

Владимирский государственный университет

БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ

Учебное пособие



Владимир 2020

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ

Учебное пособие

Электронное издание



Владимир 2020

© Шентерова Е. М., Мазиров М. А.,
Гафурова Л. А., Джалилова Г. Т., 2020

ISBN 978-5-9984-1109-0

УДК 631.4

ББК 40.3

Авторы:

Е. М. Шентерова, М. А. Мазиров, Л. А. Гафурова, Г. Т. Джалилова

Рецензенты:

Доктор сельскохозяйственных наук
зам. директора по науке Верхневолжского федерального
аграрного научного центра

С. И. Зинченко

Кандидат биологических наук
доцент кафедры биологии и экологии
Владимирского государственного университета
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых

Н. В. Чугай

Биология и экология почв [Электронный ресурс] : учеб. пособие /
Е. М. Шентерова [и др.] ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столето-
вых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2020. – 217 с. – ISBN 978-5-9984-
1109-0. – Электрон. дан. (4,48 Мб). – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM). –
Систем. требования: Intel от 1,3 ГГц ; Windows XP/7/8/10 ; Adobe
Reader ; дисковод CD-ROM. – Загл. с титул. экрана.

Включает теоретические основы курса, лабораторные работы, исследова-
тельские задачи, список рекомендуемой литературы, что позволяет студентам
углубить свои знания в области биологии и экологии почв.

Предназначено для студентов, обучающихся по направлениям подготовки
06.03.02 – Почвоведение, 35.03.03 – Агрохимия и агропочвоведение.

Рекомендовано для формирования профессиональных компетенций в со-
ответствии с ФГОС ВО.

Табл. 6. Ил. 56. Библиогр.: 61 назв.

ISBN 978-5-9984-1109-0

© Шентерова Е. М., Мазиров М. А.,
Гафурова Л. А., Джалилова Г. Т., 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. БИОЛОГИЯ ПОЧВ.....	7
1.1. Организация, методы и правила работы в микробиологической лаборатории	7
1.1.1. Организация микробиологической лаборатории	7
1.1.2. Методы изучения микроорганизмов	7
1.1.3. Правила работы в микробиологической лаборатории.....	9
1.2. Устройство микроскопа и правила работы с ним	18
1.2.1. Устройство светового микроскопа	18
1.2.2. Правила работы с микроскопом.....	20
1.3. Исследование живых клеток микроорганизмов под микроскопом	22
1.4. Морфология микроорганизмов. Характеристика отдельных групп	23
1.4.1. Бактерии.....	23
1.4.2. Дрожжи	43
1.4.3. Мицелиальные грибы	50
1.5. Почвообитающие животные и их роль в процессе почвообразования	55
1.6. Биологические процессы в почвообразовании. Роль микроорганизмов в превращении органического вещества почвы	57
1.7. Разложение растительных остатков и формирование подстилки	63
1.8. Превращения почвенными микроорганизмами различных соединений	66
1.8.1. Соединения фосфора.....	66
1.8.2. Превращения калия	69
1.8.3. Превращения железа	69
1.8.4. Превращения алюминия.....	71
1.8.5. Превращения соединений серы.....	72
1.8.6. Биогеохимические превращения и круговорот соединений азота	75
1.8.7. Биогеохимические превращения и круговорот соединений фосфора	92
1.8.8. Биогеохимические превращения и круговорот соединений калия	96

1.8.9. Биогеохимические превращения и круговорот соединений кальция и серы	99
1.9. Методы стерилизации	106
1.10. Стерилизация питательных сред.....	107
1.11. Подготовка сред к стерилизации	115
1.11.1. Дробная стерилизация (тиндализация)	118
1.11.2. Стерилизация фильтрованием.....	119
1.12. Назначение, классификация и приготовление питательных сред.....	131
1.12.1. Классификация питательных сред.....	131
1.12.2. Приготовление питательных сред	136
1.13. Методы приготовления препаратов микроорганизмов для микроскопирования. Техника взятия культуры для приготовления препарата.....	137
1.14. Приготовление почвенной суспензии для посева. Техника посева на питательные среды	141
1.15. Изучение морфолого-культуральных признаков микроорганизмов	144
1.16. Морфология, строение, размножение, систематика и значение почвенных микромицетов	146
1.17. Морфология, распространение и значение почвенных простейших	150
Глава 2. ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ.....	155
2.1. Классификация экологических функций почв	157
2.2. Глобальные функции почв	166
2.2.1. Литосферные функции почв	166
2.2.2. Гидросферные функции почв	170
2.2.3. Атмосферные функции почв	174
2.2.4. Биосферные функции почв	178
2.2.5. Этносферные функции почв	182
Глава 3. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ.....	187
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	211
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	212

ВВЕДЕНИЕ

Экология почв – новое направление, которое является неотъемлемой и важной частью общего генетического почвоведения в синтезе с достижением отраслевых наук о почвах: сельскохозяйственного, лесного, мелиоративного почвоведения и географии, изучающее изменение почвенных процессов и факторов почвообразования под влиянием хозяйственной деятельности человека и урбанизации территории.

Как дисциплина, экология почв занимается изучением закономерных соотношений между почвой и средой ее формирования в их взаимодействии и развитии.

Экологию почв можно разделить на три взаимосвязанных блока:

I. факторная экология почв (или учение о факторах почвообразования);

II. учение о почвенных экологических функциях;

III. сохранение (охрана) почв, как незаменимого компонента биосферы.

Биология почв - комплексная наука, зародившаяся на стыке разных разделов биологии и почвоведения. Она изучает процессы и явления, которые составляют область исследований генетического почвоведения (происхождение и развитие почв, образование гумуса, формирование почвенного профиля т др.), физики и химии почв (роль микроорганизмов в образовании водопрочных агрегатов почв, в разрушении структуры, в превращении элементов и их аккумуляции), географии почв (разработка принципов и методов биологической диагностики и классификации почв), агрохимии и земледелия (почвенное плодородие и питание растений). Почвенные микроорганизмы принимали деятельное участие в трансформации внесенных в почву минеральных и органических удобрений, разложении корневых остатков и соломы, а также в превращении органического вещества самой почвы - гумуса.

Биология почв включает почвенную зоологию и протистологию, альгологию и микологию, микробиологию и биохимию. Она изучает

процессы и явления, которые составляют область исследования генетического почвоведения (происхождение и развитие почв, образование гумуса, формирование почвенного профиля), физики и химии почв (роль микроорганизмов в формировании водопрочных агрегатов и разрушении структуры почвы, превращение отдельных элементов, их аккумуляция и т.д.), географии почв (разработка принципов и методов биоиндикации и классификации почв). Методологические особенности науки вытекают из того, что она не только описывает явления, но и расшифровывает механизмы протекающих в почве процессов, их биохимическую сущность. Несмотря на то, что эта наука связана с разделами почвоведения, она имеет свои объекты исследования (живые системы организмы, различного уровня организации), специфические задачи и методы решения.

Путем биологической фиксации азота атмосферы микроорганизмы вносят определенный вклад в решение проблемы азотного баланса в земледелии. Кроме того, значительная доля азота поступает в почву в результате симбиотической азотфиксации при участии клубеньковых бактерий. Микроорганизмы и выделяемые ими ферменты играют ведущую роль в разрушении различных пестицидов, вносимых в почву. Из этого неполного перечня становится очевидной та огромная роль, которую играют почвенные микроорганизмы в земледелии. Поэтому изучение и знание их видового состава, численности, условий для активной жизнедеятельности позволяют специалистам сельского хозяйства принимать правильные, научно обоснованные решения при размещении культур в севообороте, выборе способов обработки почвы, составлении системы удобрений, осуществлении различных мелиоративных мероприятий и выборе технологий возделывания отдельных сельскохозяйственных культур.

В настоящем методическом указании приводятся наиболее распространенные и хорошо апробированные методы определения численности микроорганизмов, их активности и видового состава. Показаны также способы определения некоторых почвенных ферментов, которые играют важную роль в почвообразовательном процессе.

Глава 1. БИОЛОГИЯ ПОЧВ

1.1. Организация, методы и правила работы в микробиологической лаборатории

1.1.1. Организация микробиологической лаборатории

Микробиологические и биологические лаборатории при сельскохозяйственных учреждениях занимаются изучением отдельных видов микроорганизмов в биохимических превращениях веществ в природе, в создании структуры и плодородия почв, в почвенном питании растений. Многие изучают возбудителей инфекционных заболеваний растений, разрабатывают методы их лабораторной диагностики и методы борьбы с ними. Проводят микробиологическую диагностику и индикацию экологического состояния почв.

1.1.2. Методы изучения микроорганизмов

В связи с большой спецификой исследований различными по профилю микробиологическими лабораториями их оборудование и режим работы различны, однако используются общие методы для изучения микроорганизмов и правила работы.

Микроскопический (бактериоскопический). В специально изготовленных препаратах (мазок, раздавленная капля и др.) под микроскопом изучают форму, размер, строение, отношение к окраске подвижных микробов;

Бактериологический. Проводится посев на питательные среды, изолирование отдельных видов друг от друга и изучение характера роста чистых культур на плотных или жидких питательных средах;

Биохимический. Позволяет определить принадлежность выделенного микроба к тому или иному роду или виду по его ферментативной активности или выяснить роль микроорганизма, который играет в круговороте веществ.

Серологический. Метод основан на идентификации (отождествлении) выделенных микробов и определении их видовой и типовой принадлежности по их антигенной структуре с помощью антител, содержащихся в иммунных сыворотках;

Биологический. Позволяет определить патогенных для людей, животных и растений микробов от сапротрофных. Он проводится путем заражения экспериментальных животных или растений микробом, выделенным в чистую культуру.

Специфика микробиологических работ требует, чтобы помещения было изолировано. Основные микробиологические исследования требуют условий стерильности и исключают возможность заражения окружающей среды бактерицидным материалом. Поэтому проводят дезинфекцию помещений лаборатории и используемых материалов и оборудования.

Дезинфекция - обеззараживание, т.е. уничтожение возбудителей инфекций с внешней среды.

Дезинфицирующие растворы: 1% раствор хлорамина, 3% раствор фенола (карболовая кислота), 3% раствор бикарбоната натрия.

Воздух в лаборатории очищают проветриванием. Продолжительность вентиляции помещения через форточку (не менее 30-60 мин) резко снижает количество микроорганизмов в воздухе, особенно при значительной разнице в температуре между наружным воздухом и воздухом в помещении. Более эффективный способ дезинфекции воздуха ультрафиолетовое облучение лучами с длиной волны 260 нм. Лучи могут вызывать гибель не только вегетативных клеток, но и спор. В зависимости от степени загрязнения воздуха для его стерилизации необходимо от 30 минут до нескольких часов.

В состав производственной или научной микробиологической лаборатории должны входить:

1. Лабораторная комната для производства бактериологических исследований;

Автоклавная (стерилизационная), в которой стерилизуются питательные среды, обеззараживают отработанный материал и зараженную посуду;

Моечная, оборудованная для мытья посуды;

Бокс (стерильная комната на 5 – 7 м²) для бактериологических исследований с чистыми культурами или с патогенами. Для стерилизации в боксе устанавливаются бактерицидные лампы (БУФ -15; БУФ-30).

Основное оборудование лаборатории:

1. Микроскопы;
2. Термостат для выращивания микробов;
3. Аппаратура для стерилизации (автоклав, сухожарочный шкаф, аппарат Коха для дробной стерилизации, водяная баня);
4. Холодильные установки для хранения культур микроорганизмов;
5. Аналитические весы;
6. Лабораторная посуда;
7. Чашки Петри;
8. Пробирки;
9. Стекла предметные и покровные;
10. Пипетки пастеровские;
11. Пипетки градуированные;
12. Пипетки автоматические;
13. Петли бактериологические;
14. Иглы препараторские;
15. Спиртовки;
16. Газовые горелки;

1.1.3. Правила работы в микробиологической лаборатории

На лабораторно-практических занятиях следует помнить, что в лаборатории студенты имеют дело с микроорганизмами, которые не всегда могут быть безвредными для окружающей среды и здоровья человека. При неосторожном обращении с материалом, содержащим болезнетворные бактерии, можно заразиться самому или стать источником инфекции. Поэтому следует соблюдать правила личной и общественной безопасности:

Не разрешается входить в лабораторию в пальто, головном уборе, вносить посторонние вещи.

К занятиям допускаются студенты только в халатах.

Студенты несут ответственность за используемые ими микроскопы и другое оборудование.

Необходимо ознакомиться с техникой безопасности при работе в микробиологической лаборатории и расписаться в журнале по технике безопасности.

Строго соблюдать правила обращения с химическими реактивами и красителями, особенно осторожно пользоваться смесью спирта с эфиром, не переносить ее на столы с горелками.

В лаборатории необходимо соблюдать чистоту и порядок, пользоваться только своим рабочим местом и прикрепленным к нему оборудованием.

Запрещается работать с неисправными электроприборами. Обо всех неполадках сообщать преподавателю.

Не оставлять открытыми чашки, пробирки, колбы с культурами микроорганизмов, чтобы не допускать их распыления, поскольку некоторые микроорганизмы являются аллергенами.

Использованные пипетки, предметные и покровные стекла, шпатели, ватные тампоны и т.п. помещают в сосуд с дезинфицирующей жидкостью (1% раствор хлорамина). Пинцеты, бактериологические петли некоторые другие металлические предметы прожигают в пламени газовой горелки.

Стол, одежду, обувь и другие предметы, случайно загрязненные исследуемым материалом или культурой микробов (разбилась пробирка, упала капля) подвергают немедленной дезинфекции в присутствии преподавателя. Рабочий стол дезинфицируют раствором хлорамина, 70% раствором изопропилового или этилового спирта.

После окончания работы культуры микроорганизмов и остатки исследуемого материала необходимо сдать преподавателю.

По окончании занятий протереть иммерсионный объектив микроскопа мягкой тканью, привести в порядок рабочее место. Тщательно продезинфицировать и вымыть руки.

13. Перед уходом из лаборатории дежурный должен проверить, включены ли газ, вода, электроприборы.

Микробиологи имеют дело с популяциями (культурами) микроорганизмов, состоящими из миллионов особей. Культуру, содержащую микроорганизмы одного вида, называют чистой. Если в культуре содержится более одного вида микроорганизмов, она носит название смешанной. В микробиологической практике используют главным образом чистые культуры микроорганизмов. Ввиду того что в воздухе и на поверхности предметов (на столах, инструментах, одежде), а также на руках, волосах и т. д. всегда имеется большое количество разнообразных микроорганизмов, следует постоянно заботиться о со-

хранении чистоты изучаемых культур. Требование чистоты культур в значительной степени определяет специфику устройства микробиологической лаборатории и правила работы микробиолога.

Кроме основного рабочего помещения лаборатория имеет стерилизационную, где размещены автоклавы и сушильные шкафы, бокс, моечную, холодильную комнату, помещение для хранения культур и т. д.

