Сейчас на основании многочисленных полевых опытов, проведенных в нашей стране, вполне подтвердилась целесообразность использования избытков соломы как органического удобрения.

Глава 18

РЕГУЛИРОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ В ПОЧВЕ ОСНОВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ

ТРАНСФОРМАЦИЯ АЗОТА В ПОЧВЕ

Азотные соединения способны к различным микробиологическим превращениям и поэтому нередко теряются для растений.

Общий запас азота в почве довольно велик. В пахотном слое дерново-подзолистых почв он достигает 4 т, в черноземах — 6—15 т/га. Основная часть азотного фонда находится в составе гумуса. Небольшое количество азота входит в другие органические соединения почвенного слоя (аминокислоты, аминоксахара, нуклеиновые кислоты и т. д.), а также в минеральные соедине-

ния — преимущественно аммония и азотной кислоты. До 50—60 кг азота на 1 га заключено в плазме микроорганизмов, населяющих пахотный слой почвы.

Указанных запасов могло бы хватить на многие десятки лет для получения очень высоких урожаев. Однако вследствие того, что основная часть азота почвы входит в состав гумусовых соединений, трудно разлагаемых микроорганизмами, сельскохозяйственные культуры обычно испытывают недостаток в этом элементе. Кроме того, допускать уменьшение содержания гумуса в почве нецелесообразно, так как это снижает плодородие почвы.

Потребности сельскохозяйственных культур в азоте приходится удовлетворять минеральными и органическими удобрениями. Минеральные соединения вносят в основном в форме аммонийных и нитратных соединений, а также мочевины.

Некоторое количество аммонийных удобрений, а также аммония, накапливающегося при минерализации органических соединений, закрепляется почвенными минералами (иллитом, монтмориллонитом, вермикулитом и др.). Ион аммония входит в кристаллическую решетку глинистых минералов. Частично аммонийные соединения закрепляются необратимо. Обычно в почвах необменно фиксированного аммонийного азота бывает в 2—4 раза больше, чем обменных и водорастворимых его форм.

Растения и гетеротрофные микроорганизмы могут использовать до половины поглощенного NH_4 .

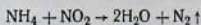
Аммонийный азот, как образующийся в процессе аммонификации, так и внесенный с удобрениями, не является в почве стабильным соединением. Под влиянием нитрифицирующих бактерий он окисляется до азотной кислоты. Часть аммиака (4—18%) при нитрификации превращается в закись азота (N_2O). В газообразном состоянии аммиак может теряться в значительных количествах лишь в щелочных почвах.

Процесс нитрификации особенно наглядно проявляется в парующей почве, где летом накапливаются нитраты. Под посевами сельскохозяйственных культур соли азотной кислоты практически отсутствуют, или их количество бывает минимальным, так как они потребляются растениями и микроорганизмами ризосферы. Ранней весной и осенью нитратов мало даже в парующих почвах. Это связано с тем, что в холодную погоду соли азотной кислоты довольно энергично потребляются психрофильными микроорганизмами, а жизнедеятельность нитрифицирующих бактерий при температуре ниже 8—10°C проявляется очень слабо. Следовательно, весной в почве содержится мало минерального азота, и целесообразно использовать азотные подкормки.

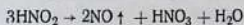
Д. Н. Прянишников показал, что нитраты и аммиак — равноценные источники азотного питания растений. Однако превращение солей аммония в азотную кислоту приводит к ряду нежелательных последствий. Так, нитраты не поглощаются почвенными коллоидами и могут вымываться из почвы. Этот процесс особенно сильно проявляется в зонах, где выпадает много осадков, и в орошаемых

почвах. Нитраты и нитриты могут также восстанавливаться бактериями и в виде газообразных продуктов теряться из почвы.

В почве возможна и «косвенная» денитрификация, когда потери азота происходят в результате некоторых химических реакций. Так, в кислой среде HNO_2 , реагируя с аминокислотами или аммонием, образует молекулярный азот. Эти процессы могут быть представлены следующими схемами:

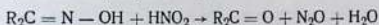


В кислой среде идет также саморазложение нитритов с образованием газообразных продуктов:



Возможно восстановление нитритов в почве при взаимодействии с органическими веществами, содержащими фенольные группы (в присутствии Fe^+ или Mn^{2+}), с образованием NO и N_2O .

При разнообразных микробиологических процессах в почве образуются оксимы (соединения с группой $=\text{N}-\text{OH}$). Они реагируют с нитритами, причем образуется N_2O :



Таким образом, при восстановительных процессах, а также при некоторых химических реакциях из нитратов и нитритов могут образоваться N_2 , N_2O , NO и NO_2 . Некоторые из этих соединений, например NO_2 , весьма реактивны. Поэтому газообразные потери азота из почвы происходят преимущественно в форме N_2 и N_2O . В почвенном воздухе всегда присутствует N_2O .

Из-за отмеченных потерь, а также частичного биологического закрепления азотные удобрения используются сельскохозяйственными растениями не более чем на 40—50%.

Как показали опыты Е. В. Руделева, Д. А. Филимонова, на плодородных почвах растения потребляют больше азота минеральных удобрений, чем на бедных. Биологически закрепляется азота также больше в высокоплодородных почвах, а газообразные потери здесь резко сокращаются. Об этом свидетельствуют следующие данные, %:

	бедные почвы	плодородные почвы
использовано посевами	33	56
газообразные потери	35	6
закрепилось в почве	15	35

Азот, закрепленный в микробных клетках, после их отмирания минерализуется и используется растениями. В общем, убыль азота из почвы может быть весьма значительной. Так, в Англии на Ротамстедской опытной станции при ежегодном унавоживании (около 36 т/га) 1 га пахотной почвы в результате вымывания и дени-

трификации терял в условиях влажного климата в среднем около 60% внесенного с навозом азота.

Денитрификация, вызываемая микроорганизмами обуславливает большие потери азота, чем вымывание его соединений из почвы. Потери от этого процесса возрастают по мере увеличения в почве количества нитратов. Повышенная влажность почвы усиливает восстановительные процессы и потери азота из почвы. О том, что денитрификация связана с наличием в почве солей азотной кислоты четкое представление дает один из опытов П. М. Смирнова, в котором в пойменную почву вносили аммонийную $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и нитратную $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ соли. Одну партию почвы сохраняли в аэробных условиях, периодически аэрируя ее и поддерживая нормальный уровень O_2 (19—22%). Другая партия почвы находилась в анаэробных условиях, что достигалось заполнением ее газовой фазы гелием. В аэрируемую почву вносили 27 мг азотных солей на 1 кг почвы, в анаэробно хранящуюся — 40 мг.

Анализ, проведенный через 2 месяца, показал, что потери азота (%) из почв, удобренных нитратами, были значительно больше:

	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
анаэробное хранение	14,0	79,8
аэробное >	8,9	39,6

На состав выделяющихся газов влияет форма азотного удобрения. Так, при внесении в почву $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и нитрификации этой соли выделяется больше N_2O и меньше N_2 , чем при восстановлении $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. В анаэробных условиях часть NO_2 редуцируется до N_2 .

Для борьбы с потерями азота из удобрений может быть применен ряд приемов. Так, установлено, что потери существенно уменьшаются при использовании гранулированных и медленно растворяющихся удобрений. К ним относятся уреаформ (конденсат мочевины с формальдегидом), гранулированная мочевина с оболочкой из элементарной серы, уреа-зет (конденсат мочевины с ацетальдегидом), изобутилен-диуреа и т. д.

Гранулированные удобрения имеют меньший контакт с почвенной микрофлорой, деятельность которой подавляется дополнительно вносимыми с ними веществами (формальдегид, сера и т. д.). Но эти удобрения используются ограниченно из-за их высокой цены и замедленного действия на растения.

Хороших результатов можно достигнуть приближенным к посеву или дробным внесением удобрений и т. д.

Большое внимание сейчас уделяют применению веществ, задерживающих процесс нитрификации. Их использование особенно целесообразно при внесении в почву больших доз удобрений (аммонийных и мочевины). К подобным соединениям относятся ряд цианидов, нитро и галла-анилиды, производные фенолов, хинолинов, хлорпиридины, пиримидины и другие вещества. Применение небольших доз этих соединений селективно подавляет нитрификацию, а другие микробиологические процессы в почве не угнетает.

Ингибирующим действием на нитрификацию обладают препараты N-serve и АМ. Всесторонняя проверка этих препаратов показала отсутствие у них фитотоксического и токсикологического эффекта. Активная часть соединения N-serve представляет собой 2-хлор-6-трихлорметил пиридин, АМ — 2-амино-4-хлор-6-метилпиримидин.

Под общим названием N-serve в США выпускается несколько марок препаратов, предназначенных для применения с разными азотными удобрениями. Они близки по составу, их можно вносить в почву в смеси с твердыми удобрениями. Некоторые из ингибиторов применяют в виде растворов или эмульсий. В урожае зерна эти препараты не обнаруживаются, а в тканях растений отмечено небольшое количество 6-хлор-пиколиновой кислоты, которая постепенно гидролизуется.

Большинство сапрофитных микроорганизмов не угнетаются применяемыми дозами этих препаратов: N-serve — до 2,24 кг/га, АМ — 0,3—0,7% от азота, внесенного с удобрениями. Концентрация N-serve выше 0,15 кг/га тормозит первую фазу нитрификации, для второй фазы нужна дозировка в 5 раз более высокая. Нитрификаторы более чувствительны к отмеченным препаратам, чем сапрофитные микроорганизмы.

При использовании нормальных дозировок депрессия микробиологических процессов может быть лишь в отдельных зонах, куда попадают значительные количества препарата из-за их неравномерного распределения в почве.

Продолжительность действия препаратов зависит от почвенно-климатических условий и влажности почвы. В большинстве случаев их действие продолжается 6—8 недель, а при осеннем внесении значительно дольше. Опытные данные показывают, что азотные удобрения можно вносить совместно с ингибиторами нитрификации осенью, не опасаясь значительных потерь азота.

В 1975—1978 гг. в различных опытных учреждениях нашей страны было проведено широкое испытание препарата N-serve под руководством кафедры агрохимии ТСХА. Итоги этой работы дали положительные результаты. Урожай разных сельскохозяйственных культур возрастал в большинстве случаев на 10—25%.

В США от применения ингибиторов нитрификации урожай озимой пшеницы увеличивался на 16—20%, кукурузы — на 7,2—33, хлопчатника — на 10—12%. В Индии на 6—14% возрастал урожай риса.

Азотные соединения обычно в форме нитратов частично вымываются в грунтовые воды, которые используются для водоснабжения. В СССР установлена предельно допустимая концентрация нитратов (ПДК) в питьевой воде, равная 10 мг/л. В странах Западной Европы и США эта норма значительно выше (45—50 мг/л).

Следует отметить опасность накопления нитратов в пище и кормах. В зерне нитраты, как правило, не аккумулируются, за исключением зерна ячменя, в котором, по некоторым данным, они накапливаются. В овощах и фруктах, как и в зеленых кормах, концентрация нитратов иногда бывает весьма высокой. Пища и корма с высоким содержанием нитратов могут вызвать отравления. Для пищевой продукции Министерством здравоохранения СССР утверждены временные нормы содержания в ней нитратов. С учетом указанного требует решения вопрос о нормировании доз азотных удобрений для разной продукции сельского хозяйства.

ТРАНСФОРМАЦИЯ В ПОЧВЕ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА И КАЛИЯ

Значительно меньшая подвижность по сравнению с азотом свойственна соединениям фосфора. Запас фосфора в почве зависит от

материнской горной породы, на которой почва образовалась. Обычно в материнских породах фосфор содержится в форме фторапатита $\text{Ca}_5\text{F}(\text{PO}_4)_3$ и гидроапатита $\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3$. При разрушении указанных минералов образуются соединения ортофосфорной кислоты.

В кислых почвах накапливаются фосфаты полуторных окислов (AlPO_4 , FePO_4), а также основные соли железа и алюминия ($\text{Fe}_2(\text{OH})_3\text{PO}_4$, $\text{Al}_2(\text{OH})_3\text{PO}_4$), которые плохо доступны растениям. В почвах, насыщенных основаниями, образуются фосфаты кальция CaHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, постепенно растворяющиеся слабыми кислотами, что способствует более легкому усвоению фосфора растениями.

При известковании кислых почв часть фосфатов полуторных окислов превращается в фосфаты кальция и магния, более доступные для растений.

Трансформация минеральных соединений горной породы микроорганизмами и растениями привела к превращению значительной их части в органические вещества. В подзолах, дерново-подзолистых, серых лесных почвах и черноземах 30—45% фосфора содержится в форме органических соединений. В каштановых почвах органических фосфатов меньше (около 25%), а в сероземных — лишь около 14%. Основная масса органических соединений фосфора входит в состав гумуса. Большая часть органического фосфора (до 60%) представлена фосфатами инозита. На долю нуклеиновых кислот приходится до 10% органических соединений фосфора, на глицерофосфаты и другие простые эфиры — 5—10; на фосфолипиды — 0,45—2,6%.

Из отмеченных соединений наиболее стабильны инозитфосфаты. Легче разлагаются микроорганизмами нуклеопротеиды, нуклеиновые кислоты, фосфаты, глицеро- и сахарофосфаты, а также полифосфаты.

Содержание фосфора (P_2O_5) в почвах колеблется от 0,03 до 0,2%, а общий запас фосфора в пахотном слое составляет от 1 до 9 т/га.

По примерным подсчетам, около 15 кг фосфора на 1 га может содержаться в клетках микроорганизмов.

Основная часть минеральных и органических соединений фосфора в почве недоступна высшим растениям, поэтому для получения высоких урожаев вносят минеральные удобрения.

Микробиологические процессы, происходящие в почве, способствуют переводу в доступное для растений состояние минеральных и органических соединений фосфора. Их разрушение — не специфический процесс и вызывается разными микроорганизмами.

На рисунке 74 показано растворение фосфата кальция микроорганизмами, развивающимися в ризосфере пшеницы. Некоторые минеральные соединения фосфора переводятся в раствор кислотными продуктами метаболизма бактерий или водородными ионами кислых почв (например, подзолов). Даже уголекислота, выделяемая микроорганизмами при разложении органических соединений, пе-

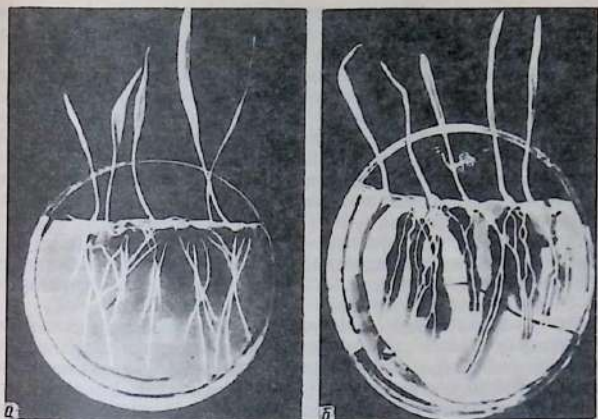


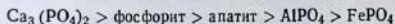
Рис. 74. Растворение $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ микроорганизмами в ризосфере пшеницы: а — в стерильных условиях около корней в агаризованной питательной среде зоны растворения отсутствуют; б — при заражении семян почвенной микрофлорой $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ около корней растворяется.

реводит в раствор двух- и трехкальциевые фосфаты, которые превращаются в водорастворимый монокальциевый фосфат:



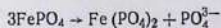
Поглощенная фосфорная кислота может быть вытеснена и другими анионами. Поэтому когда на парующих почвах при нитрификации повышается содержание азотной кислоты, то несколько увеличивается количество подвижных фосфатов.

Микробиологическая деструкция минеральных соединений фосфора происходит неодинаково легко. По возрастающей трудности разложения может быть намечен следующий ряд:



Растворяющее действие микроорганизмов на фосфаты не всегда связано с подкислением среды. Г. С. Муромцев и В. Ф. Павлова установили, что даже фосфаты алюминия и железа могут растворяться различными бактериями, грибами и актиномицетами, которые дают метаболиты, связывающие катионы фосфатов в недиссоциирующие хелатные комплексы.

В анаэробных условиях в затопляемых рисовых полях снижается окислительно-восстановительный потенциал, поэтому окисное железо восстанавливается в закисное. При этом происходит освобождение фосфора:



Для ускорения минерализации органических соединений фосфора был предложен препарат фосфоробактерин, эффективность которого будет рассмотрена в главе 21.

Калий в почве находится в виде минеральных соединений, причем основной запас его — в алюмосиликатных минералах. Из первичных минералов, содержащих калий, широко распространены калийные полевые шпаты (ортоклазы) и в меньшей степени калийные слюды (мусковит, биотит). Вторичные, или глинистые, минералы, образующиеся в процессе выветривания и почвообразования, относятся к гидроалюмосиликатам. В некотором количестве, наряду с другими элементами, в них содержится калий.

Общий запас калия довольно велик. В 1 га пахотного слоя песчаной дерново-подзолистой почвы содержится 15—20 т K_2O , в дерново-суглинистой подзолистой почве — 45—75, в черноземе — 60—75 и в сероземе — 75—90 т.

Калий, адсорбционно связанный на поверхности коллоидов (обменный), служит главным источником питания растений. Он составляет не более 0,5—1,5% общего содержания этого элемента в почве. Иногда доступного для растений калия не хватает.

Микроорганизмы играют существенную роль в повышении содержания в почве легкорастворимых соединений калия. Способность микроорганизмов разлагать алюмосиликаты была установлена в начале текущего века чешским ученым Ж. Стоклязой и польским микробиологом К. Басаликом. Позднее это явление было подтверждено другими исследователями.

Разлагать силикаты способны разные микроорганизмы. Многие из них продуцируют кислоты, обладающие большой деструктивной активностью. Особенно большую растворяющую способность имеют кислоты, дающие комплексные и внутрикомплексные соединения с элементами, входящими в состав алюмосиликатов. Из этой группы отметим продуценты полигидрокси-ди- и трикарбоновых кислот.

Большую роль в разрушении силикатов играют слизи, образуемые микроорганизмами. Чаще всего это полисахариды, содержащие уроновые кислоты. Они имеют карбоксильные и фенольные группы, которые реагируют с определенными элементами силикатов, образуя комплексные связи, что приводит к освобождению соответствующего вещества (в данном случае калия) из кристаллических решеток и переводу его в раствор.

В выветривании силикатов, по данным Р. С. Кутузовой, имеет значение биогенное содообразование. Показано, что нефелин и плагиоклаз сильно разрушаются под влиянием кислот, а кварц — щелочей.

Следовательно, распад минералов может идти под влиянием разных факторов.

Для усиления распада алюмосиликатов в почве был предложен препарат «силикатных» бактерий (см. главу 21).

БАЛАНС ОСНОВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПИТАНИЯ РАСТЕНИЙ В ПАХОТНЫХ ПОЧВАХ

Рассмотрим баланс азота в земледелии нашей страны. Минеральные азотные удобрения позволяют быстро повышать урожай, действуя практически в год внесения в почву.

Химическая промышленность поставляет сельскому хозяйству ежегодно примерно 10,9 млн. т азотных удобрений (в расчете на чистый азот), из них в почву вносят 9,6 млн. т. Дозы внесения их под разные культуры различны. Так, под хлопчатник дают до 200—250 кг азота на 1 га, что вполне достаточно. Необходимое количество азотных удобрений получают и другие технические культуры. Под зерновые культуры в среднем вносят около 30 кг/га.

Азотный фонд почвы пополняется не только минеральными, но и органическими удобрениями. Сейчас ежегодно используют около 1 млрд. т органических удобрений, содержащих 4,6 млн. т азота. В среднем на 1 га пашни приходится 14 кг азота в форме органических удобрений. Как было отмечено выше, действие навоза растягивается обычно на три года. В первый год минерализуется не более 25% органических азотсодержащих соединений. Примерно аналогичным образом используются корневые и пожнивные остатки бобовых культур. По расчетам, на площадь всей пашни их поступает около 1,2 млн. т. Из этого фонда 1 га зерновых получает 6 кг азота. Свободноживущие азотфиксаторы связывают на 1 га пашни около 20 кг азота, что на всю пахотную площадь составляет 4,25 млн. т. Допускаем, что биологически закрепленный азот в первый год используется на 15%. В небольших количествах в почву поступает азот с высеваемыми семенами и осадками.

Изложенные соображения позволяют сделать примерный расчет использования посевом зерновых культур азота из всех поступлений (табл. 30).

30. Количество азота, поступающего в почву под зерновые культуры и усваиваемого ими, кг/га

Форма азота	Внесено азота, кг/га	Используется посевом		Остается и закрепляется в почве	
		%	кг/га	%	кг/га
Минеральные удобрения	30	45	13,5	20	6,0
Органические »	14	25	3,5	45	6,3
Биологический азот бобовых растений	6	25	1,5	50	3,0
Биологический азот свободноживущих микроорганизмов	20	15	3,0	60	12,0
Азот семян	6	80	4,8	10	0,6
Азот осадков	5	40	2,0	—	—
Всего	81		28,3		27,9

Таким образом, из внесенных на 1 га под зерновые культуры 80 кг азота растения усваивают около 30 кг. Примерно такое же количество азота остается в почве — это азот органических удобрений и корневых остатков, а также азот, ассимилированный микроорганизмами. Остальные 20 кг теряются в процессе денитрификации (около 15 кг) и вымываются из почвы (около 5%).

Для среднего урожая зерновых культур требуется около 70 кг доступного азота. Его поступления, как отмечалось, дают лишь 30 кг, остальные 40 кг берутся из почвы, в основном из минеральных форм азота, образующихся при распаде гумуса. Обычно в год теряется от 0,5 до 1 т гумуса. Большое число опытов свидетельствует, что наши пахотные почвы потеряли существенное количество гумуса — иногда до 30% и более. Это снизило потенциальное плодородие окультуренных почв. Часть минерализованного из гумуса азота вымывается из почвы и теряется в виде газообразных веществ в результате химических и микробиологических процессов. Эти потери предположительно достигают 15 кг/га.

Следовательно, из поступающих в почву его источников и в результате распада гумуса потери азота достигают 35 кг/га.

Приведенные средние данные не могут быть отнесены ко всем хозяйствам. Существует немало совхозов и колхозов, получающих высокие урожаи зерновых культур (до 50—70 ц/га). В этих хозяйствах используют повышенные дозы минеральных и органических удобрений, а также большое внимание уделяют культурам бобовых растений, которые не только обогащают почву азотом, но и дают корм, богатый белком.

Целесообразно составить примерный баланс азота на территории всей пашни Советского Союза. Для этого приведен расчет, сделанный в таблице 31.

Из данных таблицы следует, что из 22 млн. т азота, поступающих в пахотные почвы, около 8 млн. т усваиваются посевами сельскохозяйственных растений. Исходя из принятого нами принципа расчетов (см. табл. 30) можно полагать, что около 8 млн. т азота остается в почве (органическое вещество, внесенное в почву, и

31. Примерный расчет ежегодного использования азота сельскохозяйственными культурами из пахотных почв СССР, млн. т

Источник азота	Внесено азота, млн. т	Усвоено растениями	
		%	млн. т
Минеральные удобрения	9,6	45	4,32
Органические »	4,6	25	1,15
Биологический азот бобовых растений	1,2	25	0,3
Биологический азот свободноживущих микроорганизмов	4,25	15	0,64
Азот семян	1,27	80	1,02
Азот осадков	1,08	40	0,44
Всего	22,00		7,87

продукты микробного синтеза), а до 6 млн. т теряется в результате денитрификации (около 4,5 млн. т) и вымывания (около 1,5 млн. т).

С урожаем сельскохозяйственных растений выносится около 15 млн. т азота. Следовательно, если из имеющихся его поступлений берется около 8 млн. т, то из почвы заимствуется до 7 млн. т азота.

Источником почвенного азота, как уже отмечалось, является гумус, минерализуемый микроорганизмами. Кроме азота, потребленного растениями, некоторое количество этого элемента (предположительно 2 млн. т) теряется в газообразной форме и вымывается из почвы. Вообще потери азота достигают 8 млн. т (6 млн. т из его поступлений в почву и 2 млн. т при минерализации гумуса).

Основными направлениями экономического и социального развития СССР на 1986—1990 годы и на период до 2000 года ставится задача повысить валовой сбор зерна до 250—255 млн. т и значительно увеличить производство кормового белка за счет расширения посевов и повышения урожайности бобовых культур. Намечается значительно увеличить поставки минеральных и органических удобрений. Расчет показывает, что намеченные рубежи повышения урожайности будут достигнуты.

Приведем некоторые данные, относящиеся к балансу фосфора. С минеральными удобрениями в пахотные почвы поступает около 7,6 млн. т P_2O_5 , а органическими — около 2 млн. т. С урожаем сельскохозяйственных культур выносится лишь около 4 млн. т. Однако доступность большинства соединений фосфора для растений ограничена. Даже хорошо растворимый в воде суперфосфат при его применении вразброс усваивается на 15%, а при рядковом внесении в 1,5—2 раза больше. Фосфорные соединения к тому же неравномерно распределяются по территории пашни. Поэтому лишь около 22% пашни содержат повышенное количество P_2O_5 , 36% среднеобеспечены фосфором, остальную площадь можно считать нуждающейся в фосфоре.

В отношении калия нужно иметь в виду, что некоторый дефицит этого элемента имеет лишь 10% пахотных земель. Около 22% среднеобеспечено калием и 68% содержит вполне достаточное его количество. С урожаем выносится около 10,5 млн. т K_2O . С минеральными удобрениями его ежегодно вносят до 6,8 млн. т, с органическими — 3,6 млн. т.

Таким образом, вклад калия, поступающего с удобрениями в пахотные почвы, весьма существен.

В заключение следует отметить, что на величину урожая влияет не только запас элементов питания, но и сорт растения, и уход за посевом.

Показателен следующий пример. На Ротамстедской опытной станции (Англия) с бессменной культурой яровой пшеницы (1852—1967 гг.) на неудобряемой делянке средний за 100 лет урожай составляет около 12 ц/га, а на удобряемой навозом и ми-

неральными удобрениями — 30 ц/га. В 1968 г. сорт пшеницы был заменен на более продуктивный и усилена борьба с вредителями. Урожай на неудобряемой деланке поднялся до 16—18 ц/га, а на удобряемой достиг более 60 ц/га.

Глава 19

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ И ТЕРМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЗАЩИТЫ УРОЖАЯ

ВЛИЯНИЕ НА МИКРООРГАНИЗМЫ ПЕСТИЦИДОВ И ИХ ТРАНСФОРМАЦИЯ В ПОЧВЕ

Химические средства защиты урожая — пестициды в настоящее время используются очень широко. В них входят гербициды, применяемые для борьбы с сорняками, фунгициды, защищающие растения от фитопатогенных грибов, инсектициды — средства защиты от вредных насекомых, нематоциды — препараты против нематод и др.

Широкое применение химических средств защиты урожая началось после 1939 г., когда швейцарский ученый П. Мюллер показал перспективность использования ДДТ (1,1-ди(4-хлорфенил)-2,2,2-трихлорэтан) при борьбе с вредными насекомыми. За свою работу Мюллер был удостоен Нобелевской премии. Открывались новые перспективы в борьбе с вредителями сельского хозяйства и с насекомыми — переносчиками болезней. Применение ДДТ в южных странах практически ликвидировало заболевание малярией, от которой гибли миллионы людей. Через некоторое время оказалось, однако, что комары, переносящие заболевание, адаптировались к пестициду, и болезнь вновь стала принимать массовый характер. Тогда перешли на использование менее токсичного аналога ДДТ — метоксихлора ($C_{16}H_{15}Cl_3O_2$).

В дальнейшем выяснилось, что ДДТ очень медленно разлагается в почве. Аккумулируясь в почве и растениях, он оказывает вредное влияние на организм человека и животных. В настоящее время во многих странах, в том числе в СССР, использование ДДТ и некоторых других пестицидов запрещено. Помимо высокой стойкости, для ДДТ и ряда других пестицидов характерна способность концентрироваться в биологических цепях. В продуктах животного происхождения они накапливаются больше, чем в растительных тканях. Получены убедительные доказательства отрицательного воздействия даже малых количеств хлорорганических соединений

на здоровье людей, и многие страны отказались от применения таких препаратов. В СССР в соответствии с утвержденными методическими указаниями проводится гигиеническая оценка новых пестицидов. Ежегодно публикуется также Список химических и биологических средств борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками и регуляторами роста растений, разрешенных для применения в сельском хозяйстве.

Неумеренное применение пестицидов загрязняет окружающую среду и приводит к гибели многих ценных представителей фауны и флоры. Вымываясь в водные бассейны, пестициды вызывают вымирание промысловых животных.

Все указанное заставляет относиться к применению пестицидов крайне осторожно и отбирать для практического использования в сельском хозяйстве менее вредные и быстро разлагающиеся соединения.

Химическая природа пестицидов весьма разнообразна — они относятся более чем к 20 различным группам соединений. Наиболее широко используют фенокси-производные, производные карбаминовой и тиокарбаминовой кислот, триазина, мочевины, урацила, аминов и т. д.

В качестве инсектицидов в больших количествах применяют фосфорорганические соединения, в меньших количествах — хлорорганические соединения и производные карбаминовой кислоты. Находят применение также различные вещества, содержащие мышьяк и растительные яды.

В качестве фунгицидов используют соединения меди, ртути и т. д.

Рассматривая трансформацию пестицидов в почве, следует отметить, что на нее влияют химические и физические факторы, сорбция почвенными частицами и т. д. Однако главный фактор, вызывающий изменение пестицидов в почве, — микроорганизмы. Их жизнедеятельность заметно не угнетается дозами пестицидов, обычно используемыми в практике.

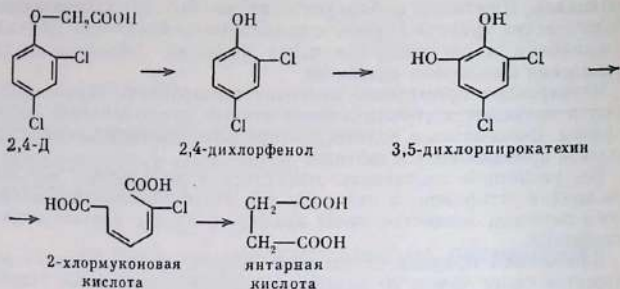
К химическим процессам, вызывающим превращения пестицидов, относится реакция гидролиза, которая часто катализируется глинистыми минералами.

Быстрота разрушения пестицидов микроорганизмами в значительной степени зависит от их химического состава. Наличие в структуре пестицида галогенов, нитрогруппы и метильной группы замедляет процесс микробной деструкции. Имеет значение положение галогена в феноксисоединениях.

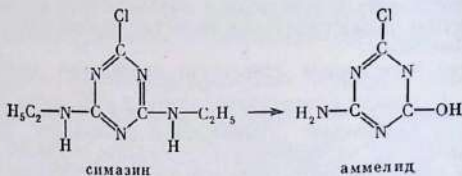
Галоген, находящийся в мета-положении, замедляет распад пестицида; соединения, имеющие галоген в пара- и орто-положении, легче разрушаются.

Наиболее легко разлагаются органические соединения фосфора, производные алифатических карбоновых кислот, производные карбаминовой и тиокарбаминовой кислот. Значительно медленнее подвергаются разрушению циклические соединения. Пример раз-

рыва бензольного кольца рассмотрен на процессе деградации широко используемого гербицида 2,4-Д:



Гербицид симазин при отщеплении боковых группировок C_2H_5 превращается в аммелид, кольцо которого в дальнейшем разрывается:

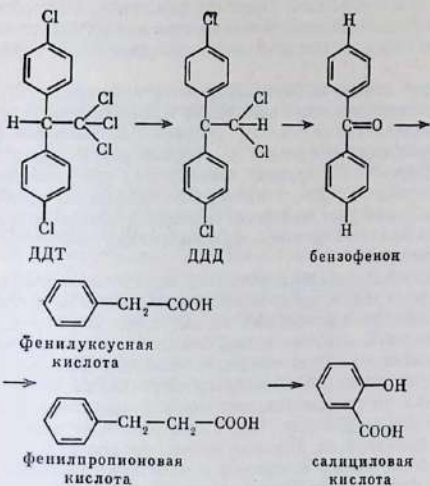


Некоторые пестициды могут разлагаться отдельными видами микроорганизмов. Так, к микроорганизмам, использующим аллиловый спирт, относится *Nocardia corallina*, *Azotobacter*, *Trichoderma vulgaris* и т. д.

Некоторые виды *Nocardia* способны ассимилировать в качестве источника углерода 4-феноксималяную кислоту и 3,4-дихлорфеноксималяную. Симазин может служить источником питания для ряда микроорганизмов. К использованию симазина способны многие виды бактерий, например представители родов *Achromobacter*, *Mycobacterium* и т. д.

Почва насыщена разными микроорганизмами, поэтому внесенные в нее химические соединения атакуются группировкой микроорганизмов, разлагающих как данный субстрат, так и продукты его распада. В некоторых случаях процесс деструкции пестицидов ускоряется наличием какого-либо органического соединения (ко-субстрата), способствующего развитию микробного ценоза, принимающего участие в разрушении пестицида.

Изложенное хорошо иллюстрируется процессом разложения одного из наиболее стойких пестицидов — ДДТ. Частичное дехлорирование осуществляется культурой *Pseudomonas aëruginosa* при добавке углеродсодержащих соединений. Лучший косубстрат — лактат. Образующийся бензофенон лучше разлагается в присутствии глицерина. Продукты его распада (фенилуксусная кислота и др.), по данным Г. К. Скрыбина, Л. А. Головлевой, используются *Ps. aëruginosa* в качестве единственного источника углерода. В природной обстановке распад ДДТ ускоряется внесением растительных остатков. Систематизированный процесс распада ДДТ приведен ниже:



В некоторых случаях смесь нескольких культур микроорганизмов активно разлагает пестицид, в то время как те же культуры, отдельно взятые, оказываются не способными вызвать его деструкцию.

Обычно гербициды вносят в почву в небольших количествах — несколько килограммов на 1 га. Водорастворимые препараты не создают в местах их внесения токсичных для большинства микроорганизмов концентраций. При распылении порошков и эмульсий (атразин, монурон и т. д.) образуются микрозоны, в которых селекционируется микрофлора, разлагающая пестицид, но основное микрораселение почвы остается не затронутым.

Обычно применяемые в практике дозировки пестицидов, как правило, не влияют на жизнь почвы. Иногда, однако, происходит задержка процесса нитрификации, так как нитрификаторы очень чувствительны к различного рода сильным воздействиям. Некоторые исследователи отмечают большую чувствительность по сравнению с другими сапрофитными микроорганизмами азотобактера и

клубеньковых бактерий. Имеются указания также на меньшую устойчивость к гербицидам микроскопических грибов и водорослей.

Отмеченная чувствительность к пестицидам относится в основном к повышенным их дозам. На основную же массу микроорганизмов даже дозы, в 50—100 раз превышающие применяемые на практике, не оказывают существенного влияния.

Несомненно, что не все микроорганизмы одинаково чувствительны к определенным препаратам. Каждое химическое соединение больше всего поражает какую-то «мишень». Разработка этого вопроса может способствовать выявлению микробиологических показателей наличия и детоксикации определенных гербицидов в почве.

Отмеченное можно проиллюстрировать примерами. Э. А. Штиной было установлено, что *Phormidium tenne* погибает при незначительных концентрациях 2,4-Д, а другие организмы (*Chlorella vulgaris*, *Nostoc punctiforme* и т. д.) весьма устойчивы к действию этого гербицида. Ю. В. Круглов показал, что чувствительность водоросли *Chlorella vulgaris* к некоторым гербицидам приближается к чувствительности растений овса. Очевидно, *Chlorella* может быть использована как тест-организм при выяснении токсичности гербицидов для растений.

Некоторые исследователи пытались определить суммарный эффект действия гербицидов на микрофлору почвы по изменению ее дыхания. В опытах, проводимых по методике Варбурга, тормозящее действие на «дыхание» почвы показывали лишь дозы гербицидов, в десятки раз превосходящие используемые на практике. Однако если энергию дыхания почвы определяют в течение длительного срока, то выявляется некоторый депрессирующий эффект даже малых доз гербицидов. Так, в опытах по изучению действия разных доз симазина на дыхание почвы, продолжавшихся 48 ч и 7 дней, различия между контролем и опытными почвами не улавливались. Однако в более поздние сроки (на 28-й и 56-й день) можно было заметить, что даже небольшая доза симазина несколько снижала выделение CO_2 почвой.

Возникает весьма важный вопрос: за какой срок обезвреживаются в почве применяемые обычно в практике дозы гербицидов. На это влияет целый ряд факторов — свойства почвы, ее температура, влажность и т. д. На быстроту распада гербицидов в почве большое влияние может оказать присутствие в ней легкодоступных микроорганизмам органических и минеральных соединений. Следовательно, без учета комплекса факторов трудно определить быстроту распада гербицида в почве. Известны случаи, когда в европейских странах ориентировались на американские данные по освождению почв от симазина. В результате недоучета особенностей климата пшеница, высеянная после кукурузы, обработанной симазинном, резко снижала урожай.

Несмотря на условность сроков распада различных гербицидов, приведенные в таблице 32 данные показательны в том отношении, что устанавливают стабильность в почве различных веществ. На-

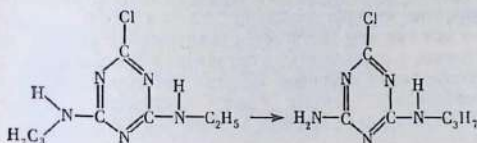
32. Примерные сроки разрушения в почве практически используемых дозировок гербицидов, месяцев

До 1	1—3	4—6	7—12	Более 12
Пропанид Ялан	2,4-Д Бетанал Далапон Пирамин Ронит Эптам	Диурон Которан Вензар	Прометрин Трихлорацетат натрия	Атразин Симазин

пример, некоторые гербициды распадаются в почве через несколько недель, другие могут сохраняться там более года, имеются и еще более устойчивые вещества.

В связи с тем что скорость детоксикации пестицидов в почвах и окружающей среде (грунтовые воды, водные бассейны и т. д.) зависит от географических, почвенных, гидрологических и других условий, весьма важно составление карты, дающей представление о способности отдельных регионов самоочищаться от вносимых в почву токсических соединений. Подобная работа начата в научно-исследовательских учреждениях нашей страны, в частности в Институте почвоведения и фотосинтеза АН СССР.

Следует отметить, что при частичном разрушении гербицида могут образоваться сильно токсичные вещества. Подобный случай имеет место, например, когда из атразина при отщеплении группировки C_2H_5 образуется хлораминоизопропиламинотриазин:



Иногда происходит конденсация веществ, образующихся из гербицидов, в трудноразлагаемые сложные соединения. Некоторые гербициды (симазин и др.), а также продукты их распада образуют с гумусовыми соединениями прочные комплексы. Это задерживает процесс детоксикации.

В отношении инсектицидов имеются данные, свидетельствующие о более быстром распаде в почве фосфоорганических соединений (обычно 1,5—4 месяца); хлорорганические соединения устойчивее.

Рассмотрим влияние пестицидов на взаимоотношения бобовых растений с клубеньковыми бактериями. Здесь отмечены значительные различия. Так, гербициды, ингибирующие фотосинтез (симазин, атразин), не действуют на образование клубеньков, но процесс азотфиксации подавляется из-за недостатка ассимилятов для клу-

беньковых бактерий. По данным Ю. В. Круглова, некоторые гербициды (например, 2М-4ХМ) депрессируют активность находящихся в клубеньках бактерий и снижают азотфиксацию. Поэтому для бобовых культур следует тщательно подбирать гербициды, и желательно употреблять их в сниженных дозах. Лучше использовать для этих культур почвы, очищенные от сорняков при выращивании предшественников бобовых.

Протравливать семена бобовых растений препаратом ТМТД целесообразно не позднее чем за две недели до посева. Заражение же посевного материала клубеньковыми бактериями надо проводить в день посева. Протравливание семян фундозолом можно делать непосредственно перед посевом одновременно с заражением их клубеньковыми бактериями.

Всесоюзным НИИ сельскохозяйственной микробиологии подготовлены и изданы Методические рекомендации по оценке токсичности пестицидов на микрофлору почв (Л., 1981).

Использование гербицидов снижает количество гумуса по сравнению с необработанными почвами. Это объясняется тем, что гербициды уменьшают поступление в почву растительных остатков сорняков.

ХИМИЧЕСКИЕ И ТЕРМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБЕЗВРЕЖИВАНИЯ ПОЧВЫ

При обезвреживании от фитопатогенной микрофлоры небольших площадей (теплицы, оранжереи, питомники и т. д.) с успехом может быть использована обработка почвы химическими веществами. Это мероприятие нередко называют частичной стерилизацией ей, так как при нем достигается уничтожение не всех микроорганизмов почвы, а лишь вредных организмов и некоторых представителей сапрофитных микробов. Помимо некоторой перегруппировки микроорганизмов почвы, при частичной стерилизации происходит переход ряда веществ в более доступную для растений форму.

Борьба с вредителями сельскохозяйственных растений путем стерилизации почвы используется довольно широко и нередко экономически очень выгодна. Например, обезвреживание почвы закрытого грунта химическими веществами обходится в 4—6 раз дешевле, чем замена зараженных почв.

К пестицидам, применяемым для стерилизации почвы, предъявляют следующие требования. Прежде всего — достаточная экспозиция токсического действия, иначе стерилизующий эффект может оказаться ничтожным. Вместе с тем срок детоксикации не должен превышать нескольких дней.

Антисептикам должна быть свойственна высокая проникаемость, способствующая их равномерному распределению в слое почвы.

К веществам подобного рода относятся формалин, цианплав, сероуглерод, карбатин, тиазон, а также препараты, имеющие в сво-

ем составе значительный процент активного хлора (хлораты, гипохлораты и хлорная известь).

Почва для теплиц и парников может быть обеззаражена антисептиками в штабелях. В разных местах штабеля вводят антисептик, сверху штабель прикрывают каким-либо материалом для предупреждения улетучивания антисептика. Можно поверхность почвы промочить водой на 2—3 см. Влажный слой почвы выполняет роль мульчи. Этот слой перед использованием обеззараженной почвы удаляют.

Частично стерилизовать почву для парников и теплиц можно высокой температурой (пастеризация). Обычно для этого горячий пар вводят в почву при помощи специальных приспособлений. Многие фитопаразиты погибают при температуре 55—60°C, в связи с этим почву пастеризуют нагреванием ее до 70°C в течение 1 ч. За это время погибают грибы *Sclerotinia* и *Phytophthora*. Другие патогенные организмы гибнут еще быстрее. Если температура прогрева ниже 70°C, то увеличивают экспозицию прогревания.

Глава 20

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И РАСТЕНИЙ

МИКРООРГАНИЗМЫ ЗОНЫ КОРНЯ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РАСТЕНИЕ

На поверхность корней и надземных частей растений выделяются органические соединения, синтезированные растительным организмом. Это явление называется экзосмосом.

В зависимости от многих причин интенсивность экзосмоса может быть большей или меньшей. Количество выделяемых за период жизни растений соединений составляет до 10% их массы и более.

При корневом экзосмосе образуются различные органические кислоты — яблочная, янтарная, винная, лимонная, щавелевая и др. Обнаружены и сахара, представленные альдозами и кетозами, а также некоторые аминокислоты (аланин, лизин и др.). Состав продуктов экзосмоса отдельных растений в той или иной степени отличается.

В выделениях корней имеются органические соединения большой физиологической активности — витамины, ростовые вещества, иногда алкалоиды и т. д. Многие из указанных соединений в некоторых количествах выделяются и надземными органами растений. В связи с этим на корнях и надземных органах растений размножается обильная сапрофитная микрофлора.

Рассмотрим состав микрофлоры зоны корня. Обычно выделяют «корневые» микроорганизмы, поселяющиеся на самой поверхности корня, — микрофлора ризопланы. Выделяют также группу микробов, обитающих в слое почвы, прилегающем к корню, —

33. Групповой состав микрофлоры ризосферы пшеницы, тыс. на 1 г почвы

Фаза развития растения	Бактерии	Из них		Актиномицеты	Грибы	Целлюлозоразлагающие микроорганизмы
		неспоросные	бациллы			
Кущение	300 000	295 000	5000	20	40	100
Колошение	420 000	417 000	3000	80	55	100
Цветение	560 000	546 000	14 000	100	70	1000
Созревание	280 000	205 000	75 000	300	45	10 000

микрофлора ризосферы. Количество микроорганизмов на поверхности корня и в ризосфере в сотни раз больше, чем в остальной массе почвы. В зоне молодого корня в основном размножаются неспорообразующие бактерии (*Pseudomonas*, *Mycobacterium* и т. д.). Здесь же встречаются микроскопические грибы, дрожжи, водоросли и другие микроорганизмы.

Состав микрофлоры ризосферы меняется с возрастом растений. Например, бациллы, актиномицеты и целлюлозоразлагающие микроорганизмы, практически отсутствующие в ризосфере молодых растений, появляются при более позднем развитии последних. Очевидно, отмеченная группа микроорганизмов живет не за счет экзосмоса растений, а принимает активное участие в разложении отмирающих корней.

Представление о групповом составе микрофлоры растений и об изменении соотношения отдельных групп микроорганизмов с возрастом растений дает таблица 33.

Микрофлора поверхности корня несколько отличается по составу от микробного ценоза ризосферы. Так, в ризоплане богаче представлен род *Pseudomonas*, здесь слабо размножаются *Azotobacter*, целлюлозоразлагающие и некоторые другие микроорганизмы, которых много в ризосфере.

Имеются попытки доказать, что зоне корня каждого вида растений свойственны строго специфические группы микроорганизмов, практически не размножающиеся в ризосфере других растительных организмов. Убедительных данных для подобного утверждения, однако, пока нет. Тем не менее можно отметить некоторую перегруппировку отдельных микроорганизмов в зоне корня различных растений. Это определяется составом корневых выделений и органических остатков, которые у отдельных видов растений имеют некоторые особенности. Например, известно, что клубеньковые бактерии обильнее размножаются в ризосфере бобовых растений. *Azotobacter* лучше развивается в зоне корня одних растений, чем других. В зоне корня отдельных растений размножаются некоторые специфические грибы и т. д.

Каково же значение имеют сапрофитные микроорганизмы зоны корня в жизни растений? Прежде всего нельзя отрицать их роль как разрушителей органических и минеральных соединений, подготавливающих ионную пищу для растений. Определенное

влияние на растения могут оказать микроорганизмы зоны корня вследствие их способности синтезировать витамины. Установлено, например, что бактерии ризосферы вырабатывают тиамин и ряд других витаминов. Ими синтезируются также ростовые вещества — гиббереллин и гетероауксин. Микрофлора зоны корня представляет собой определенный биологический барьер, влияющий на взаимоотношения высших растений и паразитов. Многие сапрофитные микроорганизмы вырабатывают антибиотические вещества, подавляющие развитие фитопаразитов.

Велика роль микрофлоры, окружающей корень растения, в потерях азота путем денитрификации.

СИМБИОЗ МИКРООРГАНИЗМОВ С РАСТЕНИЯМИ

Некоторые растения вступают в тесные симбиотические отношения с микроорганизмами почвы. Внедряясь в корневую систему или даже наземные ткани растений, они питаются там органическими соединениями, синтезированными растением-хозяином. В свою очередь, растения получают от микробов-симбионтов ряд необходимых им веществ. Характер последних в отдельных случаях может варьировать.

Выше был рассмотрен симбиоз бобовых растений с азотфиксирующими бактериями рода *Rhizobium* и растений других семейств с актиномицетами рода *Frankia*. Установлено также, что корневая система подавляющего большинства наземных растений образует с грибами так называемую микоризу, которая несомненно имеет симбиотический характер.

Крупной вехой в развитии учения об отношениях почвенных грибов и высших растений стала работа русского ученого Ф. М. Каменского, изучавшего в конце прошлого века анатомическое строение корней подъельника (*Monotropa hypopitys*). Он установил, что корни этого растения, особенно их окончания, покрыты толстым слоем грибного мицелия. Каменский сделал заключение о возможности симбиотических взаимоотношений между грибом и корневой системой подъельника.

В конце прошлого века русский ученый В. К. Варлих нашел, что корни орхидей пронизаны мицелием гриба, причем эти растения без гриба-симбионта не растут.

Последующие работы, особенно немецкого исследователя Б. Франка, позволили установить наличие грибного мицелия на активной части корней лиственных и хвойных древесных пород. Сложный комплекс, образованный корнями растений и грибом, Франк назвал микоризой, что в буквальном переводе означает грибной корень.

К настоящему времени установлено, что наличие и отсутствие микориз, а также особенности их строения зависят преимущественно от систематического положения растения-хозяина. У высших споровых растений не имеют микориз спорофиты плаунов и хвощей.

Голосеменные все микотрофны. Среди покрытосеменных не имеют микориз осоковые, ситниковые, капустные (крестоцветные), маковые, гвоздичные, большинство гречишных и маревые. Бобовые растения, находящиеся в симбиозе с бактериями, имеют микоризу. Таким образом, микоризы широко распространены среди самых разнообразных групп растений, как семенных, так и архегонияльных. Водные растения не имеют микоризы.

Внешний вид и внутренняя структура микориз могут сильно варьировать. Различают эктотрофную, эндотрофную и переходную (эктоэндотрофную) микоризы. Между этими типами микориз могут быть всевозможные варианты. Подробное описание типов микориз сделано И. А. Селивановым.