Бокс служит для пересевов микроорганизмов и представляет собой небольшую изолированную комнату, разделенную перегородкой на две части. Вход в рабочее помещение бокса осуществляется через тамбур с раздвижной дверью, что исключает резкое перемещение воздуха и, следовательно, занесение извне посторонней микрофлоры. Оборудование бокса состоит из стола, стула, газовой горелки и бактерицидной лампы, укрепленной в специальном штативе или смонтированной на потолке бокса. Удобно иметь в боксе подсобный стол, на котором размещают необходимые во время работы предметы.

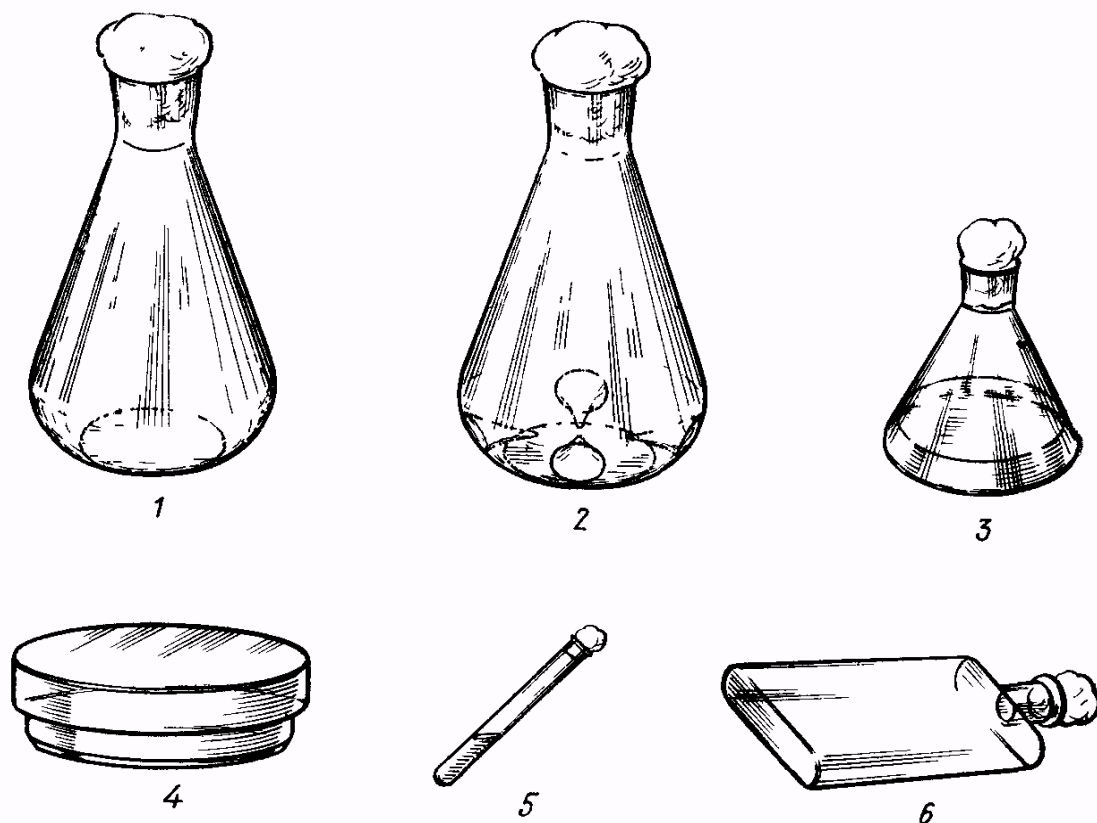
Рабочее место, где непосредственно проводится работа с культурами микроорганизмов, требует особенно тщательной обработки. Рабочий стол следует дезинфицировать не только до начала работы, но и после ее окончания. Для протирания поверхности стола можно использовать растворы лизола и хлорамина, а также 70%-ные (по объему) растворы изопропилового или этилового спиртов. Спирты весьма эффективны в отношении вегетативных форм микроорганизмов. Названные спирты можно также применять для дезинфекции рук. В тех случаях, когда поверхность стола имеет водоотталкивающее покрытие, особенно удобен лизол. Поверхность рабочего стола можно дезинфицировать и ультрафиолетовыми лучами. При этом следует учитывать, что бактерицидное действие лучей тем выше, чем ближе облучаемая поверхность к источнику излучения.

В лаборатории не разрешается курить, есть, пить. Работать следует в халатах.

В лаборатории микроорганизмы выращивают на плотных и в жидких питательных средах, которые разливают в пробирки, колбы, матрацы и чашки Петри. Посуду и питательные среды предварительно стерилизуют. Способы приготовления питательных сред и стерилизации подробно описаны в следующей главе пособия.

Внесение клеток микроорганизмов в стерильную среду называется посевом, или инокуляцией. Посев микроорганизмов требует соблюдения определенных правил, которые необходимо выполнять, чтобы предохранить исследуемую культуру от загрязнения посторонними микроорганизмами. Перед посевом следует тщательно надписать на пробирке (колбе или чашке Петри) название микроорганизма и дату посева. Надпись делают чернилами по стеклу или на специально наклеенной этикетке.

Клетки микроорганизмов для посева или приготовления препаратов берут бактериологической петлей или иглой, если микроорганизмы выращены на плотной среде. В том случае, когда нужно приготовить препарат или пересеять культуры микроорганизмов, выросшие в жидкой питательной среде, лучше пользоваться не петлей, а стерильной пипеткой. Бактериологические петли и иглы делают, используя тонкую проволоку из платины или нихрома, которую закрепляют в металлическом держателе или впаивают в стеклянную палочку. Диаметр бактериологической петли - 4 - 5 мм.



*Рис. 1. Посуда для культивирования микроорганизмов:
1 – качалочная колба; 2 – качалочная колба с отбойниками;
3 – коническая колба; 4 – чашка Петри; 5 – пробирка; 6 – матрац*

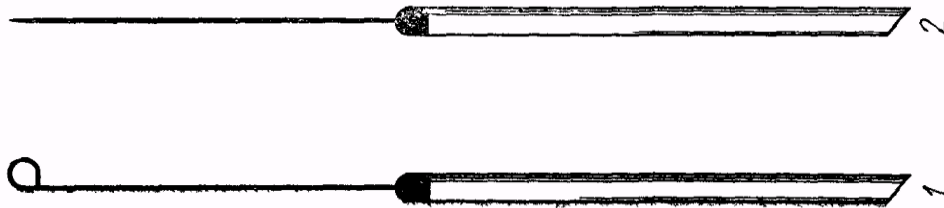


Рис. 2. Бактериологическая петля (2) и бактериологическая игла (1)

Бактериологическую петлю (иглу) перед взятием клеток микроорганизмов стерилизуют. Для этого проволоку накаливают докрасна в пламени горелки и одновременно обжигают примыкающую к петле часть держателя, которая будет вводиться внутрь сосуда, содержащего микроорганизмы. Петлю рекомендуется держать в пламени горелки почти вертикально, чтобы проволока была равномерно раскалена на всем протяжении. При прокаливании необходимо помнить, что наивысшая температура развивается в верхней и периферической частях пламени, поэтому не следует опускать петлю непосредственно к горелке. Сразу же после стерилизации петлю (иглу) вводят в сосуд с микроорганизмами. Чтобы не повредить клетки микроорганизмов, петлю (иглу) вначале охлаждают, прикасаясь ею к внутренней поверхности сосуда или к питательной среде, свободной от клеток микроорганизмов, и только после этого захватывают небольшое количество микробной массы.

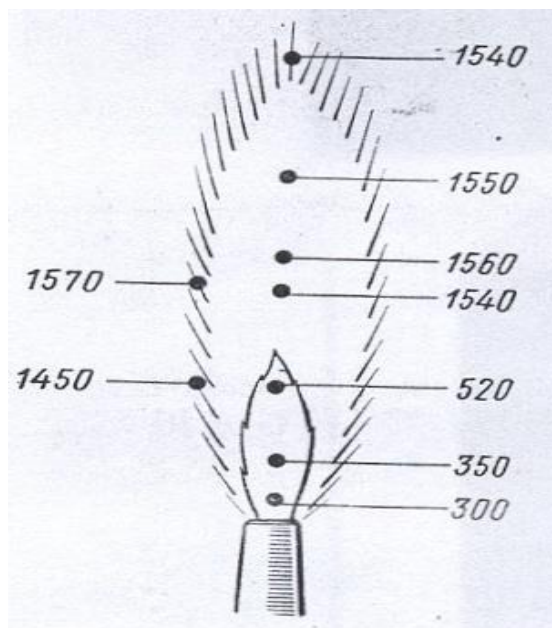


Рис. 3. Температуры пламени газовой горелки в разных участках ($^{\circ}\text{C}$)

Отбор клеток микроорганизмов, выращенных на плотной среде в пробирке, осуществляют следующим образом. Пробирку с культурой берут в левую руку так, чтобы поверхность питательной среды с налетом выросших микроорганизмов была обращена кверху и хорошо видна. Пробирку держат в горизонтальном или несколько наклонном положении. В правую руку берут петлю так, как держат карандаш, и прокалывают ее в пламени горелки. Затем, не выпуская петли, мизинцем и безымянным пальцем правой руки прижимают ватную пробку к ладони, вынимают ее из пробирки и держат так во время последующих манипуляций. Край открытой пробирки с культурой микроорганизмов обжигают в пламени горелки и после этого вводят в пробирку стерильную петлю. Взяв небольшое количество микробной массы с поверхности субстрата, вынимают петлю из пробирки, следя за тем, чтобы переносимый материал не касался стенок или краев пробирки.

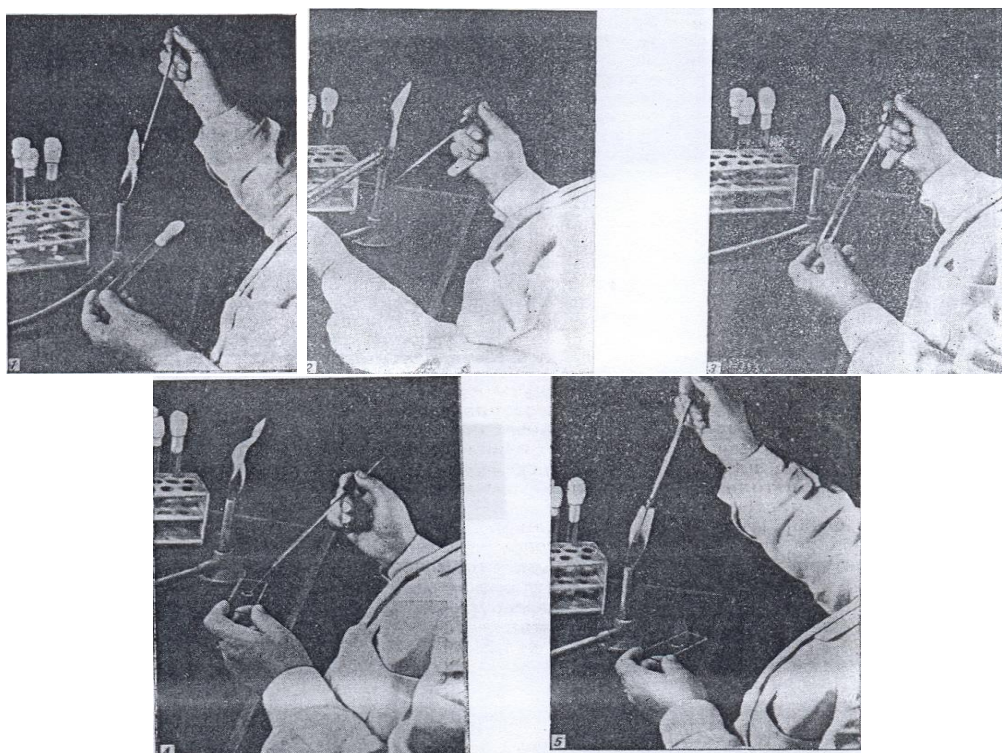
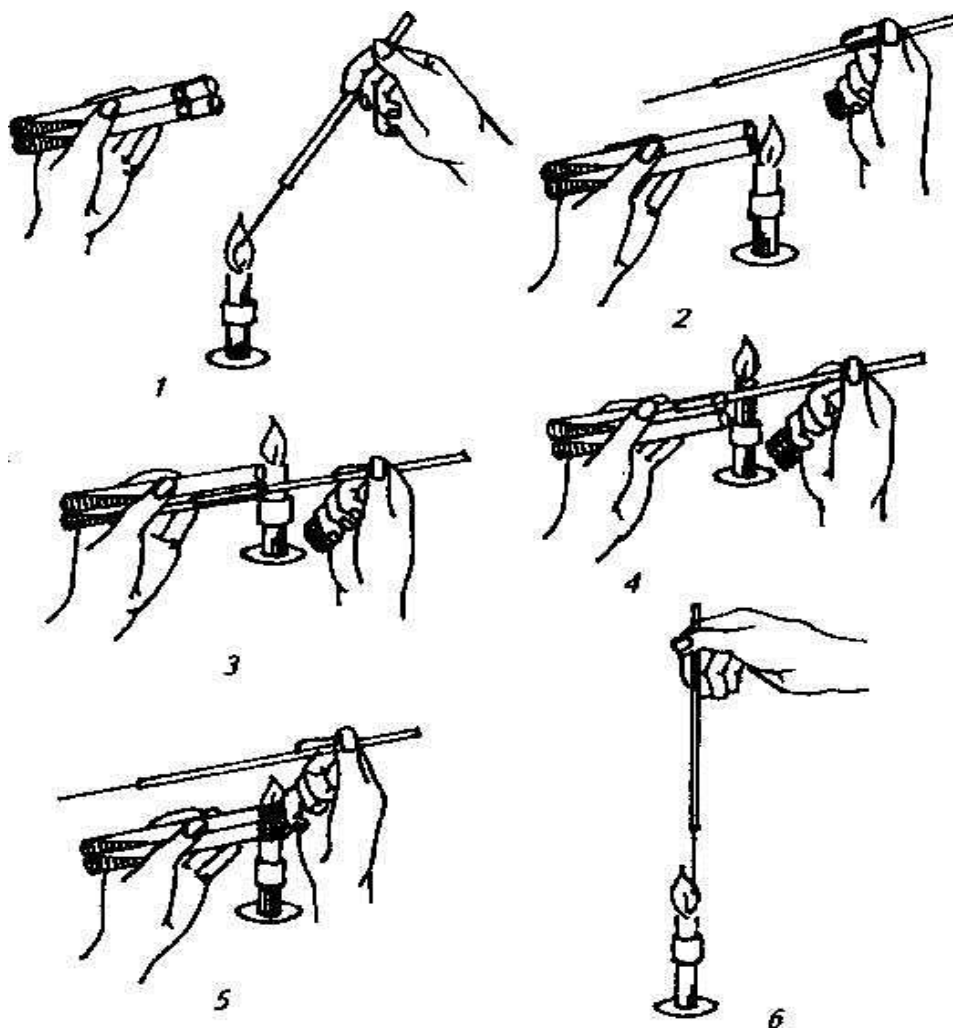


Рис. 4. Стерильное извлечение микроорганизмов с поверхности плотной среды

Горлышко пробирки снова обжигают в пламени горелки, затем обжигают ватную пробку и закрывают ею пробирку. Если конец ватной пробки загорится, то не следует бросать пробку. Ее нужно быстро ввести в пробирку, где вата сама потухнет. Ни в коем случае нельзя

дуть на загоревшуюся пробку, так как это только усилит горение. Если в момент пересева ватная пробка упадет на стол или на пол, то не следует снова вставлять ее в пробирку. Нужно взять новую стерильную пробку и начать всю операцию заново. Закрытую ватной пробкой пробирку с культурой ставят в штатив, а извлеченный материал используют для приготовления препарата или для пересева культуры в свежую среду.



*Рис. 5. Пересев микроорганизмов из пробирки в пробирку:
1, 6 – стерилизация петли; 2 – стерилизация краев пробирки;
3,4 – взятие и посев материала; 5 – закрывание пробирок пробками*

Если культуру пересевают на скошенную агаризованную среду, то петлю вводят в пробирку до конца и, слегка касаясь ею поверхности агара, проводят снизу-вверх либо зигзагообразную, либо прямую черту - штрих. При этом стараются не повредить поверхность плотной среды. В случае пересева в жидкую среду (в колбы или пробирки)

петлю с микробной массой погружают непосредственно в среду. Оставшиеся на петле после пересева или приготовления препарата клетки микроорганизмов тщательно сжигают в пламени горелки. Прокаливание петли в этом случае начинают с участка проволоки, примыкающего к кольцу, для того, чтобы микробная масса, оставшаяся на петле, подсохла. Затем петлю переводят в вертикальное положение и прокаливают докрасна. Только после прокаливания петлю можно положить на место.

Из жидкой среды клетки берут следующим образом: пипетку за верхний конец вынимают из бумаги или пенала, в которых она стерилизовалась, и вводят в пробирку или колбу с культурой, соблюдая все предосторожности, описанные выше. Отбирать жидкую культуру пипеткой можно с помощью резиновой груши. Использованную пипетку следует немедленно перенести в дезинфицирующий раствор, например, 3-5%-ный водный раствор фенола или 2% -ный раствор хлорамина, не касаясь ею окружающих предметов.

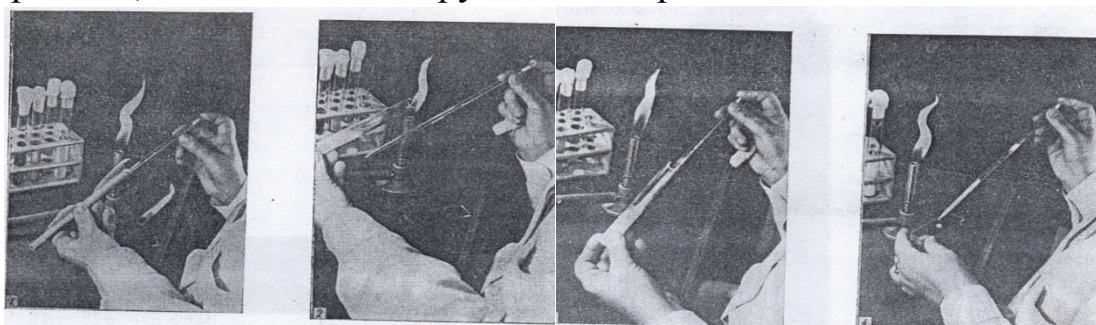


Рис. 6. Стерильное извлечение микроорганизмов из жидкой среды

Когда необходимо провести рассев микроорганизмов из жидкой питательной среды на поверхность плотной среды в чашке Петри, поступают следующим образом. Расплавленную на кипящей водяной бане стерильную питательную среду, содержащую агар или желатину, разливают в стерильные чашки Петри.



Рис. 7. Разлив стерильной среды в чашки Петри

Для этого сосуд со средой берут в правую руку, вынимают из него пробку, зажимая ее мизинцем и безымянным пальцем левой руки. Затем обжигают горло сосуда в пламени горелки и, приоткрыв большими средним пальцами левой руки крышку чашки Петри, быстро наливают в чашку расплавленную среду в таком количестве (10-15 мл), чтобы дно чашки было полностью покрыто. Крышку тотчас закрывают и чашку оставляют на горизонтальной поверхности до тех пор, пока не застынет среда. Для посева приоткрывают крышку чашки Петри и на поверхность плотной среды наносят каплю или «петлю» жидкой культуры, которую осторожно распределяют стеклянным стерильным шпателем (шпатель Дригальского) либо петлей.

Все описанные манипуляции следует проводить около пламени горелки (но не в пламени), по возможности быстро, чтобы не загрязнить культуру посторонними микроорганизмами. Не рекомендуется делать резкие движения и ходить около лица, работающего с чистой культурой, так как движение воздуха увеличивает вероятность случайного ее загрязнения. После пересева пробирку или другие сосуды, в которых выращивают микроорганизмы, помещают в термостаты, где с помощью терморегуляторов поддерживается постоянная температура. Неаккуратное обращение с культурами микроорганизмов приводит к возникновению бактериального аэрозоля.

Лабораторные записи ведутся следующим образом: тетрадь для оформления лабораторных работ является документом, позволяющим контролировать правильность полученных данных. В ней должны быть записаны сведения, имеющие отношение к выполнению данной работы. Запись необходимо вести аккуратно, четко и в определенном порядке, например,

1. Название опыта, дата его постановки и окончания.
2. Объект исследования.
3. Условия проведения опыта.
4. Основной принцип используемого метода анализа.
5. Полученные результаты.

Цифровой материал приводят в таблицах. Если необходимо, делают графики, диаграммы, рисунки. Каждая лабораторная работа должна заканчиваться собственными наблюдениями, рисунками и выводами, записанными в журнале.

1.2. Устройство микроскопа и правила работы с ним

1.2.1. Устройство светового микроскопа

Ознакомление с устройством микроскопа и приобретение навыков приготовления препаратов живых микроорганизмов является неотъемлемой частью работы в специализированной лаборатории. Под микроскопом рассматривают различные формы клеток, их состав, строение и органы размножения.

Световой микроскоп - сложный оптический прибор, предназначенный для изучения в сильно увеличенном изображении мельчайших предметов, организмов и структур тканей, не видимых невооруженным глазом. Обеспечивает увеличение объектов в сотни раз.

Микроскоп называется световым, так как он обеспечивает возможность изучать объект в проходящем свете в светлом и темном поле зрения, проводить фазово-контрастную, люминесцентную и другие виды микроскопии.

- 1 – окуляр
- 2 – бинокулярная насадка (тубус)
- 3 – револьверное устройство
- 4 – объектив
- 5 – предметный столик
- 6 – конденсор
- 7 – патрон с лампой
- 8 – основание
- 9 – тубусодержатель
- 10 – рукоятка грубой фокусировки (макрометрический винт)
- 11 – рукоятка тонкой фокусировки (микрометрический винт)
- 12 – препаратодователь
- 13 – регулятор яркости лампы

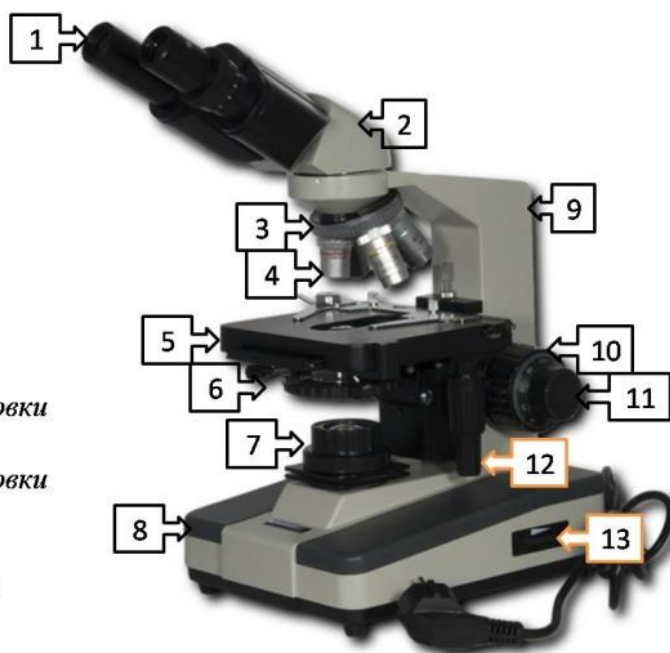


Рис. 8. Биологический микроскоп

Существуют различные модели учебных и исследовательских световых микроскопов. На рисунке 8 приведена модель микроскопа Биолам-2. Подобный микроскоп позволяет определить форму клеток микроорганизмов, размер, подвижность, степень морфологической

гетерогенности, а также характерную для микроорганизмов способность к дифференцирующему окрашиванию.

Успех наблюдения объекта и надежность получаемых результатов зависят от хорошего знания оптической системы микроскопа, которая включает осветительный аппарат, объектив и окуляр.

В современных объективах источник света вмонтирован непосредственно под конденсором и зеркала отсутствуют.

Конденсор состоит из нескольких линз и предназначен для собирания параллельных лучей света, идущих от источника света. В конденсоре вмонтирована апертурная диафрагма, позволяющая задерживать излишние лучи света. Под конденсором расположена откидная оправа светофильтра.

Объектив представляет собой наиболее важную часть микроскопа. Он дает действительное увеличение и обратное изображение изучаемого объекта. Объектив состоит из системы линз, заключенных в металлическую оправу. Самая маленькая, передняя (ближе к объекту) линза в объективе называется фронтальной. Это единственная в объективе линза, производящая увеличение. Все остальные линзы объектива называются коррекционными и служат для устранения недостатков оптического изображения. Чем больше кривизна фронтальной линзы, тем короче фокусное расстояние и тем больше увеличение объектива. Увеличение объектива всегда обозначено на его оправе.

Все объективы разделяют на сухие и иммерсионные, или погруженные. Сухими называют такой объектив, между фронтальной линзой которого и рассматриваемым предметом находится воздух. При этом ввиду разницы показателей преломления стекла (1,52) и воздуха (1,0) часть световых лучей отклоняется и не попадает в глаз наблюдателя. Объективы сухой системы имеют обычно большое фокусное расстояние и дают малое ($\times 8$; $\times 10$) или среднее ($\times 40$) увеличение. В качестве иммерсионной среды используют чаще всего кедровое масло. При этом между фронтальной линзой объектива и препаратом устанавливается однородная (гомогенная) среда (стекло препарата - масло - стекло объектива) с одинаковым показателем преломления. Благодаря этому все лучи, не преломляясь и не изменяя направления, попадают в объектив, создавая условия наилучшего освещения препарата. При этом объект увеличивается в 90-100 раз, что позволяет вести детальное его изучение (форма, строение). При работе с су-

хими объективами между фронтальной линзой объектива и объективом исследования находится воздух. Оптический расчет иммерсионных объективов предусматривает работу с ними при погружении фронтальной линзы объектива в однородную жидкую среду. При работе с сухим объективом вследствие разницы показателя преломления стекла (1,52) и воздуха (1) часть световых лучей отклоняется и не попадает в глаз наблюдателя.

При работе с иммерсионным объективом между покровным стеклом и линзами объектива помещают кедровое (касторовое) масло, показатель преломления которого близок к показателю преломления стекла. Лучи в оптически однородной гомогенной среде не меняют направления.

Окуляр содержит две линзы - глазную (верхнюю) и собирающую и служит для рассмотрения изображения предмета, даваемого объективом, то есть выполняет роль лупы. Окуляры могут давать увеличение в 5, 7, 10, 15, 20 раз, что указано на оправе. Объектив представляет собой систему линз, заключенных в трубку. В микроскопах «Биолам» используются объективы с увеличением $\times 3$, $\times 5$, $\times 8$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 60$, $\times 85$, $\times 90$. Объективы малого увеличения применяют для предварительного просмотра препарата, объективы среднего увеличения ($\times 20$, $\times 40$, $\times 60$) - для изучения крупных клеток микроорганизмов, объективы большого увеличения ($\times 85$, $\times 90$) - иммерсионные - для изучения внутренних структур клеток.

Увеличение, которое дает микроскоп, определяется произведением увеличения объектива на увеличение окуляра.

$$V = V_{об.} \times V_{ок.}$$

Если объектив дает увеличение $\times 90$, а окуляр $\times 15$, то общее увеличение равно 1350.

1.2.2. Правила работы с микроскопом

Строгое соблюдение правил пользования микроскопом является непременным условием для каждого работающего с ним. При работе необходимо соблюдать следующую последовательность:

Исследуемый прозрачный объект должен быть надлежащим образом освещен, и поэтому микроскоп необходимо правильно установить по отношению к источнику освещения - естественному или искусственному. Сила освещения должна быть тем больше, чем больше увеличение. Очень полезно проводить правильность установленного освещения при помощи хорошо известных препаратов - «тест - объектов».

Исследование объекта следует начинать с помощью объектива с малым увеличением, что позволяет видеть большой участок на препарате при том же окуляре и выбрать интересующее место для детального рассмотрения. Подведя именно этот участок к центру видимого поля зрения, можно быть уверенным, что, заменяя объектив следующим, с большим увеличением, мы сохраним участок в поле зрения.

Проверив, открыта ли диафрагма и поднят ли конденсор, вращают глядя в окуляр, зеркало и устанавливают его так, чтобы поле зрения оказалось хорошо освещенным.

Помещают препарат на предметный столик микроскопа так, чтобы рассматриваемый объект оказался над отверстием столика. Препарат закрепляют с помощью клемм.

Фокусировка микроскопа с объективом малого увеличения осуществляется грубым механизмом движения тубуса. Лучше всего опустить тубус так, чтобы от покровного стекла до объектива 8^x было расстояние 6-7мм, а до объектива 20^x - 1мм. Затем действуя микрометрическим механизмом, медленно поднять тубус микроскопа до момента, когда в поле зрения появится искомая плоскость наблюдаемого объекта. Точную наводку осуществляют микрометрическим механизмом.

Сначала ставят объектив с малым увеличением ($x8$) и при этом увеличении устанавливают наилучшее освещение. Наилучшее освещение достигается при регулировке положения зеркала, конденсора и диафрагмы. При просмотре неокрашенных препаратов применяют суженную диафрагму и опущенный конденсор. При наблюдении окрашенных препаратов - открытую диафрагму и поднятый конденсор.

Затем помещают препарат на предметный столик микроскопа, под объектив, и укрепляют зажимами. Опускают объектив ($x8$) при помощи макрометрического винта почти до соприкосновения с пред-

метным стеклом на расстояние около 0,5 см от предметного столика. Медленно вращают макровинт против часовой стрелки до появления четкого изображения препарата, после чего наводят резкость микрометрическим винтом, который вращают в пределах одного оборота макровинта. Повернув револьвер, устанавливают объектив со средним увеличением.

1.3. Исследование живых клеток микроорганизмов под микроскопом

Живые клетки микроорганизмов исследуют методами «раздавленной» и «висячей» капли. Оба метода применяют для выявления подвижности клеток микроорганизмов, наблюдения за размножением, образованием спор, установления реакции микроорганизмов на химические соединения и физические факторы воздействия, изучения размеров клеток, характера их расположения и определения запасных веществ клетки.