Самый распространенный — эндотрофный тип микоризы. Он свойствен травянистой растительности, многим деревьям и курстарникам. При формировании эндотрофной микоризы мицелий гриба распространяется не только между клетками коровой паренхимы, но и внедряется в них (рис. 75). Клетки коровой паренхимы остаются жизнеспособными и переваривают внедрившийся в них мицелий. Особенно заметен этот процесс в клетках, расположенных более глубоко. Он напоминает явление фагоцитоза. Под влиянием содержимого клетки внутриклеточный мицелий иногда обра-

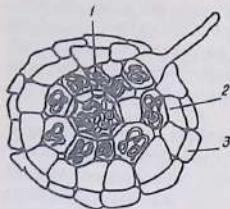
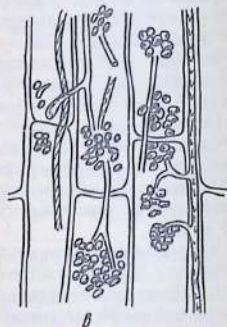


Рис. 75. Эндотрофная микориза у пшеницы:

1 — паренхимные клетки со скоплением гриба (в некоторых клетках мицелий гриба растворяется); 2 — эндодерма; 3 — эпидермис; а — клетки паренхимы с гифами гриба; б — образование везикул; в — образование арбускул.



зует клубки (пелотоны), а нередко древовидные разветвления (арбускулы) или вздутые окончания (спорангиолы и везикулы). Не исключена возможность, что спорангиолы в некоторых случаях представляют собой лизирующие арбускулы.

У корней с эндотрофной микоризой часть мицелиальных окончаний выходит в почву. Такие гифы называются эмиссионными. Они не так густы и не образуют грибного чехла, как при эктотрофной микоризе. Поэтому корневые волоски у растений с эндотрофной микоризой обычно сохраняются.

Довольно распространена эктотрофная микориза. Она свойственна главным образом хвойным растениям и «сережкоцветным покрытосеменным», реже встречается у других систематических групп растений.

В этом случае корень окутывается достаточно плотным грибным чехлом, от которого во все стороны распространяется густая сеть гиф. Эктотрофная микориза может различаться по цвету мицелиального чехла, она бывает беловатой, серой, розовой, бурой и других тонов. Различают микоризу с войлочной поверхностью, волосистую или щетинистую и гладкую (рис. 76).

При эктотрофной микоризе грибные гифы проникают в корень на небольшую глубину, ограничиваясь преимущественно межклетниками эктодермы. Здесь гифы, переплетаясь, образуют густую сеть, названную гартиговской (по имени обнаружившего ее ученого Р. Гартига). При эктотрофной микоризе плотный грибной чехол часто окутывает корни так, что корневые волоски исчезают, а вода и питательные вещества из почвы поглощаются мицелием гриба.

Наружный слой клеток коры корня подвергается более или менее полному разрушению. Под грибным чехлом находится слой клеток с большим количеством дубильных веществ. Главные окончания корней (ростовые окончания) иммунны к грибу и не образуют микоризы. Рост их в длину продолжается все лето, что дает возможность охватить корнями большой объем почвы.

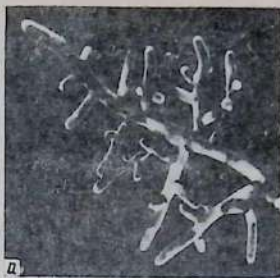


Рис. 76. Микориза на корнях древесных растений:

а — гладкая микориза на корнях сосны (по Б. Бьеркману); б — щетинистая микориза на корнях дуба (по А. Хатчу).

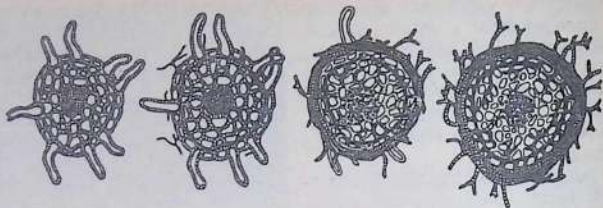


Рис. 77. Формирование эктотрофной микоризы у рябины. Наблюдается постепенное образование грибом сети Гартига и микоризного чехла, что приводит к редукции корневых волосков.

Эктотрофная микориза — однолетнее образование, каждый год она возобновляется. Формирование микоризы показано на рисунке 77, который следует рассматривать как схему, структура микоризы может довольно сильно различаться даже у одного и того же растения.

Микориза переходного типа совмещает в себе черты, свойственные эктотрофной и эндотрофной микоризам.

Иногда наблюдается перитрофная микориза. В данном случае грибы не вступают с растениями в тесную связь. Они поселяются в ризосфере, окутывая корень.

От истинных микориз следует отличать псевдомикоризы, образуемые паразитными грибами. Они лишь внешне напоминают микоризы, но поражают все ткани корня и имеют иную физиологическую основу. Кроме вреда, они ничего растению не приносят. Грибы же микоризообразователи значительно усиливают и улучшают развитие корневой и надземной частей растения.

По отношению к грибам-микоризообразователям высшие растения могут быть разделены на следующие группы.

1. Облигатно-микотрофные растения, не развивающиеся без гриба (подъельник, орхидея).

2. Растения, улучшающие свой рост и развитие при наличии микоризы. К этой группе относятся многочисленные древесные и кустарниковые породы (дуб, граб, хвойные и т. д.), в нее входят и травянистые растения, в том числе сельскохозяйственные культуры.

3. Растения, развивающиеся без микоризы, — водные и небольшая группа наземных.

Грибы-микоризообразователи древесной и особенно травянистой растительности изучены еще недостаточно. Установлено, однако, что эндомикоризные грибы относятся к семейству Endogonaceae (виды *Glomus* и *Sclerocystis*).

Микоризу у одного и того же растения могут образовать разные грибы, способные к симбиозу с ним. С другой стороны, один и тот же гриб способен давать микоризу с различными растениями. Впрочем, у ряда грибов проявляется известная специфичность. Этим

объясняется очень характерный состав шляпочных грибов в различных по составу древесных породах лесах.

Условия, способствующие хорошему росту растений, как правило, улучшают формирование у них микоризы. Благоприятное влияние на образование микоризы оказывают органические и большинство минеральных удобрений. Внесение азотных удобрений подавляет ее формирование. Это объясняется, вероятно тем, что наличие в растении значительных количеств азота способствует переработке углеводов в белки, вследствие чего ухудшается питание гриба-симбионта.

Исследование распространения микориз в различных ландшафтно-географических зонах показывает, что в тундровых и пустынных фитоценозах симбиотические связи высших растений с грибами заметно ослабевают. В лесной и степной зонах, по данным И. А. Селиванова, микотрофные виды растений преобладают над немикотрофными.

Остановимся на значении грибов-микоризообразователей для растений. Грибной мицелий, окружающий корень, увеличивает его рабочую поверхность. Поэтому корневой системой растения лучше поглощаются из почвы питательные вещества. Радиоактивные соединения фосфора, например, быстрее ассимилируются корнями растений при наличии у них микоризы. Роль микоризных грибов в фосфорном питании растений подробно изучена Г. С. Муромцевым с сотрудниками. Показано, что фосфор, в основном в форме полифосфатов, со значительной скоростью транспортируется гифами грибов в ткани растений. Гифы микоризных грибов поглощают фосфор из почвы за пределами обедненной этим элементом прикорневой зоны. Они также способны использовать значительно более низкие концентрации фосфора из почвенного раствора, чем корни растений. Очевидно, микоризные грибы могут ассимилировать труднодоступные растениям фосфаты алюминия и железа.

Растения с микоризой более легко поглощают влагу при ее дефиците в почве и поэтому легче переносят засуху. Многие органические соединения могут минерализоваться грибами-микоризообразователями, в результате чего улучшается питание растения. Некоторые грибы-симбионты разрушают гумус. Грибы-микоризообразователи продуцируют биологически активные вещества и благодаря этому могут содействовать росту растений.

Подавляющее большинство грибов-микоризообразователей не могут фиксировать молекулярный азот и как накопители азота никакого значения не имеют. Исключением, по-видимому, является гриб *Rhizoglyphus* — симбионт вереска и некоторые симбионты сосны.

Образование микориз возможно, лишь если в почве имеются соответствующие грибы. Обычно в микробном ценозе почвы они есть. Однако в некоторых случаях, например при степном лесоразведении и рекультивации земель, когда в почве отсутствуют грибы-микоризообразователи древесных растений, целесообразно их внесение (см. главу 21).

ЭПИФИТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ РАСТЕНИЙ И ХРАНЕНИЕ УРОЖАЯ

Часть микроорганизмов, развивающихся в зоне корней растений, во время их вегетации переходит на надземные органы и продолжает здесь размножаться. Некоторое число микробов заносится на поверхность растений с пылью и насекомыми.

Микроорганизмы, развивающиеся на поверхности растений, получили название эпифитов, или микробов филлосферы. Эти микроорганизмы не паразитируют на растении, а растут за счет нормальных выделений его тканей и имеющихся на его поверхности небольших количеств органических загрязнений (пыль и т. д.).

Довольствоваться скудными запасами питательных материалов на поверхности растений могут далеко не все микроорганизмы. Поэтому состав эпифитной микрофлоры растений очень специфичен.

До 80% общего количества эпифитов составляют клетки *Erwinia herbicola* (*Pseudomonas herbicola*). Эта неспорообразующая бактерия на мясо-пептонном агаре образует золотисто-желтые колонии. В некотором количестве здесь обнаруживаются и другие бактерии, в частности фиксирующие молекулярный азот. Очевидно, им принадлежит определенная роль в азотонакоплении. По данным М. М. Умарова, в филлосфере фиксируется около 15% молекулярного азота от общего количества азота, связываемого небобовым растением при помощи свободноживущих микроорганизмов. Бацилл и актиномицетов среди эпифитных микроорганизмов мало, чаще встречаются зародыши разных грибов (*Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* и т. д.).

Существование эпифитных микроорганизмов на здоровом растении в значительной мере связано с климатом. Во влажную погоду их численность возрастает, в сухую, наоборот, уменьшается. У тех растений, которые интенсивнее выделяют продукты обмена на поверхности тканей, микрофлора богаче и разнообразнее.

Микроорганизмы находятся не только на стебле, листьях и других надземных органах растений, но и на семенах. Исключение составляют лишь семена, плотно закрытые плодовыми или семенными оболочками, например плоды бобовых культур. В таких случаях до момента раскрытия оболочек семена практически лишены микрофлоры.

Во время уборки и обмолота зерно сильно загрязняется микроорганизмами. Большое значение при этом имеют пыль и почва. Попадая на зерно, они сильно загрязняют зерновую массу микробами.

Степень обсеменения различного зерна микроорганизмами неодинакова. Здесь сказываются индивидуальные особенности растения, условия созревания зерна и морфологические его признаки. Так, бороздка, шероховатая поверхность эпидермиса или цветочные пленки способствуют скоплению на поверхности зерна большого количества пыли и микрофлоры. Поэтому на зерне злаковых

растений больше микроорганизмов, чем на семенах некоторых масличных или бобовых с гладкой поверхностью. Последние к тому же созревают в бобах и до обмолота защищены от попадания микроорганизмов.

Воздействие эпифитных микроорганизмов на растительный организм может быть очень разнообразным в зависимости от окружающих условий. В первые этапы прорастания зерна эпифитные микроорганизмы начинают размножаться и переходят на корни и проросток. При пониженной температуре интенсивнее развиваются более холодоустойчивые микроскопические грибы, среди которых имеются факультативные и облигатные паразиты, в результате чего резко понижается полевая всхожесть зерна. Предварительное протравливание семян сильно уменьшает вред, причиняемый эпифитными грибами.

Большой интерес представляют данные, показывающие, что протравливание семян кукурузы дает наибольшую эффективность в условиях холодного климата. Это вполне понятно, так как при низкой температуре почвы грибы более агрессивны, а иммунитет растений снижен. В таблице 34 приведены результаты работы К. Я. Калашникова с гибридом кукурузы ВИР 42МВ, лабораторная всхожесть которого 99%. Семена кукурузы протравливали 80%-ным ТМТД.

В северной зоне СССР кукурузу можно высевать, не ожидая прогрева почвы, без ущерба, если применять «гидрофобилизацию» ее семян. Суть этого метода, как показано С. В. Крыловым, заключается в покрытии семян водонерастворимой, но проницаемой для воды и воздуха пленкой, содержащей пестициды, предохраняющие семена и всходы от грибных и бактериальных болезней и вредителей.

В полном соответствии с изложенным находятся результаты опытов Л. А. Незговорова, который нашел, что рассада страдает от холода меньше в прогретой почве. Это можно объяснить уничтожением фитопаразитов.

Эпифитные микроорганизмы, размножаясь на поверхности растений, создают биологический барьер, препятствующий проникновению паразитов в растительные ткани. Усиливая размножение эпифитной микрофлоры опрыскиванием растений питательными для

34. Влияние протравливания семян кукурузы на их полевую всхожесть, %

Место опыта	Непротравленные	Протравленные
Ленинградская область	10	54
Бурятская АССР	23	44
Рязанская область	52	57
Новосибирская область	49	70
Кустанайская область	77	82
Киевская область	90	96
Крым	98	100

них растворами, удавалось увеличить антагонистическое действие эпифитов к фитопатогенным микроорганизмам. В принципе с некоторыми болезнями растений можно бороться, воздействуя на их эпифитную микрофлору.

Большую роль эпифитные микроорганизмы играют при хранении зерна и семян. При созревании зерна влажность сильно снижается и достигается уровня, когда размножение микроорганизмов становится невозможным. В спелом зерне вся влага находится в связанном состоянии и недоступна микроорганизмам.

От чего же зависит развитие на зерне и семенах микроорганизмов, а следовательно, порча этой продукции? Прежде всего от влажности зерна и температуры окружающей среды.

Отдельные группы микрофлоры начинают развиваться на зерне при разных уровнях влажности. Так, при температуре около 15–20°C некоторые грибы могут размножаться на зерне пшеницы и кукурузы с влажностью 14,5–15%, а бактерии — при увлажнении зерна пшеницы до 17,5–18%. Для зерна различных культур имеется своя критическая влажность, при которой на нем возможно размножение микроорганизмов. На семенах бобов при указанной выше температуре грибы развиваются при влажности 16%, подсолнечника — 7–9%. Это зависит от количества связанной воды у различных семян, что определяется их структурой и химическим составом. Микроорганизмы начинают развиваться на зерне, лишь когда в нем появляется свободная вода, то есть степень увлажнения превышает уровень связанной воды.

Степень увлажнения хранящегося зерна зависит от влажности окружающего воздуха. К настоящему времени установлены значения равновесной влажности семян и зерна растений при различной влажности воздуха. Руководствуясь этими показателями, можно создавать благоприятные условия для хранения зерна и семян.

Развитие микроорганизмов на зерне и семенах зависит также от температуры. Эта зависимость отмечается только для несколько увлажненного материала, так как на сухом зерне независимо от температуры микроорганизмы не развиваются. При повышенной влажности зерна микроорганизмы размножаются тем быстрее, чем выше температура. На рисунке 78 приведена схема зависимости влияния влажности зерна и температуры среды на развитие различных групп микроорганизмов на зерне пшеницы. При температуре 10°C даже доволь-

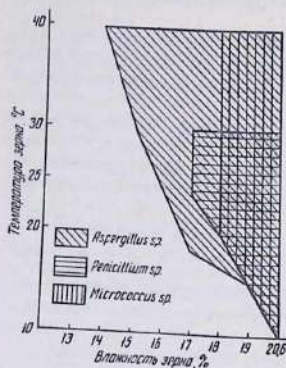


Рис. 78. Влияние температуры и влажности зерновой массы пшеницы на развитие микроскопических грибов и микрококков.

но влажное зерно (18—19% влаги) может хорошо храниться, а при 15—20°C оно начинает быстро плесневеть и портиться бактериями. Для успешного хранения зерна при более высокой температуре его влажность необходимо снизить.

Активное развитие микроорганизмов в зерновой массе различных культур при одной и той же степени увлажнения начинается в разные сроки. Пшеница, рожь, ячмень, горох, бобы и гречиха более устойчивы. В просе, кукурузе и подсолнечнике микроорганизмы развиваются быстрее и интенсивнее.

При подмокании зерна свойственная ему эпифитная микрофлора быстро исчезает. Начинают развиваться разные плесени, преимущественно представители родов *Penicillium* и *Aspergillus*. Последний род преобладает при повышенной температуре (выше 25°C). Из бактерий на зерне сначала обильно размножаются микрококки, полностью вытесняющие *Erwinia herbicola*, позднее появляются разнообразные неспороносные палочки, а при повышенной температуре — бациллы (*Bacillus mesentericus*, *Bac. subtilis* и др.).

Следовательно, по составу микрофлоры зерна можно судить об условиях его хранения.

При более или менее длительном развитии микроорганизмов в результате их жизнедеятельности масса зерна может разогреться. Зерновые массы имеют низкую теплопроводность и поэтому хорошо аккумулируют тепло. Наряду с микроорганизмами тепло выделяется вследствие дыхания зерна, развития насекомых и т. п. Глубоко зашедший процесс разогревания зерна приводит к повышению его температуры до 60°C. Зерно при этом нередко приобретает темную окраску — «обугливается», так как в нем образуются темноокрашенные соединения меланоидной природы.

Сохранность урожая овощей и плодов, имеющих большую влажность, определяется их иммунитетом и созданием внешней среды, предупреждающей развитие микроорганизмов на их поверхности.

РАЗВИТИЕ НА РАСТЕНИЯХ ТОКСИГЕННЫХ ГРИБОВ

К биологически активным веществам, вырабатываемым некоторыми группами микроорганизмов, следует отнести токсины — вещества, вызывающие заболевания высших организмов. Токсины вырабатываются как патогенными микроорганизмами, так и некоторыми сапрофитными. Существуют токсины, связанные с протоплазмой микроорганизмов (эндотоксины), другие же выделяют микробами во внешнюю среду (экзотоксины).

При развитии на злаках или на кормах некоторых грибов накапливаются ядовитые продукты, вызывающие иногда тяжелые отравления, — микотоксикозы. В ряде случаев виновниками пищевых и кормовых отравлений могут быть бактерии.

Примером микотоксикоза может служить эрготизм — болезнь человека и животных, возникающая при потреблении зерна, зара-

женного спорыньей (сумчатый гриб *Claviceps purpurea*). Гриб поражает растения в поле. При этом в колосках злаков образуются склероции гриба, обычно называемые рожками. Ядовитыми свойствами обладают собственно рожки, и перед размолом зерна их следует удалять из зерновой массы. Токсичное свойство рожков объясняется присутствием в них ряда алкалоидов — эргокрестина и его изомеров, эргобазина и близких к нему соединений. Основа этих алкалоидов — лизергиновая кислота, которая относится к производным индола. Она связана с одной или несколькими аминокислотами.

Из рожков спорыньи получают ценные фармацевтические препараты, но примесь ее к зерну вредна. Эрготизм протекает различно. В основном поражается пищеварительный тракт, что сочетается с расстройством нервной системы.

Другой гриб из только что описанного рода — *Claviceps paspali* поселяется на травах рода *Paspalum* (двурядная гречиха и др.), образуя на их колосках шаровидные склероции, содержащие токсические вещества. Отравление, вызываемое грибом у скота, получило название клавицепстоксикоза. Наиболее характерный симптом этого заболевания — расстройство координации движения. Профилактика клавицепстоксикоза заключается в недопущении использования корма, если в нем обнаружены склероции. Специфические средства лечения не разработаны.

Тяжелые заболевания людей могут вызвать грибы рода *Fusarium*, развивающиеся на вегетирующих или скошенных злаках. Во влажном климате на злаках может паразитировать *Fusarium graminearum*. Токсин, накапливаемый этим грибом в зерне, вреден для людей и животных. Хлеб, выпеченный из муки фузариозного зерна, вызывает симптомы, близкие к опьянению. Это заболевание получило название «пьяный» хлеб. Химическая природа токсина точно не установлена. Очевидно, в нем содержатся глюкозиды и алкалоиды.

Отравления людей наблюдаются при употреблении в пищу несвоевременно убранных, перезимовавших под снегом зерновых культур. На них развивается гриб *Fusarium sporotrichiella*, образующий сильнотоксические соединения. К токсину чувствительны не только люди, но и многие животные. Отравление большим зерном людей сначала называли септической ангиной, так как оно начиналось с признаков, близких по симптомам к ангине. Позднее этот микотоксикоз стал называться алиментарно-токсической алейкией — болезнь сопровождалась склонностью к кровоточивости, резким уменьшением числа лейкоцитов за счет гранулоцитов и другими симптомами алейкии. Из токсина *Fusarium sporotrichiella* выделен сапонин, который, очевидно, связан с холестерином. В этом токсине имеются и соединения, относящиеся к стеролам циклопентафенантренового ряда. В связи с тем что детально токсин пока не изучен, меры специальной профилактики и лечения фузариотоксикозов не разработаны.

Корм, пораженный токсическим грибом *Stachybotris alternans*, служит причиной тяжелого заболевания животных. К токсину чув-

ствителен и человек. Данное заболевание называется стахиботри-токсикозом. При болезни возникают некрозы слизистой оболочки ротовой полости и последующих отделов пищеварительного тракта. Из пищеварительного тракта токсины проникают в центральную нервную систему, вызывая тяжелые поражения в мозге. У людей, работающих с таким кормом, также может наблюдаться поражение слизистых оболочек, вызванное этой болезнью. Специфические средства профилактики и лечения стахиботритоксикоза не разработаны.

В случае потребления грубых кормов, на которых развился гриб *Dendrodochium toxicum*, происходит молниеносная гибель лошадей, наступающая при симптомах расстройства сердечно-сосудистой системы и подавления кроветворения. При слабом отравлении наблюдается затяжная болезнь с поражением слизистых оболочек рта и кишечника. Попадание спор гриба на слизистые оболочки человека вызывает их воспаление. Описанная болезнь носит название дендродохиотоксикоза. Химическая природа токсина не установлена.

Отравления животных кормами могут также вызвать грибы из родов *Aspergillus* (аспергиллотоксикоз), *Penicillium* (пенициллотоксикоз) и *Mucor* (мукоромикоз).

Токсины образуются и другими грибами, развивающимися на кормах, поэтому скармливание заплесневевших кормов недопустимо. Работа с ними также может вызвать заболевание людей, так как споры грибов, содержащие токсические вещества, попадают в полость рта и в дыхательные пути и служат причиной остро протекающих заболеваний (зерновая лихорадка и т. д.).

Очень сильный токсин, поражающий нервную систему, продуцирует анаэроб *Clostridium botulinum*. Заболевание животных ботулизмом наблюдается при скармливании им недоброкачественных кормов, а люди могут отравиться при потреблении недоброкачественных колбас, консервов и других продуктов, в которых развивается указанный микроорганизм.

Глава 21

МИКРОБНЫЕ ЗЕМЛЕУДОБРИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

ИНОКУЛЯЦИЯ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Вскоре после того, как М. Бейеринк (1888) изолировал клубеньковые бактерии бобовых растений, возникла идея использовать эти бактерии для улучшения образования клубеньков и усиления фиксации атмосферного азота. Впервые препарат клубеньковых бакте-

рий под названием «нитрагин» был приготовлен в 1896 г. в Германии Ф. Ноббе и Л. Гильтнером. Позднее под различными наименованиями культуры клубеньковых бактерий начали готовить в других странах. В 1906 г. в Англии В. Боттомлей стал производить «нитрагин», в 1907 г. в США Ф. Гаррисон и Б. Барлоу предложили соответствующий препарат «нитрокультура». В том же году в России Л. Т. Будинов начал применять препарат *Rhizobium*, именовавшийся здесь «нитрагином».

В настоящее время препараты клубеньковых бактерий широко используют в разных странах под различными названиями. Так, во Франции они именуется *N-germ*, в Чехословакии — нитразон, в СССР — нитрагин, ризоторфин и т. д.

Использование препаратов клубеньковых бактерий для заражения семян бобовых растений совершенно необходимо, когда в данной местности вводятся новые культуры бобовых и в составе флоры нет перекрестно заражающихся с ними растений. Такая обстановка возникла в нашей стране при возделывании соевых бобов в новых зонах. При этом клубеньков на корнях бобовых растений практически не было. Инокуляция обеспечивала образование клубеньков и, следовательно, осуществление азотфиксации. В результате увеличались урожай и содержание белка в растительной массе и зерне.

В целесообразности применения инокуляции для новых культур бобовых растений, а также вновь осваиваемых земельных площадей нет сомнения. Значительно труднее решается вопрос о старопашотных, хорошо окультуренных почвах, на которых уже давно возделываются определенные виды бобовых растений. Можно предположить, что в таких почвах уже сложились достаточно стабильные микробные ценозы, в составе которых имеются и клубеньковые бактерии культурных бобовых растений. Нужна ли здесь инокуляция и будет ли она себя оправдывать?