В обоих случаях возможно окрашивание объекта «прижизненными» красителями - метиленовой синью или нейтральным красным в концентрациях от 0,001 до 0,0001%.

Препараты микроскопируют, слегка затемняя поле зрения, конденсор немного опускают, поступление света регулируют вогнутым зеркалом. Вначале пользуются малым увеличением - объектив х8, после того как обнаруживают край капли, устанавливают объектив х40.

Методами «раздавленная» и «висячая» капля готовят препараты крупных микроорганизмов, например, дрожжей и микроскопических грибов.

Для приготовления препарата «раздавленная» капля на чистое предметное стекло нанести каплю водопроводной воды. В нее внести культуру микроскопических плесневых грибов, взятую бактериологической петлей с поверхности плесневого хлеба, смешать с водой. Накрывать каплю покровным стеклом, так чтобы под ним не образовались пузырьки воздуха. Стеклопалочкой прижать покровное стекло к предметному и удалить избыток воды фильтровальной бумагой. Рассмотреть препарат под микроскопом.

Для микроскопирования дрожжей в химическом стакане с дистиллированной водой растворить щепотку прессованных дрожжей,

помешивая стеклянной палочкой суспензию. Поместить суспензию в термостат или в водяную баню при температуре 30 С и выдержать 20 минут. На чистое предметное стекло нанести пипеткой каплю полученной дрожжевой суспензии и покровным стеклом накрыть смоченную поверхность, избыток воды убирают кусочком фильтровальной бумаги. Препарат рассматривают под микроскопом.

Препарат «висячая» капля применяют для длительных наблюдений за клетками микроорганизмов. На чистое покровное стекло нанести препаровальной иглой негустую суспензию микроорганизмов, выращенных в физиологическом растворе (0,5% раствор NaCl). Покровное стекло переворачивают и помещают на стерильное предметное стекло с лункой посередине так, чтобы капля свободно свисала над лункой. Для герметичности края лунки смазывают вазелином.

1.4. Морфология микроорганизмов. Характеристика отдельных групп

Морфология микроорганизмов изучает форму и строение их клеток, способы передвижения и размножения. Микроорганизмы различаются по внешнему виду и по размерам. Строение клеток микроорганизмов также различно, в связи, с чем они относятся к различным систематическим группам.

Все живые организмы на Земле, имеющие клеточное строение, делят на два надцарства: прокариоты и эукариоты. Это деление живых организмов основано главным образом на особенностях строения ядерного аппарата. В клетках прокариот ядро отсутствует. Ядерный аппарат их представлен молекулой ДНК, расположенной в ядерной зоне непосредственно в цитоплазме. Клетки эукариот имеют ядро, отделенное от цитоплазмы двойной ядерной мембраной.

1.4.1. Бактерии

Известно около 4000 видов бактерий. Их разнообразие особенно выражено в отношении физиолого-биохимических свойств. В определенной степени оно проявляется и в морфологии.

Величина клеток различных бактерий сильно варьирует. Размеры многих бактериальных форм находятся в пределах 0,5-10 мкм.

Однако величина ряда бактерий не укладывается в эти границы. Среди них есть немало относительно крупных форм, есть и крайне мелкие формы. Значительной длины достигают, например, нитчатые бактерии рода *Beggiatoa* - до 60 мкм и более и *Saprospira* - до 500 мкм. Это одни из наиболее крупных бактерий. Гигантские формы встречаются среди спирохет: длина некоторых достигает 500 мкм. Мельчайшие из известных организмов клеточного строения - микоплазмы. Размеры отдельных форм микоплазм не превышают 0,1-0,2 мкм, что лежит на границе или даже за пределами разрешающей способности светового микроскопа. У одного и того же вида бактерий размеры клеток могут в большей или меньшей степени варьировать в зависимости от возраста культур и (или) от условий культивирования. У многих бактерий особенно заметно меняется длина клетки. Диаметр клеток является более устойчивым признаком.

Основная масса бактерий - одноклеточные организмы. Но нередко клетки после деления не расходятся и образуют сочетания различной формы, которая определяется расположением делящей перегородки. Эти сочетания не равноценны многоклеточным организмам, так как каждая клетка в них автономна и может существовать самостоятельно после отделения от остальных клеток.

Бактерии, за исключением микоплазм, имеют определенную форму клетки. У большинства бактерий она поддерживается благодаря прочной (ригидной) клеточной стенке. Клеточная стенка спирохет эластична, и их извитая форма поддерживается с помощью аксиальных фибрилл, расположенных под клеточной стенкой. Форма клетки многих бактерий отличается постоянством и сохраняется в течение всей жизни. Но есть бактерии, у которых наблюдается более или менее выраженный полиморфизм. Нередко он отражает стадии цикла развития микроорганизма. В этом случае обнаруживается упорядоченное, регулярное чередование определенных форм. Изменения морфологии могут происходить и под влиянием условий культивирования. Полиморфность микоплазм связана с отсутствием у них клеточной стенки.

Морфологические типы бактерий по сравнению с высшими организмами немногочисленны. Клетки значительной части бактерий имеют сферическую, цилиндрическую или спиралевидную форму. Существует обширная группа ветвящихся бактерий, сравнительно не-

большое количество нитчатых форм и бактерий, образующих выросты (простеки).

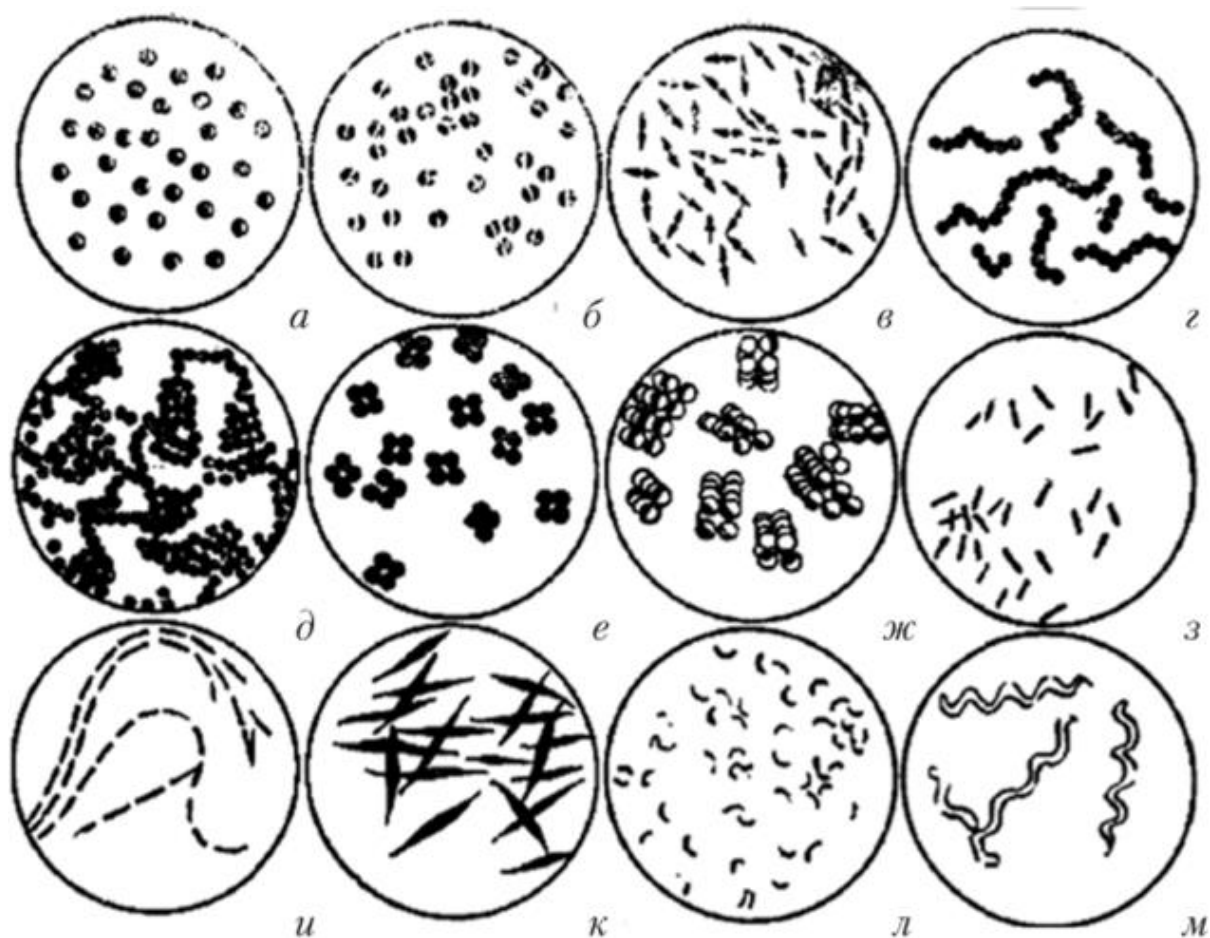


Рис. 9. Формы бактерий: а – кокки; б, в – диплококки; г – стрептококки; д – стафилококки; е – тетракокки; ж – сардины; з – палочковидные бактерии; и – стрептобактерии; к – клостридии; л – вирионы; м – спирохеты

Сферические бактерии - кокки. Под микроскопом они имеют форму шара. Многим коккам свойственно образование различных сочетаний. Кокки, делящиеся в одной плоскости и одном направлении, могут образовывать пары (диплококки) или цепочки (стрептококки) клеток. Когда деление происходит равномерно в двух взаимно перпендикулярных плоскостях, возникают группы из четырех клеток - тетракокки, а если в трёх, то образуют пакеты правильной формы - сардины. При неравномерном делении в нескольких плоскостях наблюдаются скопления неправильной формы, напоминающие гроздь винограда. Они свойственны представителям стафилококков и мик-

рококков. Микрококками часто называют и одиночные шаровидные клетки.

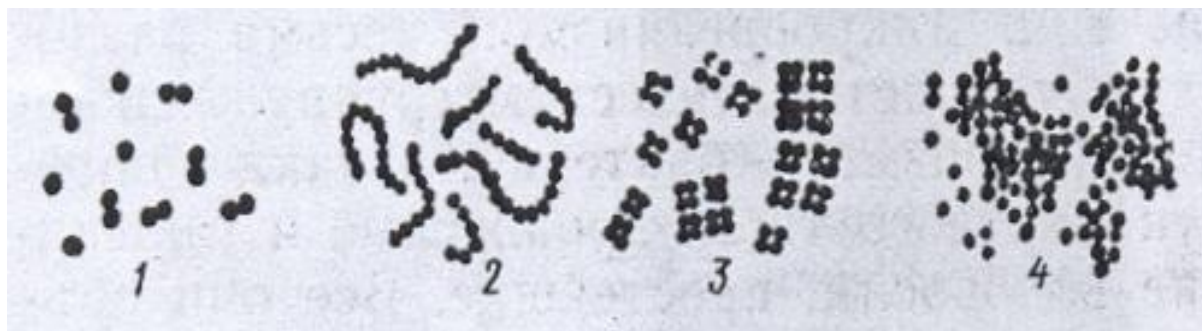


Рис. 10. Сочетания кокков: 1 – диплококки; 2 – стрептококки; 3 – тетракокки и сарцины; 4 – стафилококки и микрококки

Под влиянием различных факторов среды некоторые кокки могут превращаться в овальные, конические и эллипсоидные клетки.

Цилиндрические (палочковидные) бактерии под микроскопом имеют вид палочек. Это одна из наиболее многочисленных групп бактерий. Разные виды могут заметно отличаться друг от друга размерами клеток. Одной из самых крупных палочковидных бактерий является *Bacillus megaterium*. Ее длина 5 – 10 мкм, поперечник около 1 мкм. К наиболее коротким относятся риккетсии, размеры которых могут быть всего 0,3 X 1,0 мкм. В тех случаях, когда длина лишь незначительно превышает диаметр клетки, палочки трудно отличить от кокков. Концы палочек бывают прямыми, округлыми или заострёнными.

Палочковидные бактерии нередко образуют пары или цепочки клеток. Парные сочетания клеток наблюдаются, например, у определенных видов рода *Pseudomonas*, длинные цепочки можно увидеть в культуре *Bacillus mucoides*. Для ряда палочковидных бактерий характерен выраженный полиморфизм.

Изменение формы, связанное с развитием бактерий, наблюдается у видов *Azotobacter* и *Rhizobium*; у микобактерий и риккетсий. Так уже в молодой культуре азотобактера можно видеть клетки не только палочковидной, но и овальной или кокковидной формы.

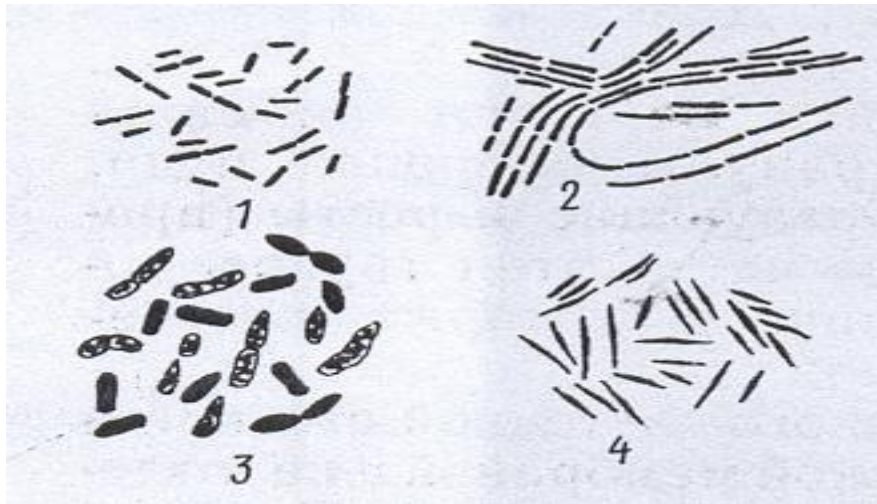


Рис. 11. Палочковидные бактерии: 1 – *Pseudomonas aeruginosa*; 2 – *Bacillus mycoides*; 3 – *Bacillus megaterium*; 4 – *Cytophaga*

В старых культурах преобладают крупные округлые, неправильной формы покоящиеся клетки-цисты. Риккетсии, помимо коротких палочек длиной 1 – 1,5 мкм могут быть представлены кокками диаметром менее 0,5 мкм, длинными палочками - 3-4 мкм, или причудливо изогнутыми нитями, длина которых достигает 40 и более микрометров. Есть бактерии, у которых изменение формы клетки связано со спорообразованием.

В неблагоприятных условиях в культурах многих палочковидных бактерий возникают различные дегенеративные формы с признаками лизиса, гранулированием содержимого, большими вакуолями и др. Это можно наблюдать, например, в культуре *Bacillus megaterium*.

Извитые одноклеточные бактерии бывают трех типов: вибрионы, спириллы и спирохеты. Вибрионы выглядят как слегка изогнутые палочки, похожие на запятую. В процессе развития некоторые из них могут менять форму клеток. Так, паразиты бактерий *Bdellovibrio* при развитии в периплазматическом пространстве клетки хозяина становятся спиралевидными. Впоследствии спиралевидные клетки распадаются на вибрионы. Спириллы похожи либо на латинскую букву S, либо на штопор, т. е. имеют несколько правильных завитков. Спирохеты имеют вид тонких спиралевидных клеток с многочисленными завитками и петлями. Длина клеток спирохет превышает толщину в 5 - 200 раз. Спирохеты нередко образуют аномальные формы - гранулы, сфероиды и др.

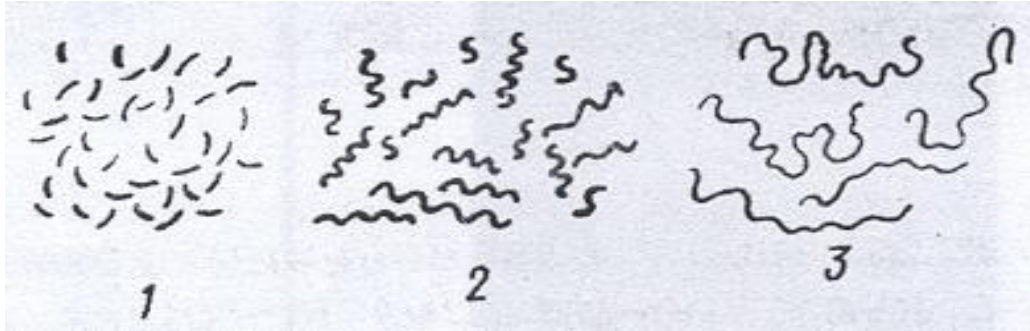


Рис. 12. Извитые формы бактерий: 1 – вибрионы; 2 – спириллы; 3 – спирохеты

Бактерии, образующие выросты (простеки). Основную часть этой группы составляют бактерии, у которых простеки - это выпячивания клеточного содержимого, окруженного клеточной стенкой цитоплазматической мембраной и не отделенного от клетки перегородкой. У одних бактерий, например, у видов рода *Hyphomicrobium*, образование выростов связано с размножением. Клетки представителей этого рода чаще имеют вид палочек с заостренными концами, но бывают также овальной, яйцеобразной или бобовидной формы. Нитевидные выросты образуются на одном или обоих полюсах клетки. Выросты могут ветвиться, давая гифоподобные структуры. На конце каждой ветви формируется почка, являющаяся дочерней клеткой. Иногда созревшие почки не отделяются от материнской клетки и тоже образуют выросты и почки. Тогда возникает скопление гиф и клеток.

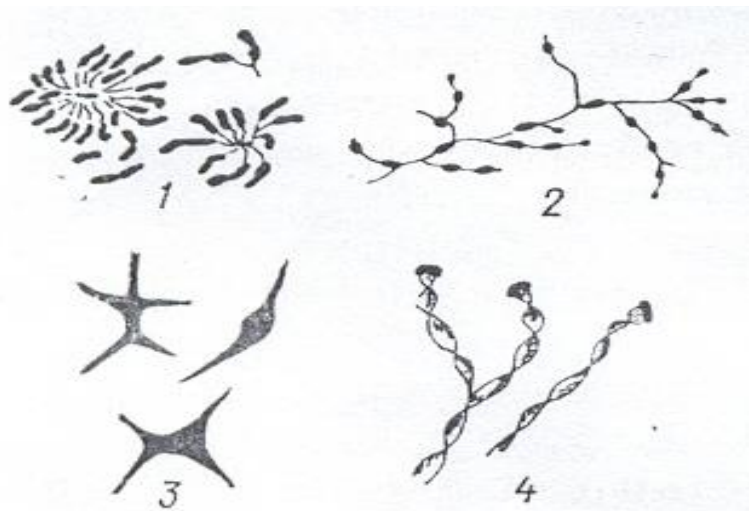


Рис. 13. Бактерии, образующие выросты:
1 – *Caulobacter*; 2 – *Hyphomicrobium*;
3 – *Ancalomicrobium*; 4 – *Gallionella*

У других бактерий простеки не имеют отношения к размножению. К таким бактериям принадлежат, например, виды рода *Caulobacter* и *Ancalomicrobium*. Клетки *Caulobacter* - это слегка изогнутые палочки с одним полярным жгутиком. Сравнительно короткий вырост - стебелек возникает на одном полюсе клетки. На конце стебелька имеется небольшое утолщение из липкого материала - фиксатор. С его помощью клетки прикрепляются к какому-либо субстрату, а иногда друг к другу. В последнем случае образуются характерные скопления. У видов *Ancalomicrobium* на клетке неправильной формы возникает несколько простеков - от 2 до 8. Клетка приобретает причудливый звездообразный вид.

Иногда к стебельковым относят бактерии, образующие слизистые придатки, не связанные с цитоплазмой клетки. Это, например, виды *Gallionella*, бобовидные клетки, которой выделяют с вогнутой стороны слизь в виде тонкой нити. Под микроскопом такая нить выглядит как спирально изогнутая лента.

Нитчатые бактерии. Это сравнительно небольшая группа многоклеточных организмов. Они представляют собой цепочки (трихомы) из цилиндрических, овальных или дисковидных клеток. Типичными представителями нитчатых форм являются бактерии родов *Beggiatoa* и *Thiothrix*. Их нити имеют равную толщину на всем протяжении. Трихомы видов *Thiothrix* собраны в пучки и прикрепляются основанием к субстрату. Нити *Leucothrix*, подобно *Thiothrix*, большей частью также растут пучком, прикрепляясь к твердой поверхности, но, в отличие от *Thiothrix*, они сужаются к концу.

Трихомы видов *Saprospira* скручены в виде спирали, а у видов *Simonsiella* они уплощены и похожи на ленты. У видов *Caryophanon* поперечные клеточные стенки большинства составляющих нити клеток не сплошные, так как их формирование отстает от роста трихома.

Нитчатые бактерии относятся к крупным микроорганизмам. Так, длина нитей некоторых представителей рода *Caryophanon* достигает 40 мкм, а толщина 4 мкм. Нити зеленых бактерий группы *Chloroflexus* могут иметь длину 300 мкм. Особенно длинные трихомы образуют, как уже отмечалось, виды *Beggiatoa* и *Saprospira* (до 500 мкм).

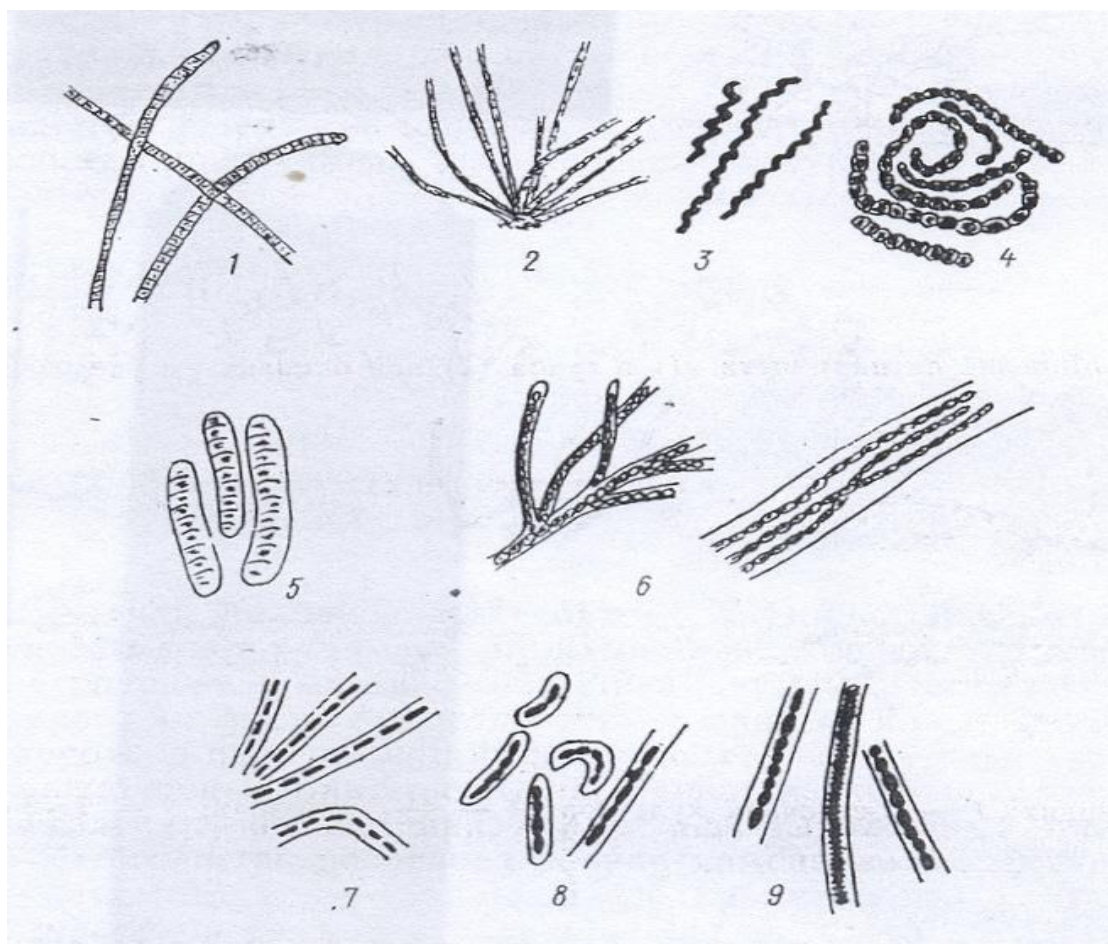


Рис. 14. Нитчатые бактерии: 1 – *Beeggiatoa*; 2 – *Thiothrix*; 3 – *Saprospira*; 4 – *Simonsiella*; 5 – *Caryophanon*; 6 – цианобактерии класса *Hormogoneae*; 7 – *Leptothrix*; 8 – *Sphaerotilus*; 9 – *Crenothrix*

Ветвящиеся бактерии. К этой многочисленной группе относятся истинные актиномицеты, нокардии, микобактерии, коринеподобные бактерии и ряд других организмов. Истинные актиномицеты имеют сильно разветвленный мицелий, сохраняющийся в течение всей жизни, что делает их внешне сходными с мицелиальными грибами.

Однако общая длина нитей актиномицетов обычно не превышает нескольких миллиметров, а толщина составляет всего 0,5-1,5 мкм, тогда как длина грибного мицелия достигает нескольких сантиметров, а диаметр может быть около 50 мкм. У представителей рода *Streptomyces* в мицелии образуются перегородки, но их мало, поэтому составляющие его клетки в основном многоядерные. Мицелий большинства актиномицетов лишен перегородок, и этим он напоминает многоядерный несептированный мицелий фикомицетов.

У нокардий и микобактерий мицелиальный тип развития имеет временный и часто ограниченный характер.

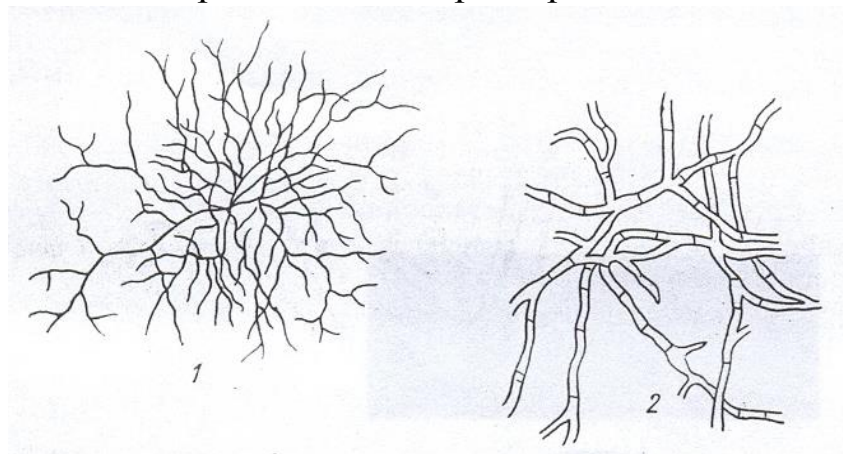


Рис. 15. Мицелий актиномицета (1) и гриба (2) при одинаковом увеличении

Виды рода *Nocardia* образуют обильный, недифференцированный мицелий на начальных стадиях развития. В дальнейшем он распадается на палочковидные или сферические фрагменты.

Микоплазмы. Это довольно большая группа бактерий, у которых нет клеточной стенки. Поэтому они очень полиморфны. В культуре одного вида можно одновременно обнаружить мелкие зерновидные образования, кокковидные, эллипсовидные, грушеобразные, дисковидные, палочковидные и даже разветвленные и неразветвленные нитевидные формы. Размеры крупных клеток микоплазм достигают 10 мкм, а величина мелких структур не превышает 0,1 мкм.



Рис. 16. Микоплазмы. Схема электронной микрофотографии

Большинство бактерий размножаются путем бинарного поперечного изоморфного деления. Такой способ размножения свойствен коккам, многим палочковидным формам и вибрионам, спириллам, спирохетам, некоторым нитчатым бактериям. Клетки основной массы бактерий делятся в одной плоскости. У многих кокков деление происходит в нескольких плоскостях. Расходящиеся после деления клетки большинства бактерий располагаются одна за другой или беспорядочно, а у видов *Arthrobacter* и *Corynebacterium* под углом друг к другу. Если после деления клетки не расходятся, то наблюдается образование различных скоплений клеток - пар, цепочек, пакетов и другие. В ряде случаев имеет место неравномерное деление. Фрагментацией мицелия или его рудиментов на палочки и кокки размножаются, например, виды *Nocardia* и *Mycobacterium*. Размножение распадом нитей на участки наблюдается у *Beggiatoa* и *Saprospira*. Две неодинаковые клетки - одна подвижная со жгутом, но без простеки, а другая неподвижная без жгутика, но со стебельком - образуются при делении клеток *Caulobacter*. К делению способны только неподвижные клетки с простекой.

Некоторые бактерии (виды *Hyphomicrobium* и *Rhodopseudomonas*, *Ancalomicrobium* и др.) размножаются почкованием. У *Rhodopseudomonas* и *Ancalomicrobium* почки формируются прямо на поверхности клеток, а у *Hyphomicrobium* - на концах гиф.