Этот вопрос интересует исследователей давно. Для его проверки были поставлены многочисленные опыты. В европейской части СССР массовые опыты с инокуляцией разных бобовых культур были проведены Е. Н. Мишустиним и В. В. Бернардом. Результат оказался положительным, и в большинстве случаев инокуляция дала заметное увеличение урожая. Лучший эффект отмечался на кислых почвах.

Как же объяснить положительное действие заражения бобовых растений культурой *Rhizobium* в тех случаях, когда почвы давно освоены и имеют в составе своей микрофлоры клубеньковые бактерии? Во-первых, в природных условиях может происходить перекрестное заражение, то есть высеваемые бобовые растения заражаются клубеньковыми бактериями близких групп растений. В таких случаях клубеньки хотя и образуются, но функционируют неполноценно. При искусственной инокуляции в корень бобового растения проникает активная раса *Rhizobium*, нанесенная на высеваемые семена. Во-вторых, клубеньковые бактерии, имеющиеся в почве, не занятой бобовыми растениями, существуют, как обычные

сапрофиты. Нередко вследствие ряда причин почва оказывается неблагоприятной средой для клубеньковых бактерий. Их количество существенно уменьшается, а активность снижается. Кислые почвы, например, вредно действуют на азотфиксирующую способность клубеньковых бактерий, и при сапрофитном существовании происходит резкое снижение их ценных свойств. Поэтому в таких случаях естественное заражение не дает эффективного симбиоза, и здесь хорошо использовать препарат *Rhizobium*.

Массовые опыты с нитрагинизацией, проведенные во Всесоюзном НИИ сельскохозяйственной микробиологии главным образом на территории европейской части страны, показали целесообразность и эффективность рассматриваемого агроприема. Об этом свидетельствуют данные таблицы 35.

Существенное повышение урожайности от нитрагинизации бобовых культур (люцерны, клевера, люпина, гороха, сои) получено в Сибири в опытах Г. Н. Блинкова.

Довольно широко искусственная инокуляция бобовых культур клубеньковыми бактериями проводится в Чехословакии, Болгарии, Польше, а также в США, Канаде, Франции, Швеции и других странах.

Наиболее целесообразно экспериментально установить территориальные зоны, где инокуляция дает хороший результат. Такая работа, например, проведена во Франции лабораторией почвенной микробиологии Национального центра агрономических исследований в Дижоне с люцерной — распространенной здесь бобовой культурой. Выявлено, что инокуляция необходима на кислых почвах, часто она приносит пользу на декальцированных почвах, почвах побережья Атлантического океана и в ряде других мест. Заметного эффекта от заражения не наблюдалось на богатых кальцием и известкованных почвах. В общем опыт французских исследователей подтвердил точку зрения советских ученых на условия, в которых целесообразна инокуляция.

35. Эффективность нитрагинизации основных бобовых культур в СССР

Культура	% опытов с достоверной прибавкой	Урожай в контроле	Достоверная прибавка урожая	% прибавки урожая к контролю
Горох:				
зерно	40	21,4	1,1	5,1
зеленая масса	64	147,5	15,5	11,8
Соя	84	17,9	4,0	22,3
Люпин:				
зерно	42	19,0	1,8	9,5
зеленая масса	81	269,0	40,5	15,1
Люцерна (зеленая масса)	92	360,0	56,0	15,5
Клевер (сено)	75	60,5	5,0	8,3
Фасоль	45	25,3	2,5	9,9
Чина	75	25,8	2,0	7,7
Вика (зеленая масса)	75	180,0	14,0	7,8
Эспарцет	60	118,0	16,0	13,6

Следует отметить, что бактеризация не только увеличивает урожай бобовых растений, но и улучшает его качество. В растениях, зараженных активными расами клубеньковых бактерий, значительно больше белка и витаминов группы В.

Поскольку положительное влияние инокуляции распространяется и на корни растений, то после сбора урожая пожнивные остатки более эффективно действуют на последующую культуру севооборота. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в значительном числе случаев применение препаратов клубеньковых бактерий целесообразно.

Препарат, содержащий клубеньковые бактерии, готовят разными методами. Чаще всего используют торфяной нитрагин — ризоторфин. Он представляет собой стерилизованный γ -облучением низинный торф, к которому добавлены питательные для клубеньковых бактерий вещества. Расфасованную массу выдерживают в термостате для размножения внесенных в нее бактерий. Иногда готовят торфяной препарат, не стерилизуя торф, но вносят в него большое количество клубеньковых бактерий. При изготовлении препарата на почве пользуются нейтральной, богатой органическим веществом стерильной почвой, расфасованной в ту или иную тару. Перед посевом семена бобовых растений обрызгивают водной суспензией того или иного препарата.

Препараты для заражения бобовых растений годны лишь ограниченный срок, так как клубеньковые бактерии постепенно погибают. В СССР для каждого бобового растения (или узкой группы их) готовят специальный препарат.

В настоящее время широко используют приемы химического протравливания семян для их обеззараживания от болезней и вредителей. Не менее широко применяют также гербициды, инсектициды и т. д. Поэтому возникает вопрос о совместимости химических мер защиты урожая с инокуляцией семян бобовых растений клубеньковыми бактериями. В результате большой экспериментальной работы выявлено, что протравливание семян не исключает применения культур клубеньковых бактерий. Однако необходимо подбирать соответствующие протравители и разделять указанные приемы во времени (см. главу 19).

Для эффективного симбиоза клубеньковых бактерий и бобовых растений необходимо вести систематическую работу по селекции активных и вирулентных культур клубеньковых бактерий, а также бобовых растений, обеспечивающих интенсивную деятельность их симбионтов. Поэтому в решении вопроса о полном использовании азотфиксирующей способности бобовых растений и клубеньковых бактерий большое значение будет иметь объединение усилий микробиологов, генетиков, биохимиков и растениеводов.

Сейчас для инокуляции ольхи и казуарины за рубежом стали готовить препараты чистой культуры актиномицета *Frankia*, образующего клубеньки у этих растений. Эксперименты, проводимые в этом направлении, дают хорошие результаты.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА

AZOTOBACTER CHROOOSCUM (АЗОТОБАКТЕРИНА)

Способность *Azotobacter chroococcum* размножаться при соответствующих условиях в ризосфере сельскохозяйственных культур дала основание предполагать, что этот микроорганизм может улучшить азотное питание растений.

По предложению академика С. П. Костычева и его сотрудников с 30-х годов текущего столетия в нашей стране начали применять землеудобрительный препарат, содержащий культуру *Azotobacter chroococcum* — азотобактерин.

Позднее, когда выяснилась способность микроорганизма продуцировать биологически активные вещества, его действие на растения стали связывать не только с процессом фиксации азота и улучшением азотного питания, но и с поступлением в растения вырабатываемых микроорганизмом биологически активных соединений (витаминов и стимуляторов роста).

Было установлено и новое, весьма важное свойство азотобактера. Оказалось, что он вырабатывает фунгистатическое вещество, которое представляет собой метиловый эфир алифатической тетраеновой кислоты, содержащей гидроксильную и β -метильную группы. Обнаруженный антибиотик, по данным Н. И. Придачиной, активен против значительного числа фитопатогенных грибов. Благодаря этому свойству азотобактера при бактеризации в ризосфере угнетается развитие микроскопических грибов, многие из которых задерживают рост растений. Отдельные культуры *Azotobacter* различаются по своим антагонистическим свойствам.

Работа Е. Н. Мишустина, Н. К. Татаровой, проведенная с различными штаммами *Azotobacter chroococcum*, подтвердила, что хорошим воздействием на растения обладают лишь культуры, вырабатывающие биологически активные вещества. Поэтому при селекции для производственных целей проводят отбор культур азотобактера, продуцирующих биологически активные соединения, стимулирующие рост растений и угнетающие развитие фитопатогенных грибов (*Verticillium*, *Helmintosporium*, *Pythium*, *Fusarium* и т. д.).

На рисунке 79 показано, что культура азотобактера снимает угнетающее действие фитотоксического гриба *Alternaria* на кукурузу, а рост незараженного растения стимулирует.

Установлено, однако, что для полевых культур азотобактерин малозффективен. По данным Государственной географической сети опытов, лишь в 34% случаев от применения этого препарата получили небольшую прибавку урожая (обычно до 10%). Это связано с тем, что азотобактер может развиваться лишь в хорошо окультуренных почвах и погибает в недостаточно плодородных.

На унавоженных почвах положительное действие азотобактерина возрастает. Этот препарат хорошо влияет на овощные культуры, которые обычно выращивают на сильно удобренных навозом почвах. Здесь бактеризация семян может повысить урожай на 20—30% и, что особенно важно, ускорить его созревание.

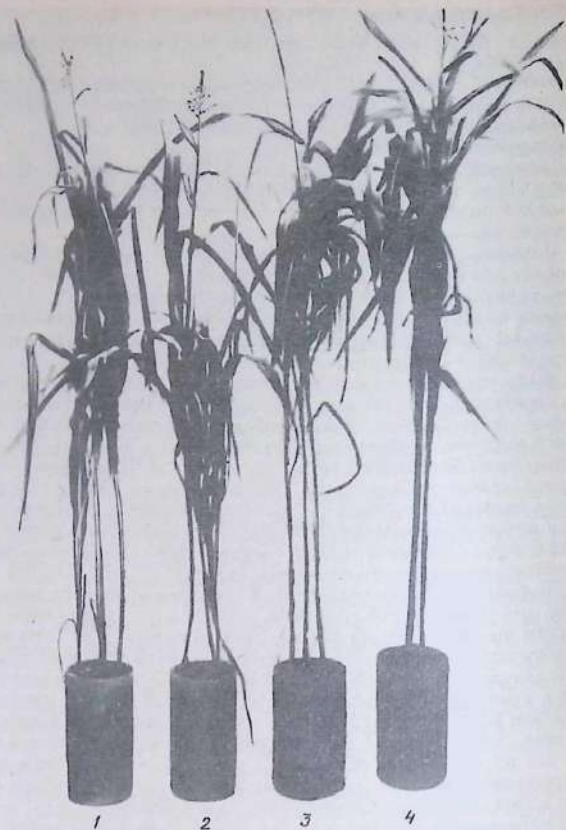


Рис. 79. Влияние *Azotobacter chroococcum* на развитие кукурузы:
1 — контроль; 2 — инфицирование кукурузы грибом *Alternaria* sp.; 3 — инфицирование грибом *Alternaria* и внесение культуры *Azotobacter*; 4 — внесение в почву культуры *Azotobacter*.

Для объяснения эффективности азотобактера прежде всего следует выяснить, может ли азотобактер, используя корневые выделения, накопить достаточно азота для развития растения. Опыты с монобактериальными культурами, в которых высшее растение, выращенное из стерильных семян, было инокулировано культурой азотобактера, дают на этот вопрос отрицательный ответ. За счет

корневых выделений азотобактер не может усвоить такое количество азота, которое обеспечивало бы высокий урожай растений.

Вместе с тем при определенных условиях азотобактер улучшает рост растений. В этом можно убедиться, если в условиях монобактериальной культуры семена растений обработать культурой азотобактера. Объясняется это тем, что азотобактер синтезирует много биологически активных соединений — никотиновую и пантотеновую кислоты, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гиббереллин и, возможно, ряд других соединений. Комплекс этих веществ способен стимулировать прорастание семян растений и ускорять их рост в благоприятных условиях среды.

В общем, положительное действие азотобактера легко понять, учитывая физиологические особенности данной бактерии. Она активно размножается лишь в плодородных почвах, обеспеченных органическим веществом, фосфором и влагой. Дефицит увлажнения азотобактер переносит хуже, чем другие бактерии.

В бедных почвах азотобактер быстро погибает, поэтому его воздействие на растение бывает эфемерным.

Известно, что в плодородных почвах имеется спонтанная культура *Azotobacter*. Как же в таком случае объяснить положительный эффект дополнительного заражения? Вероятно, это связано с небольшой численностью клеток азотобактера даже в плодородной почве. При бактеризации количество азотобактера сильно возрастает (особенно в ризосфере), и это создает благоприятные условия для развития корневой системы растений. Здесь проявляется как стимулирующее влияние ростовых веществ, так и подавление вредной грибной флоры, а также некоторое накопление в почве доступного растениям азота.

В настоящее время азотобактерин используют в основном для оранжерейной и парниковой культуры растений. Препарат азотобактерина обычно готовят, размножая микроорганизм в стерильной почве или низовом торфе, имеющих нейтральную реакцию и высокий процент гумуса. К почве добавляют какой-нибудь источник углерода, доступный азотобактеру. Высеваемые семена смачивают водной суспензией этого препарата. У рассады суспензией можно смачивать корневую систему. Препарат азотобактера не обладает стабильностью и годен для использования в течение ограниченного времени.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РОДА *AZOSPIRILLUM* ДЛЯ БАКТЕРИЗАЦИИ РАСТЕНИЙ

В последнее время за рубежом большое внимание привлекают исследования Ж. Доберейнер (Бразилия) с азотфиксирующими бактериями, относящимися к семейству *Azotobacteriaceae* (*Azospirillum brasilense* и *Azospirillum lipoferum*). Они выделены из ризосферы травянистых растений тропической зоны, где встречаются весьма часто. У кукурузы, сорго, риса, сахарного тростника и кормовых растений это обычные компоненты микрофлоры ризосферы.

Бактерии рода *Azospirillum* имеют палочковидную изогнутую форму. *A. brasilense* отличается от близкой к ней *A. lipoferum* по некоторым физиологическим признакам.

Если азотобактер развивается в некотором отдалении от поверхности корня (в ризосфере), то азоспириллы находятся на самой его поверхности и могут даже проникать в ткани корня. Можно считать установленным, что *A. lipoferum* развивается преимущественно с растениями, имеющими фотосинтез C_4 -типа, тогда как *A. brasilense* обычно находится в зоне корня растений с фотосинтезом C_3 -типа.

Тесная связь азотфиксаторов рода *Azospirillum* с растениями проявляется в том, что эти микроорганизмы находятся даже на стеблях и листьях.

Проводится изучение возможности использования культур *Azospirillum* с целью усилить процесс азотфиксации в зоне корня сельскохозяйственных растений.

За последние годы многими исследователями были поставлены опыты с разными сельскохозяйственными растениями, преимущественно в зоне субтропиков и тропиков, как в вегетационных, так и в полевых условиях. В подавляющем большинстве случаев инокуляция давала прибавку урожая, чаще всего в пределах 15—30%. Отмечено, что при дозах минерального азота выше 60 кг/га (в расчете на N_2), а также при недостаточном освещении положительного действия азоспирилл не наблюдалось.

В СССР бактерии рода *Azospirillum*, по-видимому, распространены преимущественно в почвах более южной зоны. Вегетационные опыты с инокуляцией пока не позволяют дать четкий ответ о целесообразности практического использования культур азоспирилл для бактеризации сельскохозяйственных растений. Экспериментальные работы с *Azospirillum* в настоящее время проводят в ряде научно-исследовательских учреждений нашей страны, а также за рубежом.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИЙ (СИНЕ-ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ)

Возможность использования сине-зеленых водорослей для обогащения почвы азотом изучается в ряде стран. Культуры данных микроорганизмов можно вносить в почву, что получило название **альголиза**ции.

Альголизацию широко изучали в зоне субтропиков, преимущественно на рисовых полях. Водоросли весьма влаголюбивы и плохо размножаются на недостаточно влажной почве. В воде рисовых полей сине-зеленые водоросли могут активно размножаться в течение длительного времени.

К настоящему времени известно до 130 видов сине-зеленых водорослей, фиксирующих N_2 . Они различаются по некоторым свойствам. Например, *Cylindrospermum* предпочитает более слабое освещение, а *Aulosira* хорошо развивается при интенсивном освещении. Поэтому требуется подбирать подходящие для местных условий культуры. Сейчас наиболее часто используют для альголизации *Tolypothrix tenuis*, *Anabaena cylindrica* и *Nostoc linckia*.

Обычно как в вегетационных, так и полевых опытах внесение водорослей в почву или воду рисовых полей дает хороший эффект. Он определяется тем, что водоросли накапливают довольно большое количество азота, фиксируя N_2 , продуцируют биологически активные вещества и обогащают почву органическим веществом. За вегетационный период водоросли связывают до 50 кг азота и более

на 1 га, половина этого количества усваивается посевами. Фиксированный азот частично выделяется из клеток при их жизни в виде аминокислот, частично после отмирания клеток водорослей.

В Индии, Китае и других странах тропической зоны альголизацию применяют довольно широко. В значительной мере она заменяет азотные удобрения, покупка которых обременительна для крестьян.

Научно-исследовательские учреждения названных стран для размножения водорослей имеют производственные установки, на которых готовят маточные культуры. Основную массу водорослей получают на местах в специальных бассейнах, в которые вносят культуру, полученную из научно-исследовательского учреждения. Благодаря быстрому размножению за три недели с 1 га бассейна, используемого для размножения водорослей, можно получить до 15 т водорослевой массы. Из этих водоемов водоросли поставляют на рисовые поля.

В СССР альголизацию рисовых полей не применяют в связи с рядом причин. Рис удобряют высокими дозами азотных удобрений, дающих больший эффект, чем водоросли. Азотные удобрения к тому же депрессируют нитрогеназу водорослей. Кроме того, водоросли весьма чувствительны к гербицидам, которые обязательно применяют в крупных хозяйствах. Альголизация связана с трудоемкими работами.

Для условий южного климата существенный интерес представляет водный папоротник *Azolla*. Виды этого растения (*A. caroliniana*, *A. rubra*, *A. filiculoides*, *A. imbricata*) отличаются друг от друга некоторыми свойствами. *Azolla* живет в симбиозе с сине-зеленой водорослью *Anabaena azolla*, фиксирующей атмосферный азот. Водоросли быстро размножаются и обогащают рисовые поля азотом.

Впервые *Azolla* была использована вьетнамской крестьянкой Ба-Хен. Эффект от применения азоллы был так велик, что после смерти этой крестьянки ее обожествили и в деревне, где она жила, построили пагоду в честь «богини Азоллы». Сейчас азоллу используют в некоторых странах Азии.

Для практического применения азоллу размножают в небольших водоемах, откуда переносят на залитые водой рисовые поля. С наступлением жаркой погоды, примерно в фазу кущения риса, зеленый ковер из размножившегося папоротника отмирает и растительная масса минерализуется. Азолла накапливает за вегетационный период на 1 га около 120 кг азота, часть которого используется в текущем году.

Помимо этого, продуцируется большое количество органического вещества, удобряющего почву. Во время вегетации азолла создает благоприятные условия для роста риса.

Иногда азоллу культивируют в течение трех недель в чеках, залитых на 3—5 см водой, перед посевом риса. За этот период масса водоросли достигает 10 т/га и в ней содержится около 20—25 кг азота. Папоротник запахивают и затем проводят посев риса.

ФОСФОРОБАКТЕРИИ И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Для практического использования был предложен бактериальный земледобри-тельный препарат фосфоробактерии. В качестве действующего начала в нем со-держится спороносная бактерия (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*), спо-собная разрушать фосфорорганические соединения и переводить их в доступную для растений форму.

Bac. megaterium легко образует споры, которые после размножения культу-ры смешивают с инертным наполнителем. В жизнеспособном состоянии споры *Bac. megaterium* могут сохраняться длительный промежуток времени.

Фосфоробактерии наносят на высеваемые семена. Предполагается, что в поч-ве бактерии переходят на развивающуюся корневую систему растений. Здесь их размножение и биохимическая деятельность вызывают разложение органических соединений фосфора, что улучшает питание растений.

Опыты, проведенные с этим препаратом, показали, что он оказывает некоторое положительное влияние на рост растений и увеличивает урожай (примерно на 10%). Вместе с тем оказалось, что эффективность фосфоробактерина на почвах, удобренных суперфосфатом, не снижается, как это можно было ожидать, а, на-оборот, часто повышается.

Установлено, что фосфоробактерии усиливают рост корневой системы расте-ний. Это можно объяснить тем, что *Bac. megaterium* вырабатывает биологически активные вещества, среди которых имеются тиамин, пиридоксин, биотин, панто-темовая и никотиновая кислоты, витамины В₁₂ и другие соединения. Эти вещества несколько усиливают рост растений в первые этапы их развития.

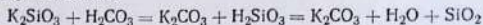
В вегетационных и полевых опытах с фосфоробактерином, проведенных за-рубежными учеными, этот препарат в большинстве случаев не оказывал стабиль-ного положительного действия.

В настоящее время производство фосфоробактерина прекращено, так как имеются более активные стимуляторы роста растений, а существенного улучше-ния фосфорного питания препарат не обеспечивает.

ПРЕПАРАТ «СИЛИКАТНЫХ» БАКТЕРИЙ

Для высвобождения из алюмосиликатов калия в целях улучшения питания растений В. Г. Александров предложил использовать препарат «силикатных» бак-терий, который представляет собой спорообразующую культуру — *Bacillus tuci-laginosus siliceus*.

Следует отметить, что разрушение алюмосиликатов происходит под влиянием разных кислот, и даже уголекислоты, образуемых микроорганизмами. Это неспецифический процесс. Гидролиз силикатов под влиянием, например, уголекислоты идет по следующей схеме:



Препарат «силикатных» бактерий рекомендовано применять путем бактери-зации семян, так как предполагалось, что при прорастании семян микроорга-низм будет размножаться в ризосфере растений. Однако бактерии в зоне корней растений размножаются плохо, поэтому выбор предложенной культуры нельзя признать удачным.

В производственных опытах препарат «силикатных» бактерий давал неболь-шие нестабильные прибавки урожая и поэтому не получил широкого применения.

ПРЕПАРАТ АМБ

Препарат АМБ был предложен Н. М. Лазаревым для активации биодинамики окультуриваемых почв северной зоны. Препарат готовят на месте его использо-вания из измельченного низинного торфа или торфяной почвы. На 1 т торфа при-бавляют 1 ц мелко раздробленного известняка, 2 кг фосфоритной муки и 1 кг маточной культуры, которую приготавливают во Всесоюзном НИИ сельскохозяй-ственной микробиологии. Подготовленный компост увлажняют и выдерживают в

теплом помещении (при температуре около 20°C) в течение трех недель, периодически перелопачивая. На 1 га рекомендуется вносить 0,5 т подготовленного компоста.

В состав маточной закваски препарата АМБ входит большой комплекс микроорганизмов (аммонификаторы, целлюлозоразлагающие микроорганизмы, автохтонная микрофлора и т. д.).

Препарат целесообразнее всего применять в закрытом грунте. Однако, очевидно, в связи со сложностью изготовления препарат широко не используется.

МИКОРИЗАЦИЯ РАСТЕНИЙ

В некоторых случаях существенное значение имеет заражение растений грибами-микоризообразователями, или микоризация растений.

Полевые сельскохозяйственные культуры обычно дают нормальную микоризу без специальной инокуляции. Это свидетельствует о широком распространении грибов, образующих микоризу, и, по существу, снимает вопрос о дополнительном заражении высеваемых семян.

Сложнее обстоит дело с микоризацией сеянцев и саженцев древесных пород. В лесной зоне грибы-симбионты деревьев широко распространены в почве. Однако это не наблюдается на юге, где лесная растительность встречается редко или ее нет. Ряд отечественных ученых (Г. Н. Высоцкий, А. В. Бараней и др.) на основании опытной работы пришли к заключению, что при посадке леса на черноземах, темно-каштановых и других южных почвах, где длительное время не было лесных насаждений, следует вносить почву, содержащую грибы-микоризообразователи. Для этого нужно брать лесную почву из одноименного насаждения (на 1 га посадок 30—50 кг почвы). Еще лучше вносить лесную почву под семена в лунки, по 25—50 г в каждую. Одновременное внесение органических и минеральных удобрений (особенно фосфорных) улучшает развитие микоризы и рост растений.

Микоризация несомненно полезна при рекультивации земель, так как создаваемый на поверхности слой обычно беден микроорганизмами. В данном случае микоризация будет нужна как древесной, так и травянистой растительности.

Имеются данные Д. Хаймана (Великобритания), что микоризация посевов клевера ползучего (белого), высеваемого на бедных фосфором горных торфяных почвах, дает хорошие результаты.

Искусственное культивирование грибов-микоризообразователей не удается, поэтому их нельзя использовать для приготовления соответствующих препаратов.

В целом вопрос о микоризе растений, в том числе культурных, изучен пока недостаточно. В будущем, вероятно, будут выявлены наиболее продуктивные симбионты высших растений для использования в практике сельского хозяйства.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ МИКРОБОВ-АНТАГОНИСТОВ И МИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

МИКРОБЫ-АНТАГОНИСТЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Растения обладают целой системой защиты от фитопатогенных микроорганизмов. Большое значение, помимо механических свойств тканей, в фитоиммунитете принадлежит ряду химических соединений, входящих в состав растений. Значительными защитными свойствами обладают фитонцидные вещества и вырабатываемые в ответ на инфекцию фитоалексины (греч. фито — растение, алексо — отражение атаки). Тем не менее болезни растений широко распространены и причиняют существенный вред. Для борьбы с ними используют химические средства, а также более безопасные для окружающей среды биологические методы. Кроме того, важное значение имеет проведение профилактических мероприятий, так как некоторые патогенные микроорганизмы способны жить на растительных остатках в почве довольно долго.

Освобождению почвы от фитопатогенных организмов способствует усиление размножения в ней микробов — антагонистов возбудителей тех или иных заболеваний. Например, после посева люцерны почва очищается от возбудителя вертициллезного вилта хлопчатника (*Verticillium dahliae*). Очевидно, это объясняется не только тем, что корневая система люцерны выделяет в почву алкалоиды, угнетающие многие микроорганизмы, но и тем, что она стимулирует размножение в почве антагонистов возбудителя вертициллеза. Подобными свойствами обладают и растения рапса, промежуточная культура которого может быть использована на юге между посевами других культур.

Установлено, что возделывание некоторых растений (клевер, вика и т. д.) способствует освобождению почвы от сибиреязвенной бациллы, другие растения (житняк, картофель) благоприятствуют размножению зародышей этого микроорганизма.

Таким образом, в принципе возможна борьба с болезнетворными микробами, находящимися в почве, введением в севооборот тех или иных растений, однако для широкого практического применения этого приема необходима его экспериментальная доработка.

Внимание микробиологов привлекает вопрос использования микробов-антагонистов для лечения растений. На грибах-паразитах нередко паразитируют другие грибы (паразиты второго порядка). Так, на мучнисторосяных грибах паразитирует пикнидиальный гриб *Cicinnobolus cesati*; на возбудителе бурой ржавчины

пшеницы (*Puccinia triticina*), как показано Г. С. Муромцевым, Т. И. Курахтановой, — также пикнидиальный гриб *Darluca filum*. Эксперименты с грибами-паразитами второго порядка, которых наносили в виде водных суспензий на поверхность растений в профилактических целях или при борьбе с заболеваниями, дали обнадеживающие результаты. Однако для профилактических целей отмеченные микроорганизмы пока не используются.

Хороший эффект дает использование культур микробов-антагонистов для обработки семян, зараженных фитопатогенами, или для внесения на поверхность вегетирующих растений, а также в зараженную почву. Микроб-антагонист, уничтожая вредителя, не причиняет вреда растению-хозяину.

Исследования в этом направлении были начаты в СССР Я. П. Худяковым (1935), который выделил бактерии рода *Pseudomonas*, лизирующие мицелий фитопатогенных грибов *Sclerotinia* и *Botrytis*. Эти микробы-антагонисты успешно использовали в полевых опытах для борьбы с фузариозом пшеницы, льна и т. д. Культурой *Pseudomonas* бактериализовали семена растений.

Оздоровлению сеянцев и саженцев сосны способствовало применение Н. А. Красильниковым миколитических бактерий при борьбе с фузариозом.

Как уже было отмечено, культура *Azotobacter chroococcum* предупреждает заболевания сельскохозяйственных растений, вызываемые рядом грибов, например *Alternaria*.

Успешно бороться с мучнистой росой крыжовника, вызываемой грибом *Sphaerotheca mors-uae*, позволяет опрыскивание растений настоем навоза. Это стимулирует размножение микроорганизмов на поверхности растения. В составе эпифитной микрофлоры находятся бактерии-антагонисты, которые после опрыскивания начинают размножаться.

Микробов-антагонистов, вероятно, можно использовать не только против возбудителей болезней растений, но и против растений — паразитов культурных растений. Так, положительные результаты были получены при борьбе с паразитной арбузов (*Orobancha aegyptiaca*) с использованием патогенного для паразита гриба *Fusarium orobanchae*. Чистая культура этого гриба, размноженная на питательном субстрате (кукурузная мука и т. д.), была предложена для практического применения.

Не исключена возможность подбора микробных культур, действующих в качестве гербицидов на определенные группы сорных растений.

Некоторые культуры грибов-антагонистов применяют в борьбе с почвенной инфекцией. С. Н. Московец, В. И. Билай и другие исследователи установили, что грибы рода *Trichoderma* выделяют токсические вещества, поражающие микробов-фитопаразитов. Опыты показали, что внесение в почву культуры *Trichoderma lignorum* существенно уменьшает увядание хлопчатника, пораженного *Verticillium albo-atrum*, грибные заболевания картофеля и других сельскохозяйственных культур. Авторы рекомендуют вносить культуру

указанного гриба в почву при посеве растений. На основе культуры *Trichoderma lignorum* готовят препарат триходермин.

Микробы-антагонисты не только угнетают фитопаразитов в зоне корня, но и вырабатываемые ими антибиотики проникают в ткани растений, что повышает устойчивость последних к возбудителям болезней.

Кратко остановимся на технике использования микробов-антагонистов. Для обеззараживания семян их опрыскивают культурой микроорганизма, разведенной в воде. Стерилизуется не только поверхность семени, но и зона корня, куда переходят микроорганизмы и начинают там размножаться.

При посадке рассады и саженцев их корни смачивают взвесью в воде соответствующих микробов-антагонистов. Водную взвесь микробов можно также использовать для опрыскивания надземных частей поврежденных растений, а также для профилактических целей.

Препараты предназначенные для борьбы с почвенной инфекцией (типа триходермина), вносят в почву при посеве. Пока микробы-антагонисты систематического применения в сельском хозяйстве не получили.

Сейчас широко используют микробиологический метод борьбы с грызунами (мышами домашними, полевками, крысами). Известно несколько культур микроорганизмов, вызывающих у грызунов кишечные заболевания, напоминающие брюшной тиф. Для человека и домашних животных эти микроорганизмы безопасны. Впервые бактерию мышинного тифа *Bact. typhi murgium* выделил в 1892 г. в Германии Леффлер. Позднее С. С. Мережковским, Б. Л. Исаченко и другими учеными был обнаружен ряд близких к этой форме микроорганизмов. Эти организмы относятся к группе так называемых кишечно-тифозных бактерий, точнее, к подгруппе паратифозных бактерий (род *Salmonella*).

При борьбе с грызунами размноженную культуру бактерий наносят на хлеб или на ней замешивают тесто. Для изготовления приманок используют и другие продукты. Приманки раскладывают в норах или наиболее посещаемых грызунами местах.

Бактериальный метод борьбы с грызунами дешев и имеет преимущество перед химическим, так как он безвреден для человека, домашних животных, хищных птиц и мелких хищников (ласка, хорь и т. д.). Эффективность его в достаточной степени высока. В настоящее время широко используют препарат бактероденцид, созданный на основе описанного микроба Б. Л. Исаченко (*Salmonella enteritidis* var. *Issatschenko*).

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Среди микроорганизмов выявлены антагонистические взаимодействия. Некоторые микробы угнетают рост других с помощью вырабатываемых ими веществ, называемых антибиотиками. Каждый

антибиотик имеет характерный для него «спектр» действия, то есть подавляет развитие определенной группы микроорганизмов.

Антибиотики отличаются друг от друга характером их воздействия на микроорганизмы. Одни из них приостанавливают рост микробов, или оказывают бактериостатическое действие, другие убивают микробные клетки, то есть действуют бактерицидно, третьи вызывают не только гибель, но и лизис микробных клеток. Часто воздействие антибиотика меняется в зависимости от его дозировок.

Практически антибиотики стали применять в 40-х годах текущего столетия. Однако явление антагонизма у микроорганизмов было известно давно. Еще Л. Пастер отметил угнетение сибиреязвенной палочки культурой синегнойной палочки. И. И. Мечников изучал явление антагонизма у кишечной микрофлоры и т. д.

В последнее время внимание исследователей привлекает использование для борьбы с некоторыми болезнями растений антибиотических веществ, имеющих ряд преимуществ по сравнению с химическими. Химические препараты вредно действуют не только на фитопаразитов, но и на высшие растения, и микрофлору почвы. Антибиотики обладают селективным действием — убивают вредителя, а на растительный организм не влияют или в некоторых случаях оказывают стимулирующий эффект. Однако вещества, токсически действующие на растения, могут быть и среди антибиотиков, но их не следует использовать в защите растений.

Применение в сельском хозяйстве антибиотиков медицинского назначения может содействовать появлению резистентных форм патогенных для человека и животных микроорганизмов. Поэтому микробиологами была проведена большая работа по изысканию антибиотических препаратов, специально предназначенных для использования в растениеводстве.

Нельзя не отметить начального периода этих работ в СССР, основная часть которых была выполнена Н. А. Красильниковым и его сотрудниками.

Так, С. А. Аскаровой был получен антибиотик актиномицетного происхождения, давший хороший результат при борьбе с гоммом хлопчатника.

Р. О. Мирзабекян с успехом использовала антибиотик актиномицетного происхождения для борьбы с бактериальным увяданием абрикоса и персика, вызываемого неспорообразующей палочкой *Vas. armeniaca*. В одном из экспериментов абрикосовые деревья пятилетнего возраста заражали фитопатогенной бактерией. Через несколько дней часть растений обрабатывали антибиотиками. Это приводило к излечению растений. Зараженные и не обработанные антибиотиком растения погибали.

Найдены антибиотики, предупреждающие развитие бактериального некроза у цитрусовых культур, вызываемого *Pseudomonas citriputealis*. Плоды, обработанные этими веществами, сохраняются в течение длительного времени без признаков порчи.

В настоящее время антибиотические препараты широко используются. В СССР готовят препарат трихотецин из культуры

гриба *Trichothecium gosseum*. Трихотецин* в форме 1%-ного дуста (активность 10 000 мкг/г) хорошо действует против корневых гнилей пшеницы и ячменя, в форме 10%-ного смачивающегося порошка (активность 100 000 мкг/г) — в теплицах против мучнистой росы огурца.

Используют также фитобактериомицин (ФБМ), продуцент которого *Streptomyces lavandula*. Препарат применяют для обработки семян фасоли и сои с целью борьбы с бактериозами; семян пшеницы — против корневых гнилей.

В СССР проводится опытно-производственное применение препарата триходермина для борьбы с вилтом хлопчатника. Продуцент этого препарата — гриб *Trichoderma lignorum*.

Представляет интерес для более тщательного изучения отечественный препарат гризин (продуцент *Str. griseus*), эффективный в борьбе с рядом грибных и бактериальных болезней растений (гомоз хлопчатника, бактериальное увядание абрикоса и т. д.). Он обладает также стимулирующим действием на растения.

За рубежом используют валидомицин (продуцент *Str. hygrosopicus*), специфически активный против фитопатогенных грибов рода *Rhizoctonia*, вызывающих увядание листового влагалища риса. Этот антибиотик применяют также при борьбе с черной паршой и коричневой гнилью картофеля.

В США и Японии выпускают несколько препаратов, содержащих антибиотик актидион (циклогексимид), который готовят на основе *Str. griseus*. Эти препараты активны против ржавчины сосны, вилта дуба, цитоспороза персика и сливы, мучнистой росы роз. Их используют при заболеваниях пшеницы и кукурузы, вызываемых грибами родов *Fusarium*, *Helminthosporium*, против твердой и пыльной головни ячменя, стеблевой ржавчины пшеницы и т. д.

В Японии для предупреждения заболевания риса очень опасной грибной болезнью — пирикулярриозом и для лечения больных посевов широко используют антибиотик бластицидин S. Продуцент антибиотика — актиномицет *Str. griseochromogenes*. Он дает соединение, которое в 10—100 раз токсичнее ртутно-органических препаратов. При частой обработке посевов вызывает некротическую пятнистость листьев риса и не безвреден для людей. Поэтому сейчас чаще используют для борьбы с пирикулярриозом другие антибиотики, особенно касугомицин (касумин), который получают из культуры *Str. casugoensis*. Он убивает также ряд грибов, поражающих овощные, технические культуры и плодовые насаждения. Этот антибиотик нефитотоксичен и безвреден для людей и животных. Применяют в Японии и антибиотик полиоксин D против увядания листового влагалища риса, альтернариоза груши и яблони. Помимо отмеченных, для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами за рубежом производят и другие антибиотики, продуцентами которых являются преимущественно актиномицеты и грибы.

* Для опытно-производственного применения.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С ВРЕДНЫМИ НАСЕКОМЫМИ

Заболевания насекомых были известны давно. Еще Аристотель (V в. до н. э.) описал болезнь пчел. Итальянский ученый А. Басси в 30-х годах прошлого века обнаружил болезнь тутового шелкопряда, возбудителем которой был грибок, названный им *Botrytis gadosa*. Это была белая мускардина *Beauveria bassiana*. Басси выяснил способ переноса инфекции и условия, способствующие заражению шелкопряда, что позволило рекомендовать средства борьбы с болезнью. А. Басси следует признать первым патологом насекомых.

В 60-х годах прошлого столетия Л. Пастер установил, что ряд заболеваний шелкопряда имеет инфекционный характер. Некоторые из них вызываются бактериями. Несколько позднее И. И. Мечников, работая в Пастеровском институте, также столкнулся с бактериальными заболеваниями насекомых. Он считал возможным практическое использование паразитов насекомых и писал, что на них следует возлагать большие надежды для защиты растений. В интересах сельского хозяйства следует распространить эпизоотии среди вредителей и таким образом бороться с возможными потерями урожая. И. И. Мечников обнаружил у личинок хлебного жука *Anisoplia austriaca* — опасного вредителя зерновых культур болезнь, вызываемую зеленой мускардиной *Metarrhizium anisopliae* и грибом *Entomophthora anisopliae*.

В 1892 г. сотрудник Пастеровского института И. М. Красильник из больных личинок хлебного жука выделил две энтомопатогенные бактерии — *Bacillus tracheitus sive graphitosis* и *Bac. serpicus insectorum*.

Наблюдения других исследователей также показали, что насекомые могут страдать от инфекционных заболеваний, возбудителями которых являются бактерии, грибы и вирусы.

Все это обусловило использование микроорганизмов для борьбы с насекомыми — вредителями сельскохозяйственных культур и для биологического контроля вредных насекомых.

Применение микробиологического метода целесообразно потому, что энтомопаразиты вызывают заболевание у какой-то узкой группы вредных насекомых. Для человека и разнообразных представителей зооценоза используемый микроорганизм совершенно безопасен.

Кроме того, болезни насекомых должны принимать характер эпизоотий и широко распространяться. Химические же средства защиты растений действуют локально и нередко загрязняют окружающую среду.

В первой половине текущего столетия культуры патогенных для насекомых бактерий стали применять на практике и в ряде случаев получили хорошие результаты. Особенно больших успехов добился сотрудник Пастеровского института С. Метальников (1928—1940) в борьбе с вредителями некоторых сельскохозяйст-

венных культур, в том числе хлопчатника. Он испытывал смеси микроорганизмов против разных вредителей и получал положительные результаты. Препараты Метальникова применяли также для уничтожения вредителей запасов сельскохозяйственных культур.

Высокая эффективность биопрепаратов Метальникова очевидно объяснялась тем, что в их состав входила культура *Bacillus thuringiensis*, выделенная в 1915 г. немецким ученым Е. Берлинером. К этой культуре восприимчивы многие чешуекрылые.

В настоящее время работа по микробиологическому методу борьбы с насекомыми-вредителями широко ведется как в СССР, так и за рубежом.

В нашей стране значительное внимание обращено на бактерии группы *Bac. thuringiensis*, в систематическом положении близкой к *Bac. cereus*. Эти бактерии поражают многих вредителей сельскохозяйственных растений и леса. Характерное свойство их — наличие в клетке кристаллического образования, токсичного для насекомых (рис. 80). Ядовитые свойства кристаллов проявляются только при попадании их в пищеварительный тракт насекомого. При введении кристаллов в лимфу токсикооза не наступает. Токсин вызывает паралич кишечника и распад его эпителия. Гусеница перестает питаться и погибает. После гибели гусеницы иногда бывают приклеены к частям растений белковым экссудатом.

В последнее время описаны энтомопатогенные бактерии, близкие к *Bac. thuringiensis*, но не имеющие кристаллических включений. Их действие на насекомых связано лишь с инфекционным процессом. Для человека, млекопитающих, птиц, рыб и полезных насекомых группа бактерий *Bac. thuringiensis* безвредна.

Работа с бактериями группы *Bac. thuringiensis* ведется в ряде лабораторий, где из больных насекомых выделены чистые культуры энтомопатогенных бактерий. Отдельные микроорганизмы несколько отличаются по своим свойствам и по спектру действия.

В нашей стране исследования с энтомопатогенными бактериями в тридцатых годах текущего столетия начал В. П. Поспелов, испытывавший зарубежные препараты, содержащие *Bac. thuringiensis*. Хорошие результаты были получены в борьбе с вредителями леса. Позднее бактерии этой группы были выделены советскими учеными. На основе их созданы препараты для борьбы с вредными насекомыми.

Е. В. Талалаев из больных гусениц сибирского шелкопряда выделил *Bac. dendrolimus* — микроорганизм, относящийся к группе *Bac. thuringiensis*. Препарат дендробациллин, содержащий эту бактерию, может быть использован для борьбы с сибир-

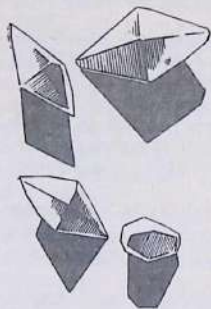


Рис. 80. Кристаллы, находящиеся в клетке *Bac. thuringiensis* (по Г. Хенли).

шим шелкопрядом, шелкопрядом-монашенкой, хлопковой совкой некоторыми другими насекомыми.

Н. П. Исакова с сотрудниками из гусениц пчелиной огневки выделила *Bac. thuringiensis var. galleriae*. Содержащий эту бактерию препарат энтобактерин хорошо действует против большой группы листогрызущих вредителей овощных и плодовых культур, а также вредителей садово-парковых насаждений. Препарат поражает плодовую и яблонную моль, капустную и репную белянок, гусениц других насекомых.

Кроме энтобактерина, на основе *Bac. thuringiensis* в настоящее время микробиологическая промышленность выпускает препарат БИП — биологический инсектицидный препарат с культурой *B. t. var. caucasiensis*. Используют для борьбы с вредителями плодовых, овощных и других культур.

Имеются и другие, близкие к отмеченным препараты, изготовляемые из культур бактерий группы *Bac. thuringiensis*.

Результативность микробиологической борьбы с помощью указанных препаратов зависит от состояния насекомых, плотности их популяции, климатических условий и т. д.

За рубежом препараты, изготовленные на основе *Bac. thuringiensis*, также широко применяются.

Возбудителями инфекционных болезней насекомых могут быть многие грибы. Как возможные объекты для защиты урожая большое внимание исследователей привлекли мускардинные грибы. Белой мускардиной называют болезни, вызываемые грибами рода *Beauveria*.

Из грибов рода *Beauveria* достаточно хорошо изучен гриб *B. bassiana*. Его конидии прорастают на поверхностных тканях насекомого и могут проникнуть в тело даже через хитиновый покров. В гемолимфе они поражают лимфоциты, что приводит к гибели насекомого. Культура *B. bassiana* весьма эффективна при борьбе с многими видами вредителей сельскохозяйственных растений.

Гриб поражает гусениц бабочек — соснового и тутового шелкопряда, яблонной плодовой мотыльки и репной белянки.

К грибу восприимчивы свекловичный долгоносик, вредная черепашка, колорадский жук. *B. bassiana* паразитирует также на пильщиках, короедах и садовых клещах.

B. bassiana используют для приготовления препарата бовериана, который дает хорошие результаты при практическом применении. Гриб легко культивируется на искусственных средах. Его споры отделяют центрифугированием и смешивают с наполнителем (тальком, мелом и т. д.).

Для борьбы с вредными насекомыми можно использовать вирусы насекомых. Известно около 300 вирусов, вызывающих болезни насекомых. Вирусы различаются по характеру и месту их включения в организм хозяина. Некоторые из них поражают ядра клеток разных органов эктодермы и мезодермы (ядерный поли-

эдроз), другие локализируются в цитоплазме кишечного эпителия (цитоплазмальный полиэдроз).

Вирусы ядерного полиэдроза успешно применяли в опытах по борьбе с гусеницами совок, репной белянки, американской белой бабочки и т. д., вирусы цитоплазмального полиэдроза — против южного шелкопряда.

Изготовление вирусных препаратов затруднено тем, что вирус размножается только в теле насекомых. Для массового получения препарата приходится культивировать и инфицировать насекомых. Размалывая затем их массу и смешивая ее с наполнителем, получают препарат для практического использования.

В СССР выпускаются вирусные препараты вирин-ЭНШ — для борьбы с непарным шелкопрядом, вирин-ЭКС — для борьбы с капустной совкой. Изучаются другие вирусные препараты.

В США и других странах промышленностью выпускается ряд энтопатогенных вирусных препаратов, которые весьма эффективны.

В настоящее время разрабатывается методика применения для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур комбинированных препаратов, в которые будут входить патогенные для насекомых микроорганизмы и инсектициды микробного происхождения. Считается также целесообразной интегрированная борьба с чередованием применения химических и биологических препаратов.

СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА РАСТЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

В 1880 г. была опубликована книга Ч. Дарвина «Способность к движению у растений», в которой он впервые описал, что в верхушках проростков овса и канареечной травы имеется вещество, регулирующее их рост.

После работы Дарвина потребовалось еще полвека исследований, прежде чем были созданы теоретические и экспериментальные основы науки о биологически активных веществах растений. Нельзя не отметить существенного вклада в нее советских ученых Н. Г. Холодного, Н. А. Красильникова, М. Х. Чайлахяна, Г. С. Муромцева, В. В. Полевого и др.

Вещества, влияющие на рост растений, вырабатываются весьма многими как сапрофитными, так и паразитными микроорганизмами. По химической природе они весьма разнообразны, но в основном это безазотные и сравнительно низкомолекулярные соединения.

Вырабатываемые микроорганизмами регуляторы роста можно разделить на следующие группы.

1. Гиббереллины, выделенные в 1926 г. Е. Куросава из гриба *Gibberella fujikuroi*, поражающего рис и вызывающего его гигантский рост («баканое»). *Gibberella fujikuroi* представляет собой конидиальную стадию гриба *Fusarium moniliforme*.

Гиббереллоподобные вещества найдены и у растений. Они стимулируют рост и цветение, выход из состояния покоя и т. д.

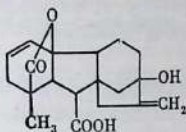
2. А у к с и н ы, открытые Ф. Кеглем. Они имеются у растений и микроорганизмов и влияют на рост клеток в фазе растяжения, на дифференцировку ксилемы и закладку корней, цветение и т. д.

3. К и н и н ы — вещества, стимулирующие клеточное деление и влияющие на другие ростовые процессы.

4. Биогенные ингибиторы — сложные вещества, обладающие способностью подавлять активность ауксинов и тормозить рост растений. Они входят в систему, управляющую покоем семян и почек. К этой группе относят вещества, задерживающие прорастание картофеля и корнеплодов сахарной свеклы при хранении, а также этилен и абсцизовую кислоту.

Биологически активные вещества нашли широкое применение в сельскохозяйственной практике. Большинство из них получают химическими методами, за исключением гиббереллина, который вырабатывается микробиологическим путем.

Гиббереллины представляют собой большую группу родственных соединений. Сейчас насчитывается до 60 веществ этого типа. Приводим структурную формулу одного из гиббереллинов (гиббереллина А₃):



гибберелловая кислота
(гиббереллин А)

Гиббереллины обладают поразительно высокой физиологической активностью. Раствор, в котором на миллион частей воды приходится лишь одна часть этого вещества, оказывает сильное стимулирующее влияние на рост растений.

Гиббереллины наиболее сильно стимулируют рост стеблей, побегов, листьев, плодов и в меньшей степени рост корней. Рост стеблей и побегов происходит вследствие удлинения междоузлий или увеличения их числа.

Под влиянием гиббереллинов увеличивается урожай вегетативной массы растений, ускоряется цветение и плодоношение.

Применение гиббереллинов дает хороший результат на виноградниках. Опрыскивание соцветий бессемянных сортов приводит к значительному увеличению размеров ягод и гроздей (рис. 81). Влияние гиббереллина на эти сорта винограда столь велико, что основное количество выпускаемого препарата используют для обработки этой культуры.