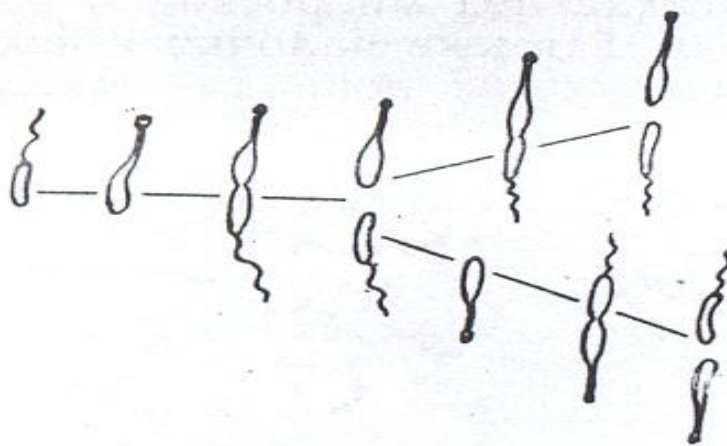


Рис. 17. Рост и деление клеток *Caulobacter*

У бактерий известны и более сложные способы размножения. Нитчатые цианобактерии класса *Chamaesiphoneae* и бактерии родов *Thiothrix*, *Caryophanon*, *Sphaerotilus*, *Leptothrix*, *Leucothrix* размножа-

ются с помощью специальных репродуктивных одиночных подвижных клеток - гонидий, которые образуются в результате многократного деления концевых клеток нити. Подвижность гонидий связана с наличием у них жгутиков. Для нитчатых цианобактерий класса *Hormogoneae* характерно размножение гормогониями. Это короткие цепочки, возникающие, как и гонидии, при делении клеток нити. Они не имеют жгутиков и перемещаются скольжением благодаря выделению слизи. Размножение гормогониями наблюдается также у видов *Leucothrix*.

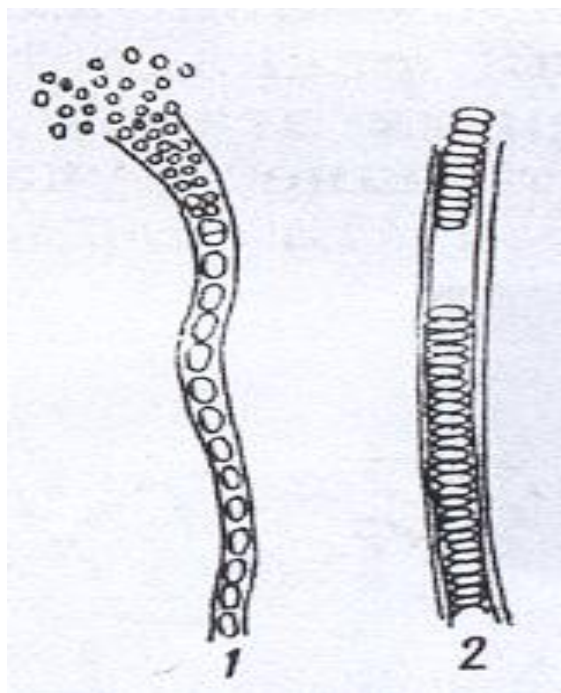


Рис. 18. Гонидии (1) и гормогонии (2) нитчатых бактерий

Актиномицеты размножаются главным образом подвижными или неподвижными спорами (конидиями). Конидии располагаются поодиночке или цепочками, непосредственно на мицелии, на концах спорносящих гиф - спорангиеносцах (спорангиофорах) или в специальных органах спороношения - спорангиях.

Спорангиеносцы (и соответственно цепочки спор) разных видов различаются между собой. Они могут быть длинными или короткими, прямыми, волнистыми или спиралевидными; иметь последовательное, супротивное или мутовчатое расположение. Спорангии бывают сферической или неправильной формы, в них формируются эндогенные споры.

Существует немало бактерий, которые могут размножаться несколькими способами. Например, представители рода *Rhizobium* размножаются делением и почкованием, актиномицеты - спорами и кусочками вегетативного мицелия. Нитчатые цианобактерии размножаются гонидиями или гормогониями, а также путем распада трихома на отдельные участки, бактерии рода *Chloroflexus* - бинарным делением и участками нити. *Caryophanon* и *Sphaerotilus* - с помощью гонидий и поперечным изоморфным делением трихома, *Leucothrix* гонидиями и гормогониями. У микоплазм можно наблюдать бинарное деление, фрагментацию нитей и крупных клеток до кокков, а также процесс, напоминающий почкование.

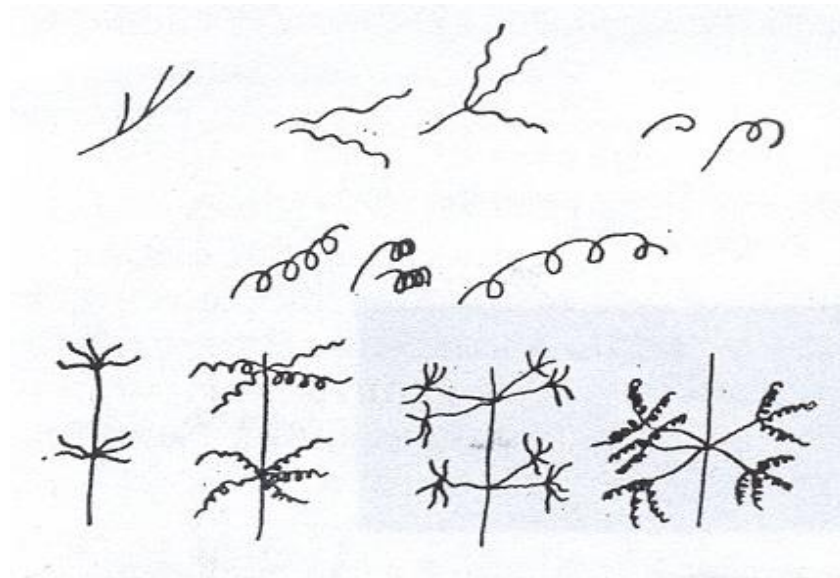


Рис. 19. Форма воздушных спороносцев у актиномицетов

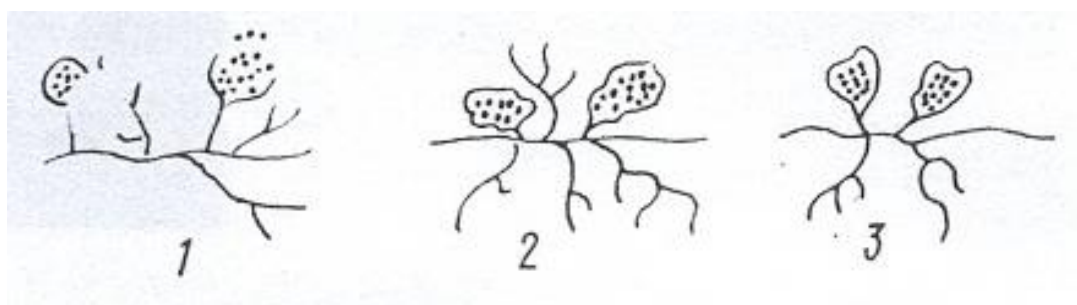


Рис. 20. Спорангии актиномицетов:
1 – *Actinoplanes*; 2 – *Amorpha sporangium*; 3 – *Spirillospora*

Многие бактерии неподвижны. Неподвижными являются почти все кокки, более 50 % палочковидных бактерий, почкующиеся и ветвящиеся бактерии, значительная часть нитчатых форм, риккетсии,

микоплазмы. Способностью к движению обладает примерно 1/5 часть бактерий. Подвижность большинства из них обусловлена наличием специальных локомоторных структур - жгутиков. Жгутики обнаруживаются у некоторых кокков (отдельные представители рода *Methylococcus*), ряда палочковидных бактерий (виды *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Escherichia* и др.), у вибрионов и спирилл, у нитчатых бактерий рода *Caryophanon*. У бактерий некоторых групп специальные репродуктивные клетки со жгутиками появляются только в определенной стадии развития. Это подвижные клетки каулобактерий, гонидии большинства нитчатых организмов, споры (конидии) некоторых актиномицетов (виды *Actinoplanes* и *Geodermatophilus*).

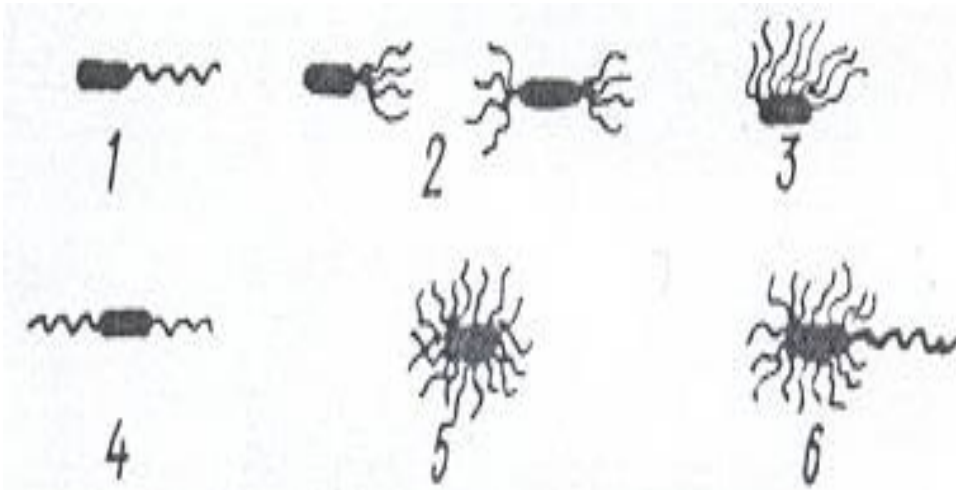


Рис. 21. Типы жгутикования у бактерий:

1 – монотрихальное; 2 – лофотрихальное; 3 – латеральное;
4 – амфитрихальное; 5 – перитрихальное; 6 – «смешанное»
полярно-перитрихальное

Жгутики берут начало под цитоплазматической мембраной и через поры мембраны и клеточной стенки выходят наружу. У разных бактерий длина жгутиков колеблется от 3 до 20 мкм, толщина - от 10 до 20 нм, а их число - от 1 до 100.

Жгутики могут быть расположены монополярно, биполярно, вдоль боковой или по всей поверхности клетки. Клетки некоторых бактерий имеют одновременно два разных набора жгутиков: полярные и перитрихальные, различающиеся по длине и толщине.

Наличие, число, размеры и расположение жгутиков имеют диагностическое значение. Например, виды рода *Vibrio* снабжены одним

полярным жгутиком, у *Selenomonas* один жгутик прикрепляется сбоку. Для представителей рода *Pseudomonas* характерно монотрихиальное или лофотрихиальное монополярное жгутикование, а для спирилл лофотрихиальное моно- и биполярное. Перитрихиальное расположение жгутиков свойственно видам *Clostridium*, *Escherichia*, *Rhizobium*, *Caryophanon* и др. Нередко в пределах одного рода бактерий обнаруживаются подвижные и неподвижные виды, а у подвижных форм может быть разный тип жгутикования. Так, у подвижных представителей рода *Bacillus* жгутики расположены латерально или перитрихиально.

Активное движение большинства бактерий, обладающих жгутиками, возможно только в жидкой среде. Однако некоторые бактерии - перитрихи могут передвигаться и по твердому субстрату. К ним относятся, например, *Proteus vulgaris*, который довольно быстро распространяется по поверхности влажной агаризованной среды, образуя обширный тонкий налет. Движение жгутиконосных бактерий наблюдается преимущественно в молодых культурах. С возрастом клетки постепенно теряют жгутики и становятся неподвижными, хотя и сохраняют жизнеспособность.

К подвижным формам относятся спирохеты, миксобактерии, многие нитчатые цианобактерии и флексибактерии, не имеющие жгутиков.

Они способны передвигаться по твердому или полутвердому субстрату путем скольжения. Спирохеты могут перемещаться и в жидкой среде вращательными, легкими волнообразными движениями. Скользящее движение обусловлено, возможно, неравномерным выделением слизи через поры клеточной стенки. Подвижность спирохет и некоторых миксобактерий (виды *Mucosoccus*) связывают также с сокращением аксиальных микрофибрилл, расположенных под клеточной стенкой (у спирохет) или под цитоплазматической мембраной (у миксобактерий).

К покоящимся формам бактерий относятся эндоспоры, цисты, акинеты. Они позволяют клетке более или менее длительное время переносить неблагоприятные условия. В условиях, подходящих для роста, покоящиеся формы развиваются в обычную вегетативную клетку.

Эндоспоры. Способностью образовывать эндоспоры обладают палочковидные бактерии, относящиеся к родам *Bacillus*, *Clostridium* и *Desulfotomaculum*, а также некоторые кокки (род *Sporosarcina*) и термофильные актиномицеты рода *Thermoactinomyces*. Спорообразование представляет собой сложный процесс дифференцировки, начинающийся в культуре, когда она переходит в стационарную фазу роста и когда создаются условия, индуцирующие его. Эти условия весьма разнообразны: дефицит питательных веществ в среде, накопление продуктов метаболизма, изменение кислотности среды, температуры и др. В результате внутри вегетативной клетки образуется новая клетка - эндоспора, полностью отличающаяся от материнской по структуре, химическому составу и физиологическим свойствам. Эндоспоры одеты толстыми многослойными труднопроницаемыми покровами и имеют очень низкое содержание воды, поэтому при микроскопическом исследовании их легко узнать по высокой светопреломляющей способности.

Форма клеток многих бактерий в процессе спорообразования не меняется. Эндоспора локализуется в центре клетки, эксцентралью или (и) терминально, что зависит от вида бактерий. Это так называемый бациллярный тип спорообразования. У ряда бактерий середина клетки при формировании споры несколько расширяется, и клетка приобретает вид челнока или веретена. Спора располагается в утолщенной части - в центре клетки или эксцентралью. Это - кластридиальный тип спорообразования. У некоторых бактерий клетка при спорообразовании сильно расширяется и округляется на одном конце, становясь похожей на барабанную палочку. Спора локализуется в расширенном конце. Такой тип спорообразования называется плектридиальным. Бациллярный тип спорообразования свойствен многим представителям рода *Bacillus*, кластридиальный и плектридиальный - в основном видам рода *Clostridium*. Нередко в культуре одного вида этого рода встречаются одновременно и кластридиальные и плектридиальные формы.



Рис. 22. Типы образования эндоспор у бактерий:
1 – бациллярный; 2 – клостридиальный; 3 – плектридиальный

Эндоспоры бывают округлой, овальной или эллипсоидной формы. Их оболочка может быть гладкой или с выростами. Диаметр эндоспор ряда бактерий значительно превышает поперечник клетки. Тип спорообразования, а также форма, размеры и расположение эндоспоры в вегетативной клетке используются для диагностики бактерий.

В каждой вегетативной клетке формируется, как правило, только одна эндоспора. После созревания эндоспоры освобождаются вследствие лизиса материнских клеток и переходят в стадию покоя. Эндоспоры чрезвычайно устойчивы к различным неблагоприятным факторам и могут сохранять жизнеспособность в течение многих лет, пока не попадут в условия, способствующие их прорастанию.

Спорообразование - не обязательная стадия развития бактерий. Можно создать такие условия, в которых клетки не будут переходить к формированию спор.

Цисты обнаруживаются у миксобактерий, риккетсий, представителей родов *Azotobacter*, *Bdellovibrio*, *Arthrobacter*. Их образование происходит обычно на поздних стадиях развития бактерий и связано с неблагоприятными условиями культивирования - истощением питательного субстрата, загрязнением среды вредными продуктами обмена, высушиванием и т. д. Цисты можно увидеть только в старых культурах.

Цисты бывают сферическими, овальными, неправильно округлыми или в виде сильно укороченных палочек. Чаще всего они крупнее вегетативных клеток. Иногда же по форме и размерам цисты почти не отличаются от них. У большинства бактерий цисты имеют

утолщенную клеточную стенку и уплотненную цитоплазму, поэтому они сильнее преломляют свет, чем вегетативные клетки. Цисты устойчивее вегетативных клеток к неблагоприятным факторам, но уступают в этом эндоспорам.