Из фитогормонов, вырабатываемых почвенными микроорганизмами, в том числе находящимися в ризосфере, следует упомянуть

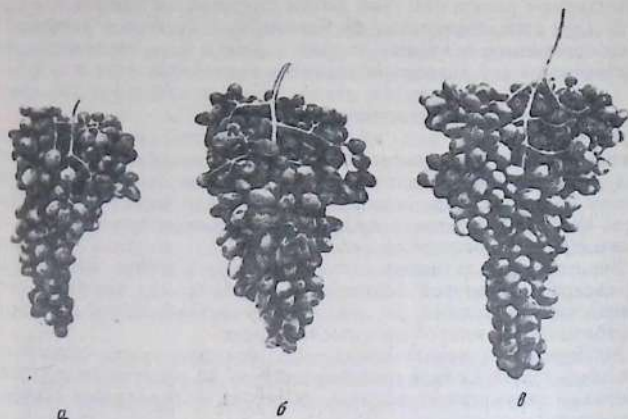
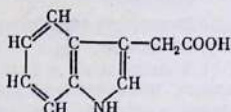


Рис. 81. Влияние гиббереллина на бессемянный виноград:

a — контроль; *b* — обработка гиббереллином в период цветения; *v* — обработка на пятый день после цветения (по Б. К. Перепелициной).

ауксины, представителем которых является гетероауксин (β -индолуксусная кислота):



Гетероауксин применяется для улучшения образования корней у черенков плодовых и ягодных культур и для более быстрого их укоренения. Его готовят химическим путем.

Глава 23

МИКРОБИОЛОГИЯ КОРМОВ

ПРОЦЕССЫ, ПРОИСХОДЯЩИЕ ПРИ СУШКЕ СЕНА И ДРУГИХ КОРМОВ

Наиболее распространенный способ консервирования зеленой массы и других кормов — сушка. Сушку сена проводят по-разному — в прокосах, валках, в копнах, на вешалах и т. д. Даже при сухой

погоде и быстро протекающей сушке некоторые потери питательных веществ в корме неизбежны, так как в растительной массе продолжают идти дыхание и другие ферментативные процессы. В случае более или менее затяжной сушки роль отмеченных процессов сильно возрастает, и это, в свою очередь, ведет к увеличению потерь, которые во многом связаны с размножающимися на влажной растительной массе микроорганизмами. Для ограничения потерь питательных веществ стремятся использовать искусственную досушку сена, применяя принудительное вентилирование атмосферным или подогретым воздухом.

При сушке кормов количество жизнедеятельных микроорганизмов в них постепенно уменьшается. Тем не менее на доброкачественном корме растительного происхождения всегда можно найти большее или меньшее количество микробных клеток, свойственных эпифитной микрофлоре, а также других микроорганизмов, попадающих сюда из почвы и воздуха. Они находятся в анабиотическом состоянии.

При увлажнении хранящегося корма в нем бурно начинают протекать микробиологические процессы и одновременно повышается температура. Это явление, получившее название саморазогревания (термогенез), связано с жизнедеятельностью микрофлоры.

Микроорганизмы используют для синтетических целей не более 5—10% энергии потребленных ими питательных веществ. Остальная энергия выделяется в окружающую среду главным образом в виде тепла. Таким образом, термогенез зависит в основном от неполной утилизации микроорганизмами энергии, выделяющейся при осуществлении ими биохимических процессов.

Явление термогенеза становится осязаемым лишь в условиях затрудненной теплоотдачи. В противном случае тепло рассеивается из среды, где размножаются микроорганизмы, без заметного разогревания субстрата. Поэтому в практике отмечается разогревание лишь значительных скоплений различных материалов, то есть таких масс, в которых может происходить аккумуляция тепла.

При самонагревании растительной массы наблюдается четко выраженная смена микрофлоры. Сначала в разогревающейся массе размножаются мезофильные микроорганизмы. С повышением температуры на смену им приходят термофилы, которые способствуют повышению температуры органических веществ, так как обладают исключительной скоростью размножения.

Сильное разогревание достаточно сухой и пористой массы может вызвать ее обугливание и образование горючих газов — метана и водорода, которые адсорбируются на пористой поверхности обуглившихся растительных частиц, вследствие чего может произойти самовоспламенение. Весьма вероятно, что роль катализатора при воспламенении играют соединения железа. Воспламенение происходит лишь в присутствии воздуха и только если масса недостаточно уплотнена. В ветреную погоду случаи самовоспламенения учащаются.

Термогенез причиняет существенный вред. Он вызывает порчу сена. Однако при умеренном развитии самонагревания термогенез может быть желательным. Например, «самопрелая» солома в результате разогревания лучше поедается скотом и т. д. Явление термогенеза используют для приготовления так называемого бурого сена. Его готовят в местностях, где вследствие климатических условий затруднена сушка сена. При этом для просушивания корма используют не солнечную энергию, а тепло, выделяющееся в результате жизнедеятельности микроорганизмов, обитающих в растительной массе.

В высушенных кормах микроорганизмы находятся в анабиотическом состоянии. При увлажнении корма они начинают размножаться и вызывают его порчу.

КОНСЕРВИРОВАНИЕ КОРМОВ

Силосование (заквашивание) — способ консервирования зеленого корма, при котором растительная масса сохраняется во влажном состоянии в ямах, траншеях или специальных сооружениях — силосных башнях. Корм, более или менее спрессованный и изолированный от доступа воздуха, подвергается брожению. Он приобретает кислый вкус, становится мягче, несколько изменяет цвет (приобретает бурую окраску), но остается сочным.

Силосование имеет ряд преимуществ по сравнению с другими способами консервирования корма. Известны два способа силосования: холодный и горячий.

Холодный способ силосования назван так потому, что во время созревания силоса в нем происходит умеренное повышение температуры, достигающее в некоторых слоях корма до 40°C , оптимальной температурой считается $25\text{--}30^{\circ}\text{C}$.

При таком силосовании скошенную растительную массу, если нужно, измельчают, укладывают до отказа в кормоместилище, утрамбовывают, а сверху как можно плотнее укрывают для изоляции от воздействия воздуха.

При горячем способе силосное сооружение наполняют по частям. Зеленую массу на 1—2 дня рыхло укладывают слоем около 1—1,5 м. При большом количестве воздуха в ней развиваются энергичные микробиологические и ферментативные процессы, в результате чего температура корма поднимается до $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$. Затем укладывают второй слой такой же толщины, как и первый, и он, в свою очередь, подвергается разогреванию. Растения же, находящиеся внизу и размягченные под влиянием высокой температуры, спрессовываются под тяжестью нового слоя корма. Это вызывает удаление воздуха из нижнего слоя силоса, отчего аэробные процессы в нем прекращаются и температура начинает снижаться. Так слой за слоем заполняют все силосохранилище. Самый верхний слой корма утрамбовывают и плотно прикрывают для защиты от воздуха. В связи с тем что силосохранилище при

горячем способе силосования обычно делают небольших размеров, на верхний слой силосуемого корма помещают определенный груз. Разогревание растительной массы связано с потерей (иногда значительной) части питательных веществ корма. В частности, резко уменьшается переваримость его белков. Поэтому горячее силосование не может считаться рациональным способом сохранения растительной массы.

Холодный способ силосования наиболее распространен. Это объясняется как сравнительной его простотой, так и хорошим качеством получающегося корма. Горячий способ силосования признан допустимым лишь для квашений грубостебельных, малоценных кормов, так как разогревание улучшает их поедаемость.

Силосование связано с накоплением в корме кислот, образующихся в результате сбраживания микробами-кислотообразователями содержащихся в растениях сахаристых веществ. Основную роль в процессе силосования играют молочнокислые бактерии, продуцирующие из углеводов (в основном из моно- и дисахаридов) молочную и частично уксусную кислоты. Эти кислоты имеют приятные вкусовые свойства, хорошо усваиваются организмом животного и возбуждают у него аппетит. Молочнокислые бактерии снижают рН корма до 4,2—4 и ниже.

Накопление молочной и уксусной кислот в силосе обуславливает его сохранность потому, что гнилостные и прочие нежелательные для силосования бактерии не могут размножаться в среде с кислой реакцией (ниже 4,5—4,7). Сами же молочнокислые бактерии относительно устойчивы к кислотам. Переносящие сильное окисление плесневые грибы относятся к строгим аэробам и в хорошо укрытом заквашиваемом корме размножаться не могут.

Таким образом, герметизация и кислотность силоса — главные факторы, определяющие его стойкость при хранении. Если по тем или иным причинам кислотность корма уменьшается, то это неминуемо ведет к его порче, так как создаются условия, благоприятные для вредных микробов.

Для нормального силосования различных кормов требуется неодинаковое подкисление. Иногда 0,5% молочной кислоты снижает значение рН корма до 4,2, то есть до показателя, свойственного хорошему силосу. В других случаях для этого требуется 2% той же кислоты. Такое колебание зависит от различного проявления буферных свойств у некоторых составных частей растительного сока. Механизм действия буферов заключается в том, что в их присутствии значительная часть ионов водорода нейтрализуется. Поэтому, несмотря на накопление кислоты, рН среды почти не снижается до тех пор, пока не израсходован весь буфер. В силосе образуется запас так называемых связанных буферами кислот. Роль буферов могут играть различные соли и некоторые органические вещества (например, протенны), входящие в состав растительного сока. Более буферный корм для получения хорошего силоса должен иметь больше сахаров, чем менее буферный. Следовательно, силосуемость растений определяется не только богат-

ством их сахарами, но и специфическими буферными свойствами. Основываясь на буферности сока растений, можно теоретически вычислить нормы сахара, необходимые для успешного силосования различного растительного сырья.

Буферность сока растений находится в прямой зависимости от количества в них белков. Поэтому большинство бобовых растений трудно силосуется, так как в них относительно мало сахара (3—6%) и много белка (20—40%). Прекрасная силосная культура — кукуруза. В стеблях и початках ее содержится 8—10% белка и около 12% сахара. Хорошо силосуется подсолнечник, в котором хотя и много белка (около 20%), но содержится достаточно углеводов (более 20%). Приведенные показатели рассчитаны на сухое вещество.

Зная буферность корма и его химический состав, можно решить вопрос о силосуемости того или иного растения. В основном силосуемость связывают с запасом моно- и дисахаридов, дающих необходимое подкисление определенного корма. Минимальное их содержание для доведения значения рН корма до 4,2 может быть названо сахарным минимумом. По данным А. А. Зубрилина, если корм содержит больше сахара, чем показывает вычисленный сахарный минимум, то он будет хорошо силосоваться.

Технически определить сахарный минимум несложно. Титрованием устанавливают необходимое количество кислот для подкисления пробы исследуемого корма до рН 4,2. Затем определяют количество простых сахаров в корме. Допуская, что около 60% сахаров корма превращается в молочную кислоту, нетрудно рассчитать, хватает ли имеющегося сахара для должного подкисления корма.

Для улучшения силосуемости кормов, в которых мало углеводов, их смешивают с кормами, содержащими много сахара. Можно также улучшить состав силосуемого корма, добавив к нему по определенному расчету патоку-мелассу.

В некоторых кормах бывает слишком много углеводов. При силосовании таких кормов возникает избыточная кислотность (явление переокисления силоса). Слишком кислый корм животные неохотно поедают. Для борьбы с переокислением силоса корма, содержащие много сахара, смешивают с кормами, в которых мало углеводов. Кислый корм может быть нейтрализован добавкой CaCO_3 .

В процессе квашения некоторая часть белка превращается в аминокислоты. На основании экспериментальных данных в настоящее время считают, что подобная трансформация в основном связана с деятельностью ферментов растительных тканей, а не бактерий.

Поскольку аминокислоты хорошо усваиваются организмом животных, частичный перевод протеинов в аминокислоты не должен сказываться на уменьшении кормовых достоинств силосуемой массы. Глубокого распада белка с образованием аммиака в хорошем силосе не бывает.

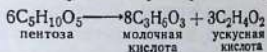
Во время силосования происходит частичная потеря витаминов заквашиваемой массе, но, как правило, значительно меньшая, чем при сушке сена.

Общие потери сухих веществ корма при холодном силосовании значительно меньше, чем при горячем. В первом случае они не должны превышать 10—15%, во втором достигают 30% и более.

Среди молочнокислых бактерий имеются кокки и неспорообразующие палочки. Некоторые из этих бактерий из сахара образуют в основном молочную кислоту и лишь следы других органических кислот (гомоферментативные формы). Другие же, помимо молочной кислоты, накапливают заметные количества уксусной кислоты (гетероферментативные формы).

Из типичных представителей первой группы бактерий можно назвать *Streptococcus lactis*, *Str. thermophilus*, *Streptobacterium plantarum*, а из представителей второй — *Lactobacillus brevis* и *Betabacterium breve*. Эти микробы факультативные анаэробы.

На характере продуктов, образуемых молочнокислыми бактериями, сказываются не только биохимические особенности той или иной культуры, но и состав питательной среды. Например, если образивается не гексоза, а пентоза, то один продукт брожения имеет три атома углерода, а другой только два (первое вещество — молочная кислота, второе — уксусная). В таком случае процесс брожения может быть выражен примерно следующим уравнением:



В растительном сырье имеются пентозаны, дающие при гидролизе пентозы. Поэтому даже при нормально идущем созревании силоса в нем обычно накапливается некоторое количество уксусной кислоты, которая также образуется гетероферментативными молочнокислыми бактериями из гексоз.

Большинство молочнокислых бактерий живет при температуре 7—42°C (оптимум около 25—30°C). Отдельные культуры проявляют активность при низких температурах (около 5°C). Отмечено, что при разогревании силоса до 60—65°C в нем накапливается молочная кислота, которую продуцируют некоторые термотолерантные бактерии, например *Bac. subtilis*.

В силосе могут размножаться кислотоустойчивые дрожжи, не оказывающие вредного влияния на качество корма. В правильно заложеной заквашиваемой массе дрожжи сильно не размножаются. Это объясняется тем, что они не могут расти при низком уровне окислительно-восстановительного потенциала, создаваемого в силосе молочнокислыми бактериями. Критические точки pH_2 для маслянокислых бактерий — около 3, для молочнокислых бактерий — 6—9, для дрожжей — 12—14.

Развитие маслянокислых бактерий связано со следующими их особенностями. Они более строгие анаэробы, чем дрожжи, но неустойчивы к высокой кислотности и прекращают расти при pH , близком к 4,7—5, как и большинство гнилостных бактерий. Накопление

масляной кислоты нежелательно, так как она имеет неприятный запах, и корм, содержащий ее, плохо поедается скотом. При порочном брожении корма, кроме масляной кислоты, в нем накапливаются такие вредные продукты, как амины, аммиак и т. д.

В растительной массе, заложенной в силос, могут быть бактерии кишечной группы. Они вызывают гнилостный распад белка, а сахар превращается в малоценные для консервирования продукты.

При нормально протекающем процессе силосования бактерии кишечной группы быстро отмирают, так как они не кислотоустойчивы.

Рассмотрим динамику созревания силоса. Процесс квашения можно условно разбить на три фазы. Первая фаза созревания заквашиваемого корма характеризуется развитием смешанной микрофлоры. На растительной массе начинается бурное развитие разнообразных групп микроорганизмов, внесенных с кормом в силосное помещение. Обычно первая фаза брожения бывает кратковременной. Окончание первой, или предварительной, фазы брожения связано с подкислением среды, что угнетает деятельность большей части микрофлоры корма. К этому времени в силосе устанавливаются анаэробные условия, так как потребляется кислород.

Во вторую фазу — фазу главного брожения — основную роль играют молочнокислые бактерии, продолжающие подкислять корм. Большинство неспорозоных бактерий погибает, но бациллярные формы в виде спор могут длительное время сохраняться в заквашенном корме. В начале второй фазы брожения в силосе обычно преобладают кокки, которые позднее сменяются палочковидными молочнокислыми бактериями, отличающимися большой кислотоустойчивостью.

Третья фаза брожения корма (конечная) связана с постепенным отмиранием в созревающем силосе возбудителей молочнокислого процесса. К этому времени силосование подходит к естественному завершению. Быстрота подкисления корма зависит не только от количества углеводов в нем, но и от структуры растительных тканей. Чем быстрее отдадут растения сок, тем скорее идет процесс квашения при одних и тех же условиях. Быстроте заквашивания способствует измельчение массы, облегчающее отделение сока.

О качестве силосованного корма свидетельствует состав органических кислот, накопившихся в нем при брожении (табл. 36).

Для регулирования процесса силосования рекомендуется несколько приемов. Среди них отметим использование заквасок молочнокислых бактерий. Эти микроорганизмы находятся на поверхности растений, но в небольшом количестве. Поэтому требуется определенный срок, в течение которого молочнокислые бактерии усиленно размножаются, и только тогда заметно проявляется их полезная деятельность. Этот срок можно сократить искусственно, обогащая корм молочнокислыми бактериями. Особенно целесообразно внесение заквасок при работе с трудносилосуемым материалом.

4. Примерное соотношение кислот в силосах разного качества

Качество силоса	Значение рН	Соотношение кислот
Очень хорошее	4,2 и ниже	Молочная — 60% и более уксусная — 40% и менее масляная — 0
Хорошее	4,5 и ниже	Молочная — 40—60% уксусная — 60—40% масляная — 0 (или следы)
Среднее	Около 4,5	То же, но масляная — до 0,2%
Плохое	Выше 4,7	Молочная — мало масляная — значительно
Очень плохое	Выше 5,5	Преобладают летучие кислоты, в том числе и масляная

Предложена технология приготовления и использования бактериальных заквасок, улучшающих качество корма. В большинстве случаев рекомендуют использовать молочнокислую бактерию *Lactobacillus plantarum*. Иногда к этому микроорганизму добавляют другой возбудитель молочнокислого брожения. Готовят как жидкие, так и сухие закваски.

Для кормов, имеющих малый запас моносахаридов, готовят препарат с *Streptococcus lactis diastaticus*. Этот микроорганизм, в отличие от других молочнокислых бактерий, может сбраживать не только простые углеводы, но и крахмал.

Имеются предложения о добавке в силосуемую массу, бедную моносахаридами, ферментных препаратов (мальтазы, целлюлазы), разлагающих полисахариды и обогащающих корм сахарами, доступными молочнокислым бактериям.

При силосовании кормов с большим запасом углеводов (например, кукуруза), дающих слишком кислый корм, что нежелательно, готовят закваску из пропионовокислых бактерий. При ее использовании часть молочной кислоты превращается в пропионовую и уксусную, которые слабо диссоциируют, и корм становится менее кислым. К тому же пропионовокислые бактерии вырабатывают значительное количество витамина В₁₂.

Для улучшения силосуемости труднозаквашиваемых кормов предложено использовать препарат амилазы. Этот фермент превращает крахмал корма в мальтозу, что увеличивает резерв сахаров, доступных молочнокислым бактериям, и усиливает подкисление корма.

Рекомендованы также буферные кислотные смеси, в состав которых входят разные минеральные кислоты. В СССР предложены препараты ААЗ, ВИК и др. За рубежом применяют АIV, Penrhesta и др. С успехом используют органические кислоты (например, муравьиную).

Кислотные препараты применяют для трудно заквашиваемых кормов. Их введение в силосуемый корм подавляет развитие сапрофитной микрофлоры первой фазы брожения. Создаваемый в рас-

тительной массе кислотными смесями рН (около 4) не препятствует развитию молочнокислых бактерий, которые поддерживают рН корма на низком уровне.

Для консервирования плохо заквашиваемых кормов рекомендуют также препараты, содержащие формиат кальция, метабисульфит, пиросульфит натрия, сульфаминовую, бензойную, муравьиную кислоты и другие вещества, подавляющие микробиологические процессы в силосуемом корме и сохраняющие его.

Изложенные сведения относятся к консервированию кормов, имеющих нормальную влажность (около 75%). Если влажность консервируемой массы значительно ниже (50—65%), то происходит хорошая ферментация даже при дефиците углеводов и получается корм высокого качества — сенаж. При этом рН корма может быть довольно высоким — около 5, так как гнилостные бактерии обладают меньшим осмотическим давлением, чем молочнокислые. При подсушивании корма в нем приостанавливаются гнилостные процессы, но продолжают действовать возбудители молочнокислого брожения. На этом основано приготовление сенажа, когда несколько подсушенную массу закладывают для консервирования, как при холодном силосовании.

Исследованиями авторов было показано, что в клевере, влажность которого составляла 50% и ниже, развиваются микробиологические процессы. Они протекают тем слабее, чем суше корм. Доминирующей микрофлорой в консервируемом корме очень быстро становятся молочнокислые бактерии. Эта группа довольно специфичных микроорганизмов близка к *Lactobacillus plantarum*, но отличается способностью расти в условиях значительно более сухой среды и сбраживать крахмал. Их развитие в корме приводит к накоплению в нем некоторого количества молочной и уксусной кислот.

По типу сенажирования хорошо сохраняются предназначенные на корм измельченные початки кукурузы с влажностью 26—50% (оптимум 30—40%).

В последнее время Куйбышевским сельскохозяйственным институтом рекомендовано обрабатывать недосушенное сено (влажностью около 35%) жидким аммиаком, который действует как консервант.

При введении аммиака в корме создается щелочная реакция, блокирующая микробиологические и ферментативные процессы. Обработанный аммиаком корм должен быть покрыт каким-либо изоляционным материалом.

Некоторые технологические приемы консервирования кормов основаны на принципах, исключающих развитие в корме микробиологических и ферментативных процессов. Это производство травяной муки, гранулирование, брикетирование и изготовление смесей с применением высоких температур, а иногда и высокого давления.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТОВ МИКРОБНОГО СИНТЕЗА ДЛЯ КОРМЛЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

СИНТЕЗ КОРМОВОГО БЕЛКА И АМИНОКИСЛОТ

Корма, содержащие недостаточно протеина, незаменимых аминокислот и витаминов, неэффективны и невыгодны. Расход их для получения той или иной животноводческой продукции повышается в несколько раз. В условиях интенсивного ведения хозяйства важно не только обеспечить достаточное валовое производство кормов, но и получать корма с высоким содержанием в них белка и сбалансированными по аминокислотному составу.

Белковый и аминокислотный обмен различен у жвачных и нежвачных животных. У последних желудок однокамерный, и микрофлора их желудочно-кишечного тракта проявляет свою активность в кишечнике. Существенных синтетических процессов микробиологического характера в желудке нежвачных животных не протекает. Под влиянием желудочного сока здесь из белков корма образуются аминокислоты и осуществляется реакция переаминирования. Однако такие незаменимые аминокислоты, как лизин, треонин, аргинин, в результате переаминирования не синтезируются вовсе или синтезируются в таком малом количестве, что это не имеет практического значения. Поэтому для нежвачных животных данные аминокислоты в необходимых количествах должны присутствовать в пищевом рационе.

Жвачные животные менее требовательны к полноценности белков корма, так как обитающая в их преджелудках богатая микрофлора синтезирует даже из простых, содержащих азот веществ все аминокислоты, в том числе и незаменимые. Первоначально микроорганизмы синтезируют белок в своих клетках, после отмирания которых аминокислоты освобождаются и становятся достоянием животного-хозяина.

Эта особенность жвачных животных позволяет для частичного восполнения дефицита белков использовать в их рационе содержащие азот простые химические вещества (мочевину и соли аммония). В рубце жвачных животных микроорганизмы синтезируют в больших количествах глютамин, глютаминовую кислоту, глицин и валин. Они транспортируются в печень, где синтезируются другие аминокислоты.

В существующих кормовых рационах далеко не всегда имеется достаточно белка, необходимых аминокислот и витаминов. Поэтому ставится вопрос о дальнейшем введении их в корм в виде тех или иных препаратов, в частности, полученных с помощью микроорганизмов. Так, большое внимание ученых привлекает вопрос получения кормового белка путем микробного синтеза. Вследствие

быстрого размножения продуктивность микроорганизмов по сравнению с высшими организмами несопоставимо велика. Например, сравнительно небольшой дрожжевой завод в сутки выпускает около 30 т массы, содержащей 15 т белка, то есть 5,5 тыс. т в год. Чтобы получить такую продукцию от крупного рогатого скота, надо иметь стадо в несколько десятков тысяч голов.

Освоено производство кормовых дрожжей на отходах спиртовой, сахарной промышленности, а также на целлюлозных гидролизатах. Использование в этих целях целлюлозных гидролизатов было начато в нашей стране в 1935 г. Этот метод применяется и сейчас, но он имеет существенные организационные недостатки. Так, сбор и транспортировка целлюлозосодержащего сырья на крупные заводы оказываются дорогостоящими, а мелкие заводы малорентабельны.

Позднее, в 60-х годах французский ученый А. Шампанья с сотрудниками разработал метод выращивания дрожжей на средах, содержащих дизельное топливо. Однако получаемая масса нуждалась в очистке, что требовало больших затрат.

В СССР в середине 60-х годов дрожжи начали выращивать не на отходах производства, каким является дизельное топливо, а на очищенных жидких углеводородах. Разработка этой технологии проведена коллективом ученых под руководством академиков Д. Н. Иерусалимского и Г. К. Скрябина.