Акинеты свойственны определенным видам нитчатых цианобактерий. Это крупные толстостенные клетки, возникающие либо из одной вегетативной клетки, либо путем слияния многих клеток. У некоторых цианобактерий акинеты обнаруживаются всегда и являются, вероятно, обязательной стадией развития, у других они образуются только в неблагоприятных условиях.

Клетки всех бактерий, за исключением микоплазм, покрыты снаружи клеточной стенкой, толщина которой у разных видов колеблется в пределах 0,01-0,04 мкм. В соответствии с различиями в химическом составе клеточных стенок и их ультраструктуре, выражающимися в неодинаковой способности клеточных стенок удерживать красители трифенилметанового ряда с йодом, прокариотные микроорганизмы делятся на две группы.

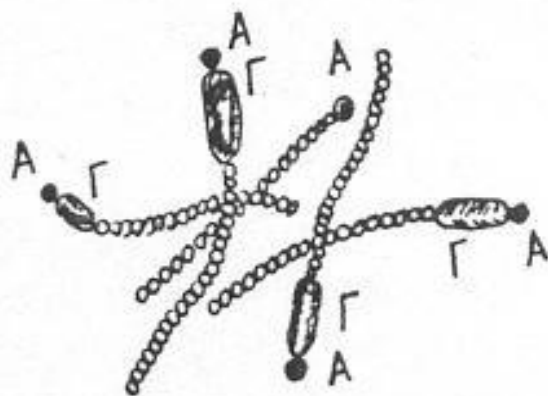


Рис. 23. Акинеты (А) и гетероцисты (Г) нитчатой цианобактерии *Cylindrospermum*

К одной относятся бактерии, в клетках которых комплекс, образуемый кристаллическим или генциановым фиолетовым и йодом, не обесцвечивается при последующей обработке спиртом. К другой группе принадлежат бактерии, не обладающие свойством удерживать краситель и обесцвечивающиеся при обработке спиртом. Этот способ дифференциальной окраски бактерий был предложен в 1884 году датским физиком Христианом Грамом. Бактерии, которые способны окрашиваться по Граму, называются грамположительными, а не способные окрашиваться - грамотрицательными. К первой группе отно-

сится большинство кокковых форм, спорообразующие палочковидные бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*, нитчатые бактерии *Caryophanon*, ветвящиеся бактерии. Ко второй принадлежат различные палочковидные бактерии, не образующие эндоспор (роды *Pseudomonas*, *Escherichia* и др.), простекобактерии, миксобактерии, риккетсии, многие нитчатые формы, спириллы, спирохеты, некоторые кокки и др. Химический состав и строение клеточных стенок грамотрицательных микроорганизмов значительно сложнее, чем грамположительных.

С особенностями химического состава клеточных стенок связывают и кислотоустойчивость микобактерий. Она выражается в способности клеток, фиксированных и окрашенных при подогревании карболовым фуксином, прочно удерживать окраску после обработки раствором минеральной кислоты или подкисленным спиртом.

Определенными способами, например, под действием лизоцима, бактериальные клетки могут быть лишены клеточных стенок. В таком виде они способны существовать только в изотонической питательной среде.

Клеточная стенка многих бактерий снаружи может быть окружена слизистым слоем - капсулой. Капсулы бывают полисахаридной, иногда гликопротеидной или полипептидной природы. Капсулы толщиной менее 0,2 мкм, неразличимые в световом микроскопе, называют микрокапсулами. Капсула и клеточная стенка являются поверхностными структурами бактериальной клетки, к которым относят также жгутики и обнаруживаемые у многих подвижных и неподвижных бактерий ворсинки (фимбрии, пили). Ворсинки короче и тоньше большинства жгутиков - их длина 3-4 мкм, диаметр 4-35 нм. Число ворсинок у разных бактерий бывает от нескольких единиц до многих тысяч. К подвижности бактерий они, по-видимому, не имеют отношения. Капсулы и ворсинки не являются необходимыми клеточными структурами. Бактерии нормально функционируют и без них.

Обязательной структурой любой клетки является цитоплазматическая мембрана, которая отделяет цитоплазму от клеточной стенки. Толщина мембраны. 5-10 нм. При нарушении ее целостности клетки утрачивают жизнеспособность. Цитоплазма ряда бактерий пронизана мембранными структурами, которые являются производными цитоплазматической мембраны. У гетеротрофных бактерий их называют

мезосомами. Они имеют вид пластинок (ламелл), пузырьков (везикул) или трубочек. Мезосомы могут быть расположены в зоне клеточного деления, вблизи нуклеотида и на периферии клетки, недалеко от цитоплазматической мембраны. У грамположительных бактерий мезосомальные структуры развиты в большей степени, чем у грамотрицательных. У фототрофных бактерий мембранные образования в виде пузырьков называют хроматофорами, а уплощенной формы - тилакоидами. Есть бактерии, у которых мембранная система не обнаруживается.

Определенную область в цитоплазме бактериальной клетки занимает нуклеоид. Он состоит из одной двойной спирально закрученной нити ДНК, замкнутой в кольцо. Ядерный аппарат прокариот не имеет ядрышка и не отделен от цитоплазмы мембраной. Через мезосомы нуклеоид связан с цитоплазматической мембраной.

В период интенсивного деления в клетках ряда бактерий (*Escherichia coli*, *Oscillatoria amoena*) можно обнаружить несколько нуклеоидов.

В цитоплазме бактерий в свободном виде или в связи с мембранными структурами находятся рибосомы. Они имеют константу седиментации 70S, их размеры колеблются в пределах от 15 до 30 нм. Число рибосом может быть от 5 до 50 тыс., что зависит от возраста клетки и условий культивирования. Рибосом больше в молодых клетках.

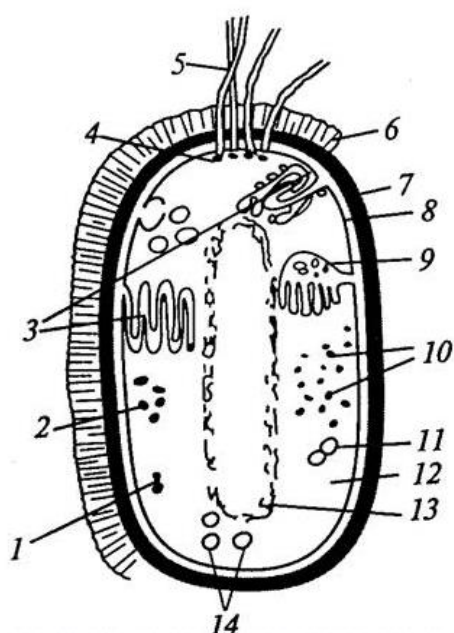
В клетках различных бактерий часто обнаруживаются включения запасных веществ. Это полисахариды, липиды, полифосфаты, сера. Они накапливаются при избытке тех или иных питательных веществ в окружающей среде, а расходуются при голодании. Из резервных полисахаридов особенно распространены глюканы: гликоген, крахмал и крахмалоподобное вещество - гранулёза. Они выявляются в клетках спорообразующих бактерий родов *Bacillus* и *Clostridium*, а также у пурпурных бактерий и др. Полисахариды откладываются в цитоплазме равномерно или в виде гранул. Запасные липиды бактерий представлены полиэфиром β - оксимасляной кислоты и восками. Полиоксибутират накапливается на средах с избытком углерода у многих

бактерий: видов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Azotobacter*, *Sphaerotilus* и др. Он обнаружен только у прокариот. Воска - эфиры

высокомолекулярных жирных кислот и спиртов характерны для микобактерий. Полисахариды и липиды служат хорошим источником углерода и энергии для клетки.

В условиях, препятствующих синтезу нуклеиновых кислот, у многих бактерий создается резерв фосфора в виде гранул полифосфатов. Впервые они были описаны у *Spirillum volutans*, поэтому их называли волютином. Эти образования называют также метахроматическими зёрнами, так как они проявляют метахроматический эффект: приобретают красную окраску при обработке синим красителем.

Отдельные виды спорообразующих бактерий (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus popilliae* и др.) в определенных условиях образуют в клетках кристаллы белковой природы, которые имеют правильную бипирамидальную форму и расположены непосредственно около споры. Их называют параспоральными тельцами. Некоторые бактериальные структуры и включения, сильно преломляющие свет (эндоспоры, аэросомы, отложения полиоксибутирата и серы), хорошо заметны в световом микроскопе без специальной обработки. Часть структур (жгутики, клеточная стенка, нуклеоид, волютин и др.) можно выявить с помощью светооптического микроскопа только после окрашивания соответствующими красителями. Ряд структурных элементов бактерий - микрокапсулы, ворсинки, мезосомы, рибосомы и др. различимы только в электронном микроскопе.



- 1- жировые капли;
- 2 - гранулы полифосфата;
- 3 - внутрицитоплазматические мембранные образования;
- 4 - базальное тельце;
- 5- жгутики; 6- капсула;
- 7 - клеточная стенка;
- 8 - цитоплазматическая мембрана; 9- мезосомы;
- 10 - рибосомы;
- 11 - полисахаридные гранулы;
- 12 - цитоплазма; 13 - нуклеоид;
- 14 - включения серы

Рис. 24. Строение бактериальной клетки

1.4.2. Дрожжи

В группу дрожжей объединяются грибные организмы, которые в ростовой фазе существуют преимущественно в виде отдельных клеток. Примерно 2/3 дрожжей относится к классу сумчатых грибов (*Ascomycetes*). Дрожжи есть также в классе базидиомицетов (*Basidiomycetes*) и дейтеромицетов - несовершенных грибов (*Deuteromycetes - Fungi imperfecti*).

Клетки разных видов дрожжей морфологически весьма разнообразны. Они бывают круглые, овальные, цилиндрические, яйцевидные, лимоновидные, колбовидные, треугольные, стреловидные и серповидные. Дрожжевые клетки значительно крупнее бактериальных. Длина их варьирует у разных видов от 2 до 20, иногда до 50 мкм, ширина от 1,5 до 10 мкм. К числу наиболее крупных дрожжей относятся, например, представители родов *Saccharomyces* и *Lipomyces*, наиболее мелкими являются виды *Pichia* и *Hansenula*.

Как уже отмечалось, дрожжи существуют в основном в одноклеточной форме. Однако в культурах многих видов наблюдаются скопления разных размеров и очертаний, а некоторые дрожжи на определенной стадии развития могут образовывать мицелиальные структуры. Дрожжи являются неподвижными организмами.

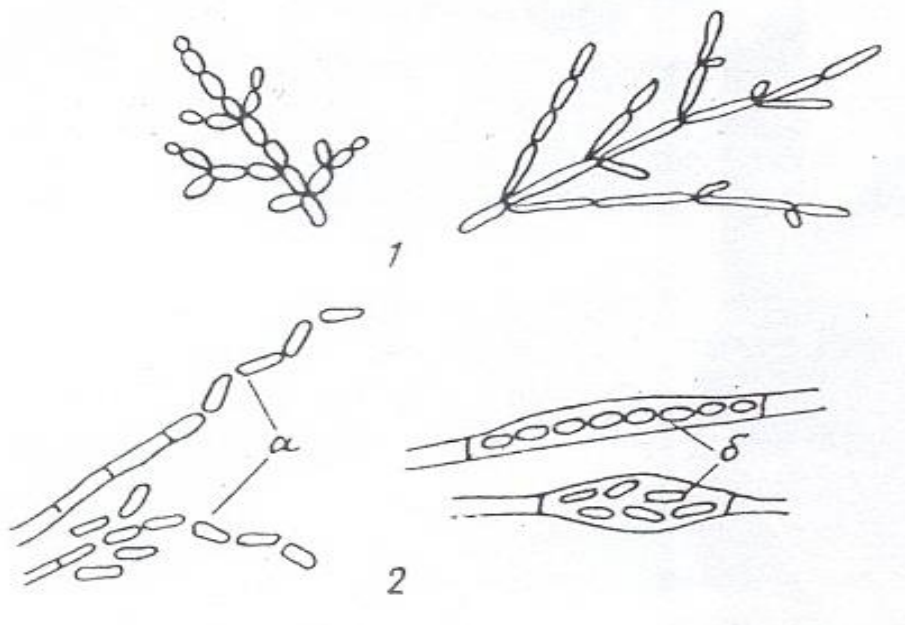


Рис. 25. Мицелиальные формы дрожжей:
1 – псевдомицелий; 2 – истинный мицелий;
а – артроспоры; б – эндоспоры

Дрожжи размножаются разными способами: вегетативно, бесполыми спорами и половым путем. Наиболее распространенным способом вегетативного размножения является почкование. К почкующимся дрожжам относятся, например, виды родов *Saccharomyces* и *Lipomyces*. Если при почковании вновь возникающие клетки не отделяются друг от друга, то образуется псевдомицелий. Он отличается тем, что в зоне перегородок между клетками имеются перетяжки. Образование псевдомицелия особенно характерно для дрожжей рода *Candida*.

Размножение делением встречается реже. Оно свойственно, например, видам *Schizosaccharomyces*. Когда не расходятся делящиеся клетки, формируется истинный мицелий. Между клетками истинного мицелия четко различается перегородка, но нет перетяжек. У ряда дрожжей (определенные виды *Saccharomyces*, виды *Nadsonia* и др.) наблюдается так называемое почкующееся деление, при котором почка формируется на широком основании. Почкующееся деление имеет морфологическое сходство с почкованием и делением.

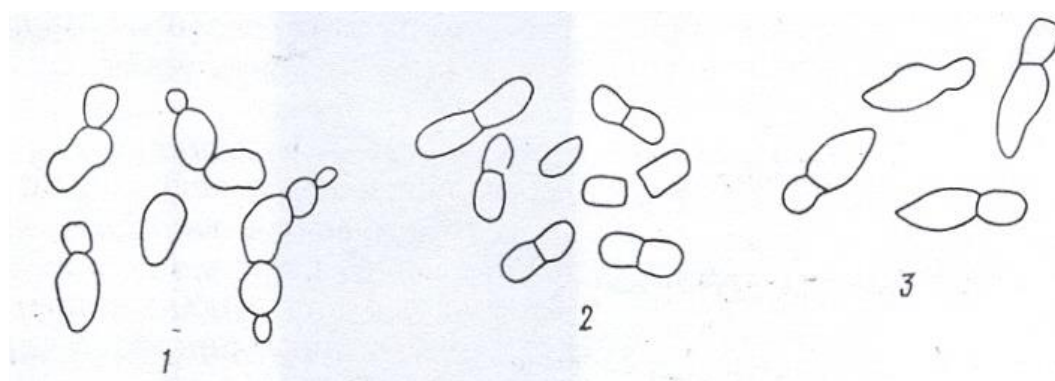


Рис. 26. Способы вегетативного размножения дрожжей:
1 – почкование; 2 – деление; 3 – почкующееся деление

Бесполое и половое размножение связано с формированием специализированных репродуктивных структур. При половом размножении их появлению предшествует слияние клеток и последующее объединение ядер, при бесполом размножении предварительное слияние клеток и ядер не происходит.