Установлено, что на жидких парафинах хорошо размножаются дрожжи из рода *Candida*. Лучше всего они используют парафины ряда C_{15} — C_{18} . Углеводороды C_{10} — C_{14} и C_{20} — C_{24} могут ассимилироваться лишь отдельными культурами. Изопорфирины, нафтенны и ароматические углеводороды дрожжами практически не усваиваются. В качестве источника азота дрожжи используют соли аммония.

✓ Научные основы получения кормового белка на углеводородах сейчас изучены достаточно хорошо. Организовано крупномасштабное получение кормового белка. Готовая продукция представляет собой массу, имеющую лишь 7—10% влаги — белково-витаминный концентрат (БВК).

Изучение состава БВК показало, что он не уступает кормовым продуктам животного происхождения. БВК имеет все незаменимые аминокислоты, в тех же количествах, что и традиционные кормовые добавки. Лишь по содержанию метионина он несколько уступает рыбной муке. БВК богат витаминами и по ряду показателей превосходит рыбную муку и соевый шрот. Испытания показали полную безвредность и биологическую ценность БВК для животных. В частности, этот препарат может заменить молоко при выпойке телят.

Ставится вопрос не только об увеличении производства БВК, но и о получении кормового белка на материалах, более дешевых, чем жидкие парафины. Желательно иметь возобновляемое сырье. Так, проводится экспериментальная работа по получению бактериального белка из газообразного углеводорода — метана.

Бактерии, размножающиеся на метане весьма своеобразны, так как они растут только на одноуглеродных соединениях, что облегчает условия их культивирования в связи с отсутствием конкурентов. С экономической точки зрения выгоднее, однако, метан каталитически окислять в метанол. Метанол хорошо растворим в воде и легко усваивается многими микроорганизмами, как бактериями, так и некоторыми дрожжами. В Англии имеется завод, вырабатывающий дрожжевой белок на метиловом спирте.

Изучается возможность производства микробного белка на этиловом спирте, на котором получается более высокая биомасса дрожжей.

Большое внимание в нашей стране и за рубежом уделяют получению белка с помощью автотрофных водородных бактерий. Используя окисление водорода как энергетический процесс в качестве источников питания, они довольствуются лишь минеральными соединениями.

Следует отметить, что по некоторым химическим показателям дрожжевой белок имеет некоторые преимущества по сравнению с бактериальным.

В настоящее время многими научными учреждениями СССР и за рубежом проведена успешная разработка методов получения кормового белка из различных отходов. Некоторые из них могут быть использованы для промышленного получения белка, другие — в хозяйственных условиях.

В качестве возможного сырья для получения микробного белка представляют интерес различные целлюлозосодержащие отходы промышленности и сельского хозяйства. Для обогащения белком измельченных целлюлозных отходов целесообразнее использовать культуры микроскопических грибов, которые могут активно разрушать клетчатку, одновременно накапливая белок. В СССР успешные работы в этом направлении проводят В. И. Билай (Институт микробиологии АН УССР), которая использует гриб *Trichoderma viride*, и А. Г. Лобанок (Институт микробиологии АН БССР), применяющий гриб из рода *Penicillium*. Таким путем можно получать корм, содержащий до 30% белка.

Работы по получению кормового белка на отходах лесной и целлюлозной промышленности проводят в Швеции и Финляндии, где для этого используют грибы.

В Канаде в провинции Онтарио недавно начал работать небольшой завод по переработке на корм древесных отходов с помощью микроскопического гриба *Chaetomium*.

Для выработки грибного мицелия можно использовать не только целлюлозу, но и другие вещества — крахмальные гидролизаты, отходы зерна и т. д. Так, в Институте микробиологии АН БССР разработан метод глубинного культивирования мицелия базидиального трутового гриба *Daedaleopsis confragosa* на средах с молочной сывороткой. Из 1 т молочной сыворотки может быть выработано 20 кг высушенной измельченной массы, имеющей около 50% сырого протеина и содержащей ряд незаменимых аминокислот.

На молочной сыворотке с успехом размножается базидиальный съедобный гриб *Panus tigrinus* (пилолистник тигровый). Выращенный и измельченный мицелий этого гриба имеет около 45% сырого белка, который близок по составу к животным белкам.

Институт микробиологии и вирусологии АН Казахской ССР рекомендует как белковую добавку к бедным кормам давать кормовые дрожжи *Candida*, выращенные на разваренной зерновой дерти, муке или других субстратах. Перед использованием дрожжевую массу прогревают в целях разрушения дрожжевых клеток, что повышает их усвояемость. Кормовые дрожжи следует готовить в местах их потребления, а не на заводах.

Имеются предложения о переработке на корм многих пищевых и промышленных отходов и даже навоза. В СССР и за рубежом изучался вопрос об использовании как корма микроводорослей. Проведенные работы не дали высокого эффекта и практически были прекращены. Это в значительной степени связано со слабой усвояемостью животными ценных компонентов клеток водорослей.

Тем не менее, в некоторых случаях водорослевые препараты дают положительный эффект. Это показано исследованиями, проведенными в Институте микробиологии АН Узбекской ССР, где использовали жидкие препараты водорослей *Chlorella*. В культуральной жидкости водоросли содержат небольшое количество белка, но имеется ряд биологически активных соединений. Там же проводятся работы с водорослью *Spirulina*, которая имеется в водоемах Африки, и местные жители используют ее для кормления скота (А. М. Музафаров и др.).

Многие микроорганизмы могут быть использованы для получения незаменимых кормовых аминокислот и витаминов. Только правильное сочетание всех компонентов корма дает наилучший результат, а недостаток хотя бы одного из них снижает эффективность остальных. В таблице 37 показано влияние добавок к корму на производство яиц.

С помощью сбалансированного питания можно в ряде случаев упростить и удешевить набор ингредиентов, входящих в комбикорм. Например, обогащение кормов витамином B_{12} заменяет дефицитный и дорогой животный белок растительным. При этом продуктивность животных не снижается.

37. Влияние характера пищи на продуктивность кур-несушек (по В. Н. Букину)

Показатель	Контроль	Полноценные комбикорма с добавкой	
		витаминов, аминокислот, микроэлементов, антибиотиков	только витаминов А и D ₂
Ежегодная продуктивность несушки, яиц	80	200	160
Затраты корма на производство 10 яиц, кг	6,84	2,3	3,42
Стоимость кормов на производство 10 яиц, коп.	61,5	31,5	36,5

До второй мировой войны производства аминокислот почти не было ни в одной стране. К настоящему времени доказана целесообразность использования аминокислот в животноводстве, где они дают огромный экономический эффект. Для кормления животных нет нужды в получении чистых препаратов, достаточно иметь концентраты, производство которых дешевле и проще.

Замечательное свойство многих микроорганизмов — способность накапливать в среде огромное количество некоторых ценных аминокислот. Размер этого «сверхсинтеза» может быть очень большим. Так, аспарагиновой кислоты некоторые микроорганизмы производят до 200 г, глютаминовой — до 100, валина — до 16 г на 1 л среды. Имеются микроорганизмы, синтезирующие значительные количества L-лизина, L-валина, L-метионина и триптофана.

В СССР микробиологическим способом получают лизин. Для синтеза L-лизина используют культуру *Brevibacterium* sp., в качестве сырья — уксусную кислоту, минеральные соли, мелассу, кукурузный экстракт и некоторые отходы пищевой промышленности. Лизин выпускается в виде жидкого концентрата (ЖКЛ), сухого концентрата (ККЛ) и кристаллического препарата.

За рубежом микробиологическим способом, помимо L-лизина, получают L-глютаминовую кислоту, используя культуру *Micrococcus glutamicus* и некоторые бактерии рода *Brevibacterium*. В небольших количествах готовят L-аланин, продуцируют который некоторые актиномицеты (*Str. tyoidens*, *Str. aviculastus* и др.), а также бактерии рода *Brevibacterium* и *Corynebacterium*. Возможно получение триптофана с использованием культуры гриба *Canthida vitilis*.

СИНТЕЗ МИКРООРГАНИЗМАМИ ВИТАМИНОВ И ФЕРМЕНТОВ

Витамины представляют собой группу низкомолекулярных органических соединений, необходимых для поддержания жизни животных, организм которых должен получать их с кормом. Отдельные витамины (например, витамин С) организм животного может синтезировать. У взрослых жвачных животных витамины комплекса В и витамин К синтезируются микрофлорой рубца в достаточном количестве. Животные-копрофаги (например, кролики) получают витамины, поедая собственный кал, в котором бактерии накапливают значительное количество витаминов.

Однако в ряде витаминов животные нуждаются, а в обычном корме их не хватает. Это относится прежде всего к витамину В₁₂, каротину и в некоторой степени к витаминам группы В, которые особенно требуются для откорма свиней и птицы.

Производство некоторых витаминов в промышленном масштабе может быть осуществлено микробиологическим путем. В СССР в промышленном масштабе производят витамин В₁₂ (цианкобаламин). Синтез витамина В₁₂ ведут по методу, разработанному Инс-

На молочной сыворотке с успехом размножается базидиальный съедобный гриб *Panus tigrinus* (пилолистник тигровый). Выращенный и измельченный мицелий этого гриба имеет около 45% сырого белка, который близок по составу к животным белкам.

Институт микробиологии и вирусологии АН Казахской ССР рекомендует как белковую добавку к бедным кормам давать кормовые дрожжи *Candida*, выращенные на разваренной зерновой дерти, муке или других субстратах. Перед использованием дрожжевую массу прогревают в целях разрушения дрожжевых клеток, что повышает их усвояемость. Кормовые дрожжи следует готовить в местах их потребления, а не на заводах.

Имеются предложения о переработке на корм многих пищевых и промышленных отходов и даже навоза. В СССР и за рубежом изучался вопрос об использовании как корма микроводорослей. Проведенные работы не дали высокого эффекта и практически были прекращены. Это в значительной степени связано со слабой усвояемостью животными ценных компонентов клеток водорослей.

Тем не менее, в некоторых случаях водорослевые препараты дают положительный эффект. Это показано исследованиями, проведенными в Институте микробиологии АН Узбекской ССР, где использовали жидкие препараты водорослей *Chlorella*. В культуральной жидкости водоросли содержат небольшое количество белка, но имеется ряд биологически активных соединений. Там же проводятся работы с водорослью *Spirulina*, которая имеется в водоемах Африки, и местные жители используют ее для кормления скота (А. М. Музафаров и др.).

Многие микроорганизмы могут быть использованы для получения незаменимых кормовых аминокислот и витаминов. Только правильное сочетание всех компонентов корма дает наилучший результат, а недостаток хотя бы одного из них снижает эффективность остальных. В таблице 37 показано влияние добавок к корму на производство яиц.

С помощью сбалансированного питания можно в ряде случаев упростить и удешевить набор ингредиентов, входящих в комбикорм. Например, обогащение кормов витамином В₁₂ заменяет дефицитный и дорогой животный белок растительным. При этом продуктивность животных не снижается.

37. Влияние характера пищи на продуктивность кур-несушек (по В. Н. Букину)

Показатель	Контроль	Полноценные комбикорма с добавкой	
		витаминов, аминокислот, микроэлементов, антибиотиков	только витаминов А и D ₃
Ежегодная продуктивность несушки, яиц	80	200	160
Затраты корма на производство 10 яиц, кг	6,84	2,3	3,42
Стоимость кормов на производство 10 яиц, коп.	61,5	31,5	36,5

До второй мировой войны производства аминокислот почти не было ни в одной стране. К настоящему времени доказана целесообразность использования аминокислот в животноводстве, где они дают огромный экономический эффект. Для кормления животных нет нужды в получении чистых препаратов, достаточно иметь концентраты, производство которых дешевле и проще.

Замечательное свойство многих микроорганизмов — способность накапливать в среде огромное количество некоторых ценных аминокислот. Размер этого «сверхсинтеза» может быть очень большим. Так, аспарагиновой кислоты некоторые микроорганизмы производят до 200 г, глютаминовой — до 100, валина — до 16 г на 1 л среды. Имеются микроорганизмы, синтезирующие значительные количества L-лизина, L-валина, L-метионина и триптофана.

В СССР микробиологическим способом получают лизин. Для синтеза L-лизина используют культуру *Brevibacterium* sp., в качестве сырья — уксусную кислоту, минеральные соли, мелассу, кукурузный экстракт и некоторые отходы пищевой промышленности. Лизин выпускается в виде жидкого концентрата (ЖКЛ), сухого концентрата (ККЛ) и кристаллического препарата.

За рубежом микробиологическим способом, помимо L-лизина, получают L-глютаминовую кислоту, используя культуру *Micrococcus glutamicus* и некоторые бактерии рода *Brevibacterium*. В небольших количествах готовят L-аланин, продуцируют который некоторые актиномицеты (*Str. tyoidens*, *Str. aviculastus* и др.), а также бактерии рода *Brevibacterium* и *Corynebacterium*. Возможно получение триптофана с использованием культуры гриба *Candida vitilis*.

СИНТЕЗ МИКРООРГАНИЗМАМИ ВИТАМИНОВ И ФЕРМЕНТОВ

Витамины представляют собой группу низкомолекулярных органических соединений, необходимых для поддержания жизни животных, организм которых должен получать их с кормом. Отдельные витамины (например, витамин С) организм животного может синтезировать. У взрослых жвачных животных витамины комплекса В и витамин К синтезируются микрофлорой рубца в достаточном количестве. Животные-копрофаги (например, кролики) получают витамины, поедая собственный кал, в котором бактерии накапливают значительное количество витаминов.

Однако в ряде витаминов животные нуждаются, а в обычном корме их не хватает. Это относится прежде всего к витамину В₁₂, каротину и в некоторой степени к витаминам группы В, которые особенно требуются для откорма свиней и птицы.

Производство некоторых витаминов в промышленном масштабе может быть осуществлено микробиологическим путем. В СССР в промышленном масштабе производят витамин В₁₂ (цианкобаламин). Синтез витамина В₁₂ ведут по методу, разработанному Инс-

Возможно, что ферменты найдут широкое применение при производстве заменителей молока для кормления молодняка (телят, поросят, ягнят). Очевидно ферменты можно использовать в ветеринарии при лечении желудочно-кишечных заболеваний и т. д.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИБИОТИКОВ В КОРМЛЕНИИ ЖИВОТНЫХ

Введением в рацион молодых животных небольших количеств антибиотиков (5—10 г на 1 т) можно ускорить рост и уменьшить отход молодняка в период выращивания.

Так, в опытах А. Х. Саркисова с сотрудниками при добавке в корм цыплятам (поголовье более 200 тыс.) пенициллина (40 мг/кг) или биомицина (20 мг/кг) отход молодняка был сокращен в 2—3 раза, а приросты живой массы повысились на 6—15%.

Куры-несушки при введении в корм антибиотиков дают значительно больше яиц. Например, А. Мюллер (Чехословакия) провел опыт по испытанию действия прокаинопенициллина на яйценоскость кур.

В первый месяц яйценоскость повысилась на 15%, во второй — на 40, в третий — на 79, в четвертый — на 50 и в пятый — на 22%. Стимуляционный эффект от антибиотиков был получен также исследователями, работавшими с водоплавающей птицей.

Весьма рентабельно введение антибиотиков в рационы свиней. Поэтому в свиноводстве антибиотики широко применяются. Опыты показывают, что поросята, которым в корм добавляли антибиотики, в двухмесячном возрасте весили на 1,5—1,7 кг больше, чем не получавшие препаратов. Свины при мясном откорме с добавлением антибиотиков весили на 8—10 кг больше контрольных. В общем антибиотики увеличивают массу животных за период откорма на 15—20%.

Значительное число опытов по кормлению телят с использованием антибиотиков было проведено как в СССР, так и за рубежом. Показано, что телята в возрасте 7—8 недель под действием антибиотиков увеличивают прирост живой массы на 22—85%, а в возрасте около 12 недель — на 20—35%.

Введение антибиотиков в рацион дойных коров заметного влияния на лактацию не оказывает. В условиях пастбищного содержания антибиотики не влияют на животных, положительное действие препаратов проявляется, когда коровы находятся в стойле. При кормлении ягнят антибиотики имеют главным образом профилактическое значение против желудочно-кишечных заболеваний, авитаминозов и пневмонии.

Подкормка жеребят антибиотическими веществами способствует их развитию и, в частности, повышению плотности костей. Введение в корм антибиотиков улучшает рост собак, лисиц, норков и т. д. Для добавки в комбикорма и в кормовые рационы использовали разнообразные антибиотические вещества — биомицин, тетрациклин, стрептомицин, пенициллин и т. д.

Некоторые антибиотики, использованные в животноводстве, применялись в медицине и ветеринарии. Поэтому возникает опасность появления в окружающей среде устойчивых форм патогенных микроорганизмов и снижения (а возможно, и уничтожения) лечебного эффекта антибиотических веществ при заболевании людей и животных. В связи с этим возникла проблема ограничения использования медицинских антибиотиков для кормовых целей и консервирования продуктов. Особенно это относится к соединениям, фиксируемым тканями животных. Ставится вопрос о применении для нелечебных целей специальных антибиотиков.

Как же влияют антибиотики, добавляемые в незначительных количествах в корм, на организм животных? Несмотря на большую исследовательскую работу, этот вопрос еще окончательно не решен.

Не исключено, что антибиотики повышают защитные свойства животного, благодаря чему снижается влияние субклинических инфекций, которые нередко служат главной причиной замедленного развития молодняка. При этом активно подавляются клинические проявления инфекционных болезней.

Отмечен стимуляционный эффект низких доз антибиотиков при скармливании их стерильно выращенным животным. Подобные опыты ставились с цыплятами и поросятами. Стерильных поросят получали путем кесарева сечения и воспитания животных на стерильном корме. Отсюда можно заключить, что антибиотики оказывают положительное действие, не только изменяя микрофлору желудочно-кишечного тракта.

У нестерильных животных, получавших рацион с антибиотиками, повышалась средняя масса рождающегося потомства, что свидетельствует о положительном влиянии антибиотиков на рост эмбрионов.

Таким образом, ростовой эффект антибиотиков — сложный и комплексный. Частично он связан с воздействием на микрофлору кишечника. Однако антибиотики и непосредственно влияют на организм животного — у него усиливается аппетит, секреция пищеварительных ферментов, гормонов и т. д. Поэтому антибиотики могут считаться стимуляторами роста, то есть соединениями, проявляющими функцию, свойственную и другим химическим веществам.

Среди ученых, много сделавших в области изучения кормовых антибиотиков в СССР следует отметить Н. А. Красильникова — автора ряда ценных препаратов (кормогризина, витаминина и др.), работавшего в Институте микробиологии АН СССР.

Кормогризин получают при глубинной ферментации микроба на среде, содержащей кукурузную муку, крахмал и минеральные соли (продуцент *Str. griseus*). Антибиотик обладает малой токсичностью, но угнетает развитие значительного количества бактерий, грибов и дрожжей. Используют высушенную массу мицелия *Str. griseus*, которую добавляют в корм. Препарат предложен как ростостимулирующая добавка, оказывающая положитель-

ное влияние на обмен веществ у животных. Хороший эффект получен при использовании кормогризина для откорма свиней, а также индеек, гусей и другой птицы. Антибиотик не проникает из кишечного тракта в организм животного.

Продуцентами кормового антибиотика бацитрацина являются *Bac. subtilis* и *Bac. licheniformis*. Антибиотик дает хорошие результаты при откорме телят и введении в рацион кур-несушек. Бацитрацин почти не всасывается из пищеварительного тракта и не накапливается в тканях.

Витамицин продуцируется стрептомицетом *Str. aureverticillatus*. Препарат представляет собой высушенную культуральную жидкость вместе с мицелием. Установлено, что биологическая активность витамина может компенсировать недостачу в кормах витамина А. Препарат ускоряет рост животных и позволяет экономить корма.

Кормарин вырабатывается культурой *Str. aurigineus*. Препарат готовят из смеси культуральной жидкости и мицелия-продуцента, высушенных на распылительной установке. Он содержит витамины группы В, гормоноподобные вещества и другие факторы роста. Использование кормарина в рационах животных и птицы повышает приросты живой массы, улучшает обмен веществ и усвояемость компонентов корма.

Кормовые антибиотики широко используют за рубежом. Например, в США в последние годы они были выработаны на сумму около 300 млн. долларов. Список зарубежных препаратов достаточно велик, здесь отметим лишь некоторые, наиболее распространенные.

Флавомицин (продуцент *Str. bambergiensis*) применяют как стимулятор роста свиней. Кормовой антибиотик виргиницицин (продуцент *Str. virginiae*) продается более чем в 40 странах. Это хороший стимулятор роста, с длительным действием при выращивании животных. В значительных количествах применяют руменан (продуцент *Str. cinnamomensis*), улучшающий перевариваемость корма за счет замедления скорости его прохождения по пищеварительному тракту. Имеются сведения о широком использовании тилозина (продуцент *Str. fradiae*), обладающего широким антимикробным спектром, но в основном действующим на грамположительные микроорганизмы. На кишечную палочку, в частности, он действует слабо. Введение препарата в кормовой рацион свиней способствует большему приросту живой массы, чем другие антибиотики.

Таким образом, для выработки кормовых антибиотиков в основном используют культуры актиномицетов.

- Александрова Л. Н. Органическое вещество почвы и процесс его трансформации. М.: Наука, 1980.
- Аристовская Т. В. Микробиология процессов почвообразования. Л.: Наука, 1980.
- Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. М.: Изд-во МГУ, 1983.
- Беккер М. Е., Дамберг Б. Э., Раппопорт А. И. Анабиоз микроорганизмов. Рига: Знание, 1981.
- Брода П. Плазмиды. М.: Мир, 1982.
- Валкер Н. Почвенная микробиология: Пер. с англ. М.: Колос, 1979.
- Галстян А. Ш. Определение активности ферментов почвы. Ереван: М-во сельск. хоз-ва АрмССР, 1978.
- Глазовская М. А., Добровольская Н. Г. Геохимические функции микроорганизмов. М.: Изд-во МГУ, 1984.
- Готтшалк Г. Метаболизм бактерий: Пер. с англ. М.: Мир, 1982.
- Гродзинский А. М. Аллелопатия в жизни растений и их сообществ. Основы химического воздействия растений. Киев: Наукова думка, 1965.
- Громов Б. В. Строение бактерий. Л.: Изд-во ЛГУ, 1985.
- Громовых Т. И. Энтомопатогенные грибы в защите леса. М.: Наука, 1982.
- Гукасян В. М., Машанов А. И. и др. Микроорганизмы в защите леса, Новосибирск: 1981.
- Гусев М. В., Минеева Л. А. Микробиология. М.: Изд-во МГУ, 1985.
- Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1987.
- Жизнь микробов в экстремальных условиях: Пер. с англ./Под ред. Д. Кашнера. М.: Мир, 1981.
- Иляетдинов Р. Н. Микробиологические превращения металлов. Алма-Ата, 1984.
- Квасников Е. И., Писарчук Е. Н. Артробактер в природе и производстве. Киев: Наукова думка, 1980.
- Краткий определитель бактерий Берги: Пер. с англ./Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир, 1980.
- Логина Л. Г. Анаэробные термофильные бактерии. М.: Наука, 1982.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии/Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1980.
- Мецлер Д. Биохимия. М.: Мир, 1980. Т. 1—3.
- Муромцев Г. С., Агнстикова В. Н. Гормоны растений — гиббереллины. М.: Наука, 1973.
- Нестеренко О. А., Квасников Е. И., Ногина Т. М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. Киев: Наукова думка, 1985.
- Орешкин К. Н. Технология средств защиты растений. М.: Технологический ин-т пищевой промышленности, 1983.
- Полевой В. В. Фитогормоны. Л.: Изд-во ЛГУ, 1982.
- Почвенный организм как компонент биогеоценоза/Под ред. Е. Н. Мишустина. М.: Наука, 1984.
- Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе/Под ред. Г. А. Заварзина. М.: Наука, 1979.
- Селиванов И. А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. М.: Наука, 1981.
- Стейннер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов: Пер. с англ. М.: Мир, 1979. Т. 1—3.
- Сэги Й. Методы почвенной микробиологии: Пер. с венг. М.: Колос, 1983.

- расевич Л. М. Вирусы насекомых. М.: Наука, 1975.
- неан Дж., Колман Р., Мигелл Р. Мембраны и их функции в клетке. М.: Мир, 1977.
- Влахян М. Х., Саркисова М. М. Регуляторы роста у виноградной лозы и плодовых культур. Ереван: Изд-во АН АрмССР, 1980.
- тина Э. А., Голлербах М. М. Экология почвенных водорослей. М.: Наука, 1976.
- ербакова Т. А. Ферментативная активность почв и трансформация органического вещества. Минск: Наука и техника, 1983.

- Acetobacter 37, 145, 146
 — peroxydans 146
 — xylinum 146
 Acetobacteriaceae 37
 Acholeplasma 51
 Acholeplasmataceae 51
 Achromatium 194, 195
 Achromobacter 302
 Actinomadura 241
 Actinomyces 48, 242
 Actinomycetaceae 48
 Actinomycetales 47, 48
 Aerococcus 45, 135
 Aeromonas 37
 Agrobacterium 37
 Alternaria 61, 155, 199, 240, 323, 324, 331
 — tenuis 152
 Amoebophilidium 226
 Anabaena 176, 247
 — azolla 327
 — cylindrica 326
 Anaplasmataceae 41
 Ancalomicrobium 245
 Anisoplia austriaca 335
 Anoxyphotobacteria 42
 Aphelidium 226
 Aquaspirillum 36
 Arachnia 48
 Archangiaceae 39, 148
 Archangium 39, 148
 Archeobacteria 51
 Armillariella 152
 Arthrobacter 46, 143, 144, 165, 175, 176, 238
 — atrocyaneus 47
 Ascomycetes 59, 61
 Aspergillus 60, 77, 145, 147, 148, 151, 165, 194, 199, 200, 216, 229, 240, 243, 317, 319
 — fumigatus 161, 261
 — niger 147, 222
 Asticcacaulis 245
 Aulosira 326
 Aureobasidium 241
 Azolla 177
 — caroliniana 327
 — filiculoides 327
 — imbricata 327
 — rubra 327
 Azomonas 36, 174
 Azospirillum 36, 175, 326
 — brasilense 174, 175, 325, 326
 — lipoferum 174, 325, 326
 Azotobacter 36, 78, 94, 156, 173, 189, 302, 308, 324, 325
 — agilis 171
 — chroococcum 169, 171, 172, 323, 324, 331
 — indicum 173
 — paspali 173
 — vinelandii 171
 Azotobacteriaceae 36, 171, 173, 174
 Bacillaceae 45, 140, 149, 152, 157, 160, 175, 176
 Bacillus 29, 31, 33, 45, 65, 71, 73, 83, 119, 145, 148, 151, 152, 156, 157, 160, 161, 167, 194, 195, 199
 — adherens 239
 — agglomeratus 239
 — albus 33
 — armeniaca 333
 — asterosporus 239
 — brevis 239
 — cereus 29, 157, 239, 336
 — gasificans 239
 — idosus 222, 239
 — licheniformis 357
 — macerans 152
 — megaterium 23, 199, 216, 239, 328
 — megaterium var. phosphaticum 328
 — mesentericus 20, 29, 145, 199, 216, 239, 277, 278, 317
 — mucilaginosus siliceus 328
 — mycoides 20, 145, 157, 222, 239, 277
 — pasteurii 82, 160
 — polymyxa 152, 176
 — salanyperda 239
 — septicus insectorum 335
 — subtilis 157, 216, 222, 239, 277, 278, 317, 345, 357
 — thuringiensis 336, 337
 — thuringiensis var. caucasiensis 337
 — thuringiensis var. dendrolimus 336
 — thuringiensis var. galleriae 337
 — tracheitus sivegraphitosis 335
 — virgulus 239
 Bacterium 243
 — typhimurium 332
 Bacteroidaceae 37
 Bacteroides 37
 — succinogenes 149

ctoderma 243
 rtonellaceae 41
 sidiomycetes 60, 61, 152
 ellovibrio 36, 87, 225
 bacteriovorus 87
 auveria 337
 bassiana 335, 337
 ggiatoa 40, 193—195
 ggiatoaceae 39, 40
 ijerinekia 36, 173, 174, 238
 tabacterium breve 345
 idobacterium 48, 137
 bifidum 137
 keslea trispora 354
 astobacter 245
 astocaulis 201
 do 57
 rrelis 35
 trydium 55
 granulatum 55
 trytis 148, 331
 paradossa 335
 revibacterium 353
 umilleriopsis 55
 utyrovibrio fibrisolvens 149

 alothrix 176, 247
 ampyobacter 36
 andida 61, 144, 199, 240, 350, 352
 vittilis 353
 asuarinales 188
 aulobacter 41, 245
 ellulomonas 46, 148
 ellivibrio 242, 277
 ephalosporium 61
 ercomonas 57
 haethomium 60, 148, 242, 351
 haraciopsis 55
 hlamydiaceae 42
 hlamydiales 41, 42
 hlamydomonadales 54
 hlamydomonas 56, 246
 hlorella 246, 304, 352
 vulgaris 304
 chlorobiaceae 42, 96
 chlorobiales 42
 chlorobium 42, 176, 193
 chlorococcales 54
 chlorococcum 246
 chloroflexaceae 42
 chlorophyta 54
 choanephora 240
 chromatiaceae 42, 96
 chromatium 42, 176, 193
 chrysophyta 55
 chytridiomycetes 59
 cinnobolus cesati 330
 cillata 57
 ctrobacter 37
 cladosporium 61, 165, 240
 herbarum 155

Clavaria 152
 Claviceps paspali 318
 — purpurea 318
 Clonothrix 40
 Clostridium 29, 30, 31, 45, 82, 139—
 142, 145, 149, 151—153, 156, 157, 175,
 176, 239, 243
 — acetobutylicum 140, 142, 175, 176,
 239
 — acidi-urici 141
 — aurantibutyricum 152
 — botulinum 141, 142, 319
 — butylicum 140
 — butyricum 30, 140—142, 175
 — cellobioparum 149, 150
 — corallinum 152
 — cylindrosporium 141
 — dissolvens 150
 — felsineum 142, 152—155, 175
 — flavum 152
 — histolyticum 141
 — kluyveri 141
 — omelianskii 149, 150, 277
 — oroticum 141
 — pasteurianum 94, 140, 142, 169,
 175, 206, 239
 — pectinolyticum 152, 154
 — pectinovorum 152, 153, 175, 176
 — perfringens 141, 142, 145
 — putrificus 157
 — sporogenes 141, 145, 157
 — tetani 23, 142
 — thermocellum 149, 150, 277, 278
 — tyrobutyricum 140
 — uracilicum 141
 Cocomyxa 246
 Colpoda 57
 Coriariales 188
 Corynebacterium 46, 165, 353
 Crenothrix 40, 201
 Cristispira 35
 Cryptococcus 240
 Cryptomonas 56
 Cucurbitales 188
 Cunninghamella 240
 Cyanobacteriales 43
 Cylindrospermum 176, 326
 Cytophaga 39, 147, 148, 151, 161, 242,
 277
 Cytophagaceae 39, 147
 Cytophagales 38, 39

 Daedaleopsis confragosa 351
 Darluca filum 331
 Dematium 148, 240, 242
 Dendroochium toxicum 319
 Derxia 36, 174
 Desulfomonas 119
 Desulfotomaculum 29, 45, 119, 196
 — nigrificans 196
 Desulfovibrio 38, 119, 196

- desulfuricans 193, 196
- Desulfurococcus 52
- Deuteromycetes 60, 61

- Endogonaceae 312
- Endomycetales 61
- Enterobacter 37, 143, 189, 238
- Enterobacteriaceae 37, 143, 157, 174, 325
- Entomophthora anisopliae 335
- Eremothecium ashbyi 354
- Erwinia 37, 143, 174
 - amylovora 131
 - herbicola 37, 314, 317
- Escherichia 37, 71, 73, 83, 143
 - coli 20, 25, 29, 71, 90, 127, 143, 154
- Eubacterium 46, 47
- Euglena viridis 56
- Eumycota 58

- Fagales 188
- Firmibacteria 44
- Firmicutes 44
- Flagellata 56
- Flavobacterium 143, 161
- Fomes 151, 152
- Frankia 48, 186—188, 269, 309, 322
- Frankiaceae 48
- Fungi imperfecti 60
- Fusarium 61, 131, 148, 165, 240, 314, 318, 323, 334
 - graminearum 318
 - lactis 152
 - moniliforme 338
 - nivala 152
 - orobanches 331
 - sambicinum 240
 - sporotrichiella 318
- Fusobacterium 37

- Gallionella 41, 201, 202
 - ferrugineae 201
- Gemella 45
- Gibberella fujikuroi 338
- Glomus 312
- Gluconobacter 37, 145
 - oxydans 146
- Gracilicutes 34

- Halobacterium 52, 77
- Halococcus 52, 77
- Hansenula 199
- Hantzschia 55
- Helmintosporium 323, 334
- Heterothrix 55
- Holotricha 57
- Hormogoniophyceae 176
- Hyphomicrobium 41, 144, 201, 245, 247
- Hyphomonas 245

- Hyphomycetales 60
- Klebsiella 37, 126, 174, 189
 - rubacearum 189
- Kurthia 46

- Labris 245
- Lactobacillaceae 45
- Lactobacillus 46, 136, 137
 - acidophilus 136, 137
 - brevis 137, 345
 - bulgaricus 136—138
 - casei 136
 - caucasicus 137
 - delbrueckii 136
 - fermentum 137
 - helveticus 136
 - lactis 136
 - leichmannii 136
 - plantarum 136, 347, 348
- Leguminosae 177
- Leprosira 35
- Leptospiraceae 35
- Leptothrix 40, 41, 201
 - ochraceae 201
- Leptotrichia 37
- Leuconostoc 45, 137
 - citrovorum 137
 - cremoris 134
 - dextranicum 137
 - mesenteroides 137
- Lipomyces 61, 241
 - starkeyi 240
 - tetrasporium 241
- Lysobacter 225

- Macromonas 195
- Macrosporium 240
- Mastigocladales 176
- Mastigophora 56
- Melanconiales 60
- Mendosicutes 51
- Metallogenium 201, 202
 - symbioticum 202
- Metarrhizium anisopliae 335
- Methanobacterium 52, 282
- Methanococcus 52
- Methanosarcina 52, 282
- Methylobacter 144
- Methylococcaceae 37
- Methylococcus 37, 143, 144
- Methylocystis 144
- Methylomonadaceae 144, 176
- Methylomonas 37, 143, 144, 176
- Methylosinus 144
- Microbispora 49
- Micrococcaceae 44, 160
- Micrococcus 44, 160, 199
 - glutamicus 353
 - urea 160
- Mycrocyclus 245

Uromonospora 49, 148, 161
Uromonosporaceae 48, 49
Uropolyspora 49
Utricularia 51
Utricularias 57
Utriculariales 60
Utricularia hypopitys 309
Utricularia 224, 240
Utricularia alpina 240
Utricularia dichotoma 240
Utricularia usabellina 240
Utriculariaceae 240
Utricularia 59, 131, 147, 314, 319
Utriculariales 59
Utricularia sterilia 61
Utriculariaceae 48
Utricularium 48, 65, 143, 144, 199,
2, 243, 302, 308
Utricularia tuberculosis 20
Utricularia 50, 51
Utriculariataceae 51
Utriculariales 51
Utricularia 58
Utriculariales 188
Utricularium 148
Utriculariales 38, 148
Utriculariaceae 39, 148
Utricularia 39, 148
Utriculariataceae 58
Utricularia 61
Utricularia 55
Utriculariaceae 37
Utricularia 38, 156, 162—164
— *agilis* 163
— *winogradskii* 163
Utriculariaceae 38, 162
Utricularia 163
Utricularia 38, 162
Utricularia lobus 38, 162
Utricularia 38, 156, 162, 164
— *europaea* 162
Utricularia 38, 163
Utricularia 38, 162
Utricularia 162
Utricularia 55
Utricularia 49, 143, 144, 161, 165, 242,
243, 302
— *corallina* 243, 302
— *rubra* 243
Utriculariaceae 48, 49
Utricularia 176, 247
— *linckia* 326
— *punctiforme* 304
Utriculariales 176
Utricularia 56
Utricularia 57
Utricularia lactis 145
Utriculariataceae 59

Orobanchae aegyptiaca 331
Oxyphotobacteria 43

Panus tigrinus 352
Papilionaceae 177
Paracoccus 167
— *denitrificans* 167
Paramaecium 57
Parasponia 188
— *parviflora* 188
Paspalum 318
— *notatum* 173
Pavetta 188, 189
Pediococcus 45, 135, 136
— *cerevisiae* 136
Pedomicrobium 41, 243, 245
Pedodiction 176
Penicillium 60, 77, 145, 147, 148, 165,
194, 199, 200, 216, 222, 229, 240, 242,
243, 261, 314, 317, 319, 351
— *glaucum* 8
Peptococcaceae 44, 45
Peptococcus 45
Peptostreptococcus 45
Peritricha 57
Phoma 60
Phormidium 177
— *tenuis* 304
Photobacterium 37
Phytophthora 59
Pinnularia 55
Pinus radiata 189
Plagioopyxis 57
Planococcus 44
Plasmodiophora brassicae 59
Plectonema 177
Plesiomonas 37
Pleurochloris 55
Poa pratensis 188
Polyangiaceae 39, 148
Polyangium 39, 148
Polyporus 151, 152
Polystictus 152
Procaryotae 34
Prochlorales 43
Prochloron 44
Propionibacteriaceae 46, 138
Propionibacterium 46, 138
Prosthecomicrobium 245
Proteus 37, 143, 157
— *vulgaris* 23, 157
Protozoa 226
Pseudomonadaceae 36, 157, 174
Pseudomonas 20, 36, 65, 71, 73, 78,
119, 143, 144, 148, 152, 156, 157, 161,
165, 167, 194, 199, 243, 261, 277, 303,
308, 331
— *aeruginosa* 36, 157, 167, 303
— *citriputealis* 333
— *fluorescens* 145, 157, 167, 174, 238
— *herbicola* 314

- *pyacyanea* 145
- *stytzeri* 36, 167
- Psychotria 188
- Puccinia *tritricina* 331
- Pythium 59, 323

- Renobacter 246
- *vacuolatum* 247
- Rhamnales 188
- Rhizobiaceae 36
- Rhizobium 37, 65, 71, 156, 178, 180—183, 185, 186, 188, 309, 320, 321
- *cicer* 180
- *japonicum* 180
- *leguminosarum* 180
- *lotus* 180
- *lupini* 180
- *meliloti* 180
- *phaseoli* 180
- *robinii* 180
- *simplex* 180
- *trifolii* 180
- *vigna* 180
- Rhizoctonia 61, 148, 334
- Rhizophlyctis 242
- Rhizopogon *roseolus* 189
- Rhizopus 59, 147, 151, 199, 240
- Rhodomicrobium 42
- Rhodopseudomonas 42, 176
- Rhodospirillaceae 42, 97
- Rhodospirillales 42
- Rhodospirillum 42, 176
- Rhodospiridium 61, 240, 241
- Rhodotorula 61, 155, 199, 240
- Rickettsia *prokawekii* 42
- Rickettsiaceae 41
- Rickettsiales 41
- Rosales 188
- Ruminobacter *parvum* 149
- Ruminococcus 45
- *albus* 149
- *flavofaciens* 149

- Sascharomyces 61, 131, 199.
- *cerevisiae* 61, 131, 133
- *cerevisiae* var. *ellipsoides* 133
- *globosus* 131
- *kefir* 138
- *vini* 131, 133
- Saccharomycetaceae 61
- Salmonella 37, 71, 73, 83, 143, 332
- *enteritidis* var. *Issatschenko* 332
- Sarcina 45
- *ventriculi* 131
- Sarcodina 57
- Schizosaccharomyces 61
- Sclerocystis 312
- Sclerotinia 307, 331
- Sclerotium 61
- Scotobacteria 35
- Seytonema 176

- Selenomonas 37
- Seliberia 201, 243, 246
- *stellata* 247
- Serpula *lacrymans* 60
- Serratia 82, 143
- *marcescens* 145
- Sesbania *rostrata* 186
- Shigella 37, 71, 83, 143
- Siderocapsa 38, 202
- Siderocapsaceae 38
- Siderococcus 38
- Sphaeropsidales 60
- Sphaerotheca *mors-uvae* 331
- Sphaerotilus 40
- Spirillaceae 36
- Spirillum 23, 36, 238
- Spirochaeta 35
- *cytophaga* 147
- *plicatilis* 35
- Spirochaetaceae 35
- Spirochaetales 35
- Spiroplasma 51
- Spiroplasmataceae 51
- Spirosoma 246
- Spirotricha 57
- Spirulina 352
- Sporobolomyces 61, 241
- Sporocytophaga 39, 148, 151
- Sporodibolus 241
- Sporolactobacillus 45
- *inulinus* 134
- Sporocarcina 45, 160*
- *urea* 160
- Stachybotris *alternans* 318
- Staphylococcus 44, 65, 83
- Stella 245, 247
- Stigonematales 176
- Stremphylium *botryosum* 152
- Streptobacterium *plantarum* 345
- Streptococcaceae 44, 135
- Streptococcus 44, 65, 71, 135, 136, 143
- *cremoris* 134—136
- *diacetylactis* 135, 136
- *lactis* 135—137, 345
- *lactis diastaticus* 347
- *thermophilus* 135, 136, 345
- Streptomyces 20, 49, 65, 148, 151, 161, 229
- *albus* 241
- *aurantiaca* 354
- *aureverticillatus* 357
- *aurigineus* 357
- *aviculastus* 353
- *bambergiensis* 357
- *casugoensis* 334
- *chromogenes* 241
- *cinnamomensis* 357
- *flavus* 241
- *fradia* 241, 357
- *globisporus* 241
- *griseochromogenes* 334

- griseus* 241, 334, 356
hydroscopicus 334
lavandula 334
rubroaurantiacus 241
tyoidens 353
verticillatus 241
violaceus 241
virginiae 357
septomycetaceae 48, 49
septosporangium 148
septothrix 40
slonichia 57
solobus 52, 194, 195
Sphaerobacteria 46
mericutes 50
sammidium 59
thermoactinomyces 49
thermophilum 52
thermoplasma 52
thermoproteus 52
thiobacillus 38, 193, 194, 196, 207
 - *denitrificans* 168, 194, 195
 - *ferrooxidans* 194, 196, 202
 - *novellus* 194
 - *thiooxidans* 82, 194, 224
 - *thioparus* 194
thiobacterium 38, 194, 195
thiocapsa 176
thiocystis 176
thiodendron 194
thiomicrospira 194
thioploca 194, 195
thiospira 38, 194, 195
thiospirillum 42
thiothrix 194, 195
Tilletiopsis 241
Toluothrix 247
Tolypothrix 176
 - *tenuis* 326
Torula 61, 138
Trema 188
 - *orientalis* 188
Treponema 35
Tribonema 55
Trichoderma 61, 148, 261, 331
 - *lignorum* 152, 331, 332, 334
 - *viride* 351
 - *vulgaris* 302
Trichosporon 240
Trichothecium 199
 - *roseum* 334
Tuberoïdobacter mutans 247
Ulotrichales 55
Ureaplasma 51
Ustilina 152
Verticillium 148, 323
 - *albo atrum* 331
 - *dahliae* 330
Vibrio 23, 37, 83, 148, 151
 - *metchnikovi* 19
Vibrionaceae 37
Vorticella 57
Xanthomonas 36
Xanthophyta 55
Zygomycetes 59
Zymomonas mobilis 131

Введение	3
ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	17
Глава 1. Морфология и ультраструктура клеток бактерий	17
Морфологические типы бактерий	17
Ультраструктура бактериальной клетки	21
Глава 2. Систематика бактерий	32
Отдел I — Gracilicutes	34
Класс I — Scotobacteria	35
Класс II — Anoxyphotobacteria	42
Класс III — Oxyphotobacteria	43
Отдел II — Firmicutes	44
Класс I — Firmibacteria	44
Класс II — Tallobacteria	46
Отдел III — Tenericutes	50
Отдел IV — Mendosicutes	51
Глава 3. Морфология и систематика других групп микроорганизмов	53
Водоросли	53
Простейшие	55
Грибы	58
Вирусы	62
Глава 4. Генетика микроорганизмов	65
Наследственные факторы микроорганизмов	65
Механизмы, вызывающие изменение генетической информации	67
Мутации	68
Генетические рекомбинации	70
Плазмиды бактерий	73
Практическое использование достижений генетики микроорганизмов и генная инженерия в микробиологии	74
Глава 5. Микроорганизмы и окружающая среда	76
Глава 6. Питание микроорганизмов	88
Глава 7. Метаболизм микроорганизмов	98
Понятие о катаболизме и биосинтезе	98
Ферменты микроорганизмов	99
Аккумуляция энергии в клетках микроорганизмов	102
Окисление и восстановление органических соединений	103
Брожение	104
Дыхание	113
Фотосинтез	119
О биосинтезе некоторых веществ микробной клетки	120
Глава 8. Рост и размножение микроорганизмов	125
Глава 9. Превращение микроорганизмами соединений углерода	129
Круговорот углерода и кислорода	129
Спиртовое брожение	131

Молочнокислое брожение	133
Пропионовокислое брожение	138
Процессы брожения, вызываемые бактериями рода Clostridium	139
Смешанное кислое и бутандиоловое брожение	143
Окисление углеводов	143
Окисление жиров и высокомолекулярных кислот жирного ряда	144
Окисление этилового спирта до уксусной кислоты	145
Окисление углеводов до лимонной кислоты и других органических кислот	146
Разложение целлюлозы	147
Разложение гемицеллюлоз	150
Разложение лигнина	151
Разложение пектиновых веществ	152
Глава 10. Превращение микроорганизмами соединений азота	155
Аммонификация белков (минерализация азота)	156
Разложение нуклеиновых кислот	159
Разложение мочевины, мочевой и гиппуровой кислот, цианамида и хитина	160
Нитрификация	161
Иммобилизация азота	166
Денитрификация	167
Глава 11. Биологическая фиксация молекулярного азота	169
Открытие микроорганизмов, фиксирующих молекулярный азот	169
Свободноживущие микроорганизмы, фиксирующие молекулярный азот	171
Симбиотическая фиксация азота у бобовых растений	177
Симбиотическая азотфиксация у небобовых растений	186
Химизм фиксации микроорганизмами молекулярного азота	189
Глава 12. Микробиологические превращения соединений серы, фосфора, железа	193
Биологический цикл соединений серы	193
Окисление неорганических соединений серы	194
Восстановление неорганических соединений серы	196
Превращения органических соединений фосфора	197
Превращения неорганических фосфатов	199
Минерализация органических соединений, содержащих железо	200
Окисление восстановленных (закисных) и восстановление окисных соединений железа	201
СПЕЦИАЛЬНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	203
Глава 13. Почвообразовательный процесс и формирование микробных ценозов почвы	203
Развитие взглядов на роль микроорганизмов в образовании почвы	203
Процесс образования почвы и деятельность микроорганизмов	207
Факторы среды, определяющие развитие микробного ценоза почвы	215
Глава 14. Особенности состава микробных ценозов почв различных типов	226
Методы определения состава и активности почвенных микроорганизмов	226
Микроорганизмы почв различных типов	234
Глава 15. Влияние на микронаселение почвы ее обработки и мелиорации	249
Глава 16. Системы использования почвы и микробиологические основы повышения ее плодородия	259
Севообороты и плодородие почвы	259
Биологический азот в земледелии	263
Накопление гумуса и создание структуры почвы	271

Глава 17. Удобрение и микробиологические процессы в почве	274
Микробиологические процессы при подготовке органических удобрений	275
Получение биогаза из жидкого навоза	281
Влияние минеральных и органических удобрений на микроорганизмы и плодородие почвы	283
Глава 18. Регулирование микробиологических превращений в почве основных элементов питания растений	289
Трансформация азота в почве	289
Трансформация в почве соединений фосфора и калия	293
Баланс основных элементов питания растений в пахотных почвах	297
Глава 19. Использование химических и термических методов защиты урожая	300
Влияние на микроорганизмы пестицидов и их трансформация в почве	300
Химические и термические методы обезвреживания почвы	305
Глава 20. Взаимоотношения микроорганизмов и растений	307
Микроорганизмы зоны корня и их влияние на растение	307
Симбиоз микроорганизмов с растениями	309
Эпифитные микроорганизмы растений и хранение урожая	314
Развитие на растениях токсигенных грибов	317
Глава 21. Микробные землеудобрительные препараты и их эффективность	319
Инокуляция бобовых растений клубеньковыми бактериями	319
Применение препарата <i>Azotobacter chroococcum</i> (азотобактерина)	323
Использование рода <i>Azospirillum</i> для бактеризации растений	325
Использование цианобактерий (сине-зеленых водорослей)	326
Фосфоробактерии и его эффективность	328
Препарат «силикатных» бактерий	328
Препарат АМБ	328
Микоризация растений	329
Глава 22. Использование в сельском хозяйстве микробов-антагонистов и микробных метаболитов	330
Микробы-антагонисты и их применение для защиты растений	330
Применение антибиотиков для защиты растений	332
Использование микробных препаратов для борьбы с вредными насекомыми	335
Стимуляция роста растений биологически активными веществами	338
Глава 23. Микробиология кормов	340
Процессы, происходящие при сушке сена и других кормов	340
Консервирование кормов	342
Глава 24. Использование продуктов микробного синтеза для кормления животных	345
Синтез кормового белка и аминокислот	345
Синтез микроорганизмами витаминов и ферментов	353
Использование антибиотиков в кормлении животных	353
Список литературы	353
Указатель латинских названий	361