Размножение бесполыми спорами - баллистоспорами - характерно для видов *Sporobolomyces*, *Sporidiobolus* и др. Баллистоспоры возникают на заостренных выростах клеток - стеригмах. При созревании они с силой отбрасываются на некоторое расстояние. Баллисто-

споровые дрожжи относятся к базидиомицетам. Истинный мицелий таких дрожжей может распадаться на отдельные клетки, называемые артроспорами.

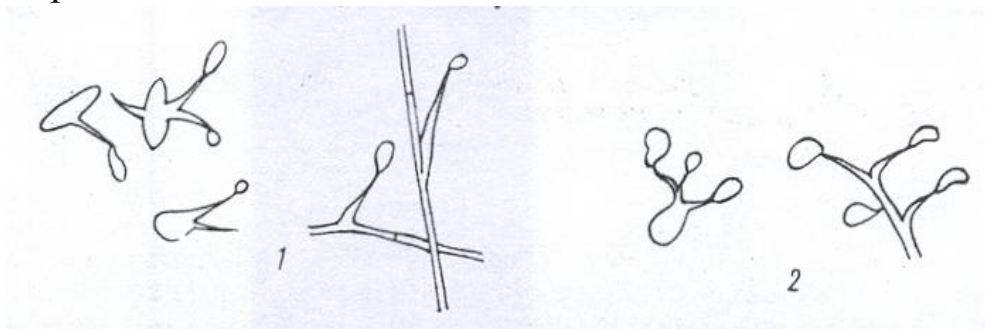


Рис. 27. Баллистоспоры на отдельных клетках и гифах мицелия:
1 – *Sporobolomyces*; 2 – *Sporidiobolus*

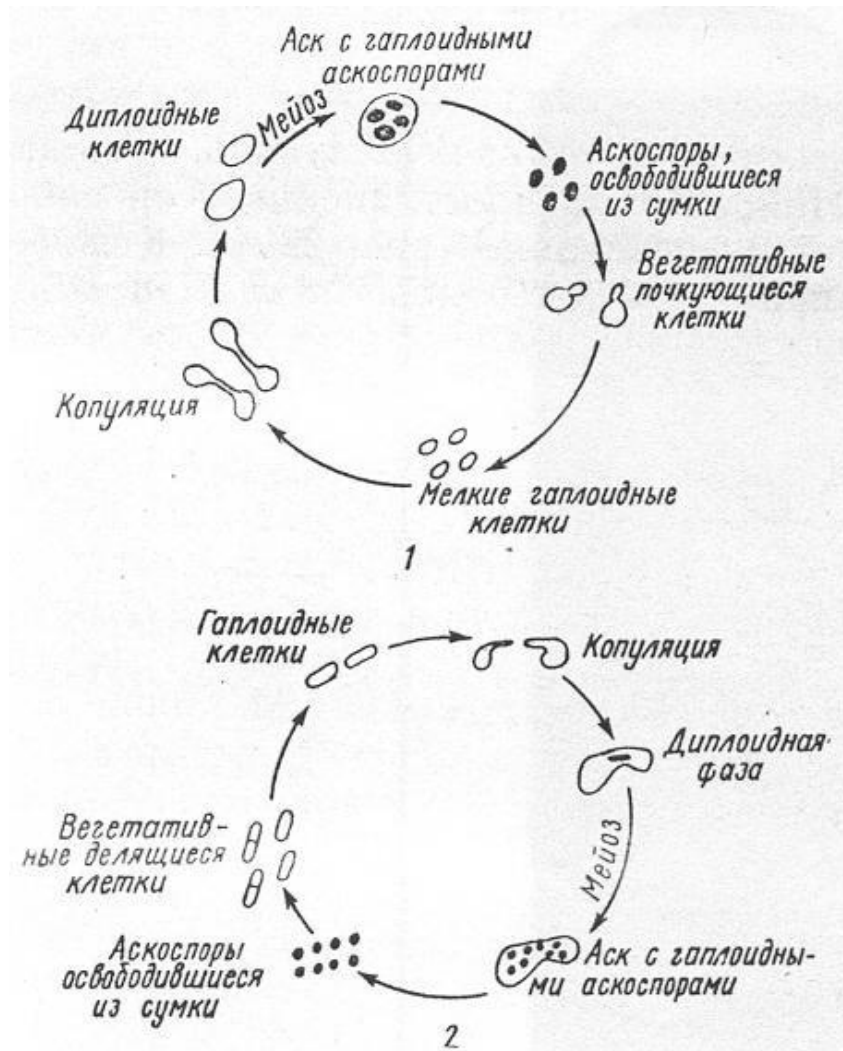


Рис. 28. Жизненные циклы некоторых дрожжей:
1 – *Saccharomyces cerevisiae*; 2 – *Schizosaccharomyces* (*Octosporomyces*) *octosporus*

Половое размножение большинства дрожжей (аскомицетов) связано с образованием асков (сумок) и аскоспор. у одних (виды *Saccharomyces*, *Debaryomyces* и др.) образование асков происходит сразу после изо- или гетерогамной копуляции почек или вегетативных гаплоидных клеток в диплоидную. У других (виды *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces* и др.). Аски формируются из ранее возникших диплоидных клеток партеногенетически, т. е. без непосредственно предшествующей копуляции. В асках в результате мейоза образуются гаплоидные аскоспоры. В каждом аске бывает, как правило, от 2 до 8 спор. Иногда (виды *Lipomyces*) их число достигает нескольких десятков. Аскоспоры многих дрожжей (виды *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*) освобождаются из сумок и превращаются в вегетативные клетки.

У базидиомицетов в результате полового процесса развиваются специализированные репродуктивные клетки - базидии, на которых образуются экзогенные споры (базидиоспоры).

Обычно половой процесс чередуется у дрожжей с вегетативным размножением. Однако длительность гаплоидной и диплоидной фаз у разных дрожжей неодинакова. Например, у *Saccharomyces cerevisiae* преобладает диплоидное состояние, у *Schizosaccharomyces (Octosporomyces) pombe* - гаплоидное. Кроме того, половой процесс и образование аскоспор у дрожжей происходит только в определенных условиях. В культурах *Saccharomyces* активное спорообразование можно наблюдать, если молодые активные клетки, выращенные на полноценной богатой среде, поместить в условия недостаточного питания, плохого снабжения кислородом и влагой.

К половому процессу способны многие дрожжи. Но есть и такие, у которых половой процесс и спорообразование не обнаружены. Их включают в класс несовершенных грибов. К ним относятся представители *Candida*, *Torulopsis* и *Cryptococcus*.

Споры дрожжей отличаются значительной, хотя и меньшей, чем эндоспоры бактерий, устойчивостью к неблагоприятным воздействиям. Они имеют утолщенную клеточную стенку, поэтому под микроскопом заметно выделяются как структуры, сильно преломляющие свет.

Покоящимися формами дрожжей являются так называемые хламидоспоры - толстостенные округлые клетки, образовавшиеся из вегетативных и заполненные резервными веществами, главным образом липидами. Они обнаруживаются у определенных дрожжей либо в связи с мицелиальными структурами (патогенные виды *Candida*), либо в форме отдельных клеток (у *Lipomyces* и *Cryptococcus*). При пересеве в свежую питательную среду хламидоспоры *Lipomyces* и *Cryptococcus* начинают активно почковаться, сбрасывая наружные слои клеточных стенок.

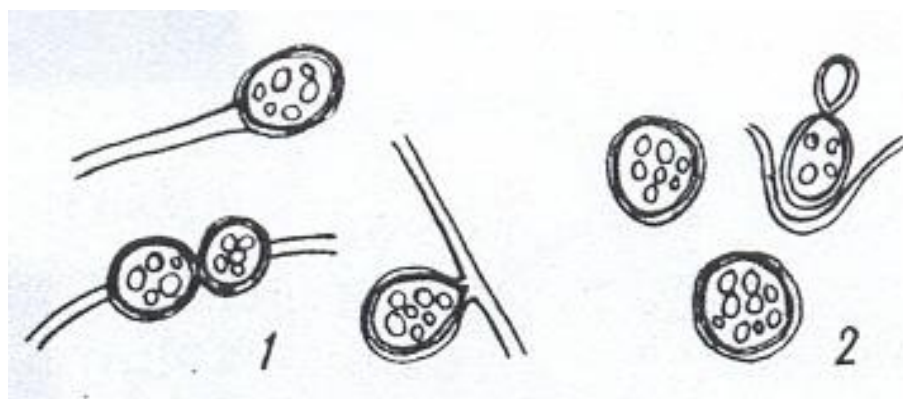


Рис. 29. Хламидоспоры дрожжей:
1 – на гифах мицелия; 2 – без мицелия.
В хламидоспорах видны капли жира

Дрожжи имеют достаточно сложную структурную организацию, типичную для эукариотных организмов. Клеточная стенка дрожжей, в отличие от бактериальной, легко различима в световом микроскопе. Как и у большинства бактерий, она ригидна и обуславливает постоянство формы клеток. Клетки ряда дрожжей в определенных условиях могут быть окружены слизистой капсулой полисахаридной природы. Толщина капсул сильно варьирует. Иногда капсульный слой различим только с помощью электронного микроскопа, а в ряде случаев он заметно превышает диаметр клетки.

К клеточной стенке изнутри примыкает цитоплазматическая мембрана. В цитоплазме обнаруживается ядро. Оно ограничено от цитоплазмы двуслойной мембраной с порами. Внутри ядра имеется ядрышко. В клетках мицелиальной формы базидиомицетовых

дрожжей содержится два ядра. На поверхности наружной ядерной мембраны локализованы рибосомы.

Постоянными компонентами дрожжевой клетки являются митохондрии. Они имеют вид гранулярных, нитевидных или ветвистых структур. Количество митохондрий в клетке достигает сотен и даже тысяч единиц. Их средние размеры лежат в пределах видимости светоптического микроскопа (около 0,4 мкм). Митохондрии лучше развиты у дышащих дрожжей. Как и у всех эукариот, у дрожжей хорошо развит мембранный аппарат. Он представлен эндоплазматической сетью, аппаратом Гольджи и лизосомами. В старых культурах дрожжей четко видны вакуоли, окружённые мембраной. В почках и молодых клетках они, как правило, не обнаруживаются.

В клетках дрожжей, выращенных при определенных условиях, легко выявляются включения запасных веществ. При культивировании на средах с избытком сахара в цитоплазме часто накапливается гликоген. Он имеет вид зерен, глыбок или крупных конгломератов. Скопления зерен гликогена могут придавать клеткам дрожжей гранулярную структуру. К характерным включениям дрожжей относятся липиды. Их бывает особенно много у видов *Lipomyces*, *Candida* и *Trichosporon*. В клетках *Candida* и *Trichosporon* липиды видны как отдельные включения, а у *Lipomyces* они могут маскировать все другие внутренние структуры, так что клетки выглядят как капли жира, окруженные оболочкой. В вакуолях часто обнаруживаются полифосфатные гранулы - волютин.

Наибольшее практическое применение в пищевой промышленности находят дрожжи рода *Saccharomyces*, который включает около 40 видов, которые обладают способностью превращать сахара в спирт. Мейен в 1837 году различал в соответствии с их источником три вида дрожжей. Выделенных из спиртных напитков: *Saccharomyces vini* - из вина, *Saccharomyces cerevisiae* - из пива и *Saccharomyces pomorum* - из сидра. Штаммы, отнесенные к *Saccharomyces cerevisiae*, получили широкое распространение в пивоварении, производстве спирта, приготовлении вина, а также в получении пекарских дрожжей и биомассы. Все штаммы, классифицированные, как *Saccharomyces cerevisiae*, способны в аэробных условиях расти на лактозе, мальтозе и трегалозе, но не могут расти на лактозе и

целлобиозе. В анаэробных условиях дрожжи сбраживают гексозы и дисахара после их гидролиза, пентозы - не сбраживают. Во многих промышленных процессах дрожжи растут в среде, обогащенной сахарами. В этих условиях рост происходит анаэробно и потребляемый сахар превращается в углекислый газ и этанол; процесс этот известен, как спиртовое брожение. Даже при энергичной аэрации дрожжи продолжают перерабатывать сахар в углекислый газ и этанол до тех пор, пока концентрация сахаров не упадет до очень низкого уровня. Высокий уровень легко усваиваемых сахаров подавляет способность клеток осуществлять аэробное дыхание, даже когда нет недостатка в кислороде. Это явление известно, как катаболитная регрессия.

В анаэробных условиях образующийся этанол не подвергается дальнейшим превращениям, тогда как в аэробных условиях дрожжевые клетки после исчерпания запаса сахара начинают утилизировать накопленный ими этанол, переводя его в углекислый газ и воду.

Saccharomyces cerevisiae может расти в условиях брожения с очень высокой скоростью (время удвоения примерно 1,6 ч), однако конечный выход клеток оказывается незначительным. В условиях, благоприятствующих аэробному метаболизму, рост дрожжей протекает с такой же скоростью, но достигает гораздо больший выход клеток. Тот факт. Что при данном содержании сахара в аэробных условиях получается больше дрожжевых клеток. Чем в анаэробных впервые был замечен Пастером, и поэтому это явление носит название эффект Пастера.

При выращивании дрожжей в анаэробных условиях они превращают глюкозу в пируват посредством метаболического пути Эмбдена-Мейергофа-Парнаса (ЭМП). Однако накапливающийся пируват не может принять участие в цикле трикарбоновых кислот и НАДН₂, накопившийся в ходе гликолиза, не окисляется цитохромной системой. В этих условиях пируват декарбоксилируется другим ферментом до ацетальдегида, который восстанавливается в этанол с помощью НАДН₂, накопившегося в ходе гликолиза. В ходе превращения глюкозы в этанол путем брожения образуется только 4 молекулы АТФ, так что брожение - это менее эффективный процесс, чем аэробное дыхание. Количество АТФ, требуемое для биосинтеза, одинаково вне зависимости от того, растут ли клетки в аэробных или анаэробных

условиях, поэтому при анаэробном метаболизме для производства такого же количества клеточного материала дрожжам необходимо утилизировать гораздо больше глюкозы. В этом состоит биохимическое объяснение эффекта Пастера.

Как уже указывалось, спиртовое брожение происходит не только в анаэробных условиях. Дрожжевые клетки, растущие в аэробных условиях при высоком уровне глюкозы в среде, также сбрасывают глюкозу в этанол. Подавление аэробного дыхания высоким содержанием глюкозы, или, точнее, высокой скоростью усвоения глюкозы называется эффектом Крэбтри или катаболической регрессией.

Когда вся глюкоза переведена в спирт, катаболическая регрессия снимается и клетки могут продолжать рост путем аэробного усвоения этанола, накопившегося на стадии брожения.

Регуляция метаболизма дрожжей - очень сложный процесс. Рост клеток может протекать аэробным и анаэробным путем, в условиях катаболической регрессии и в нерепрессированном состоянии. Каждый из этих вариантов характеризуется различными уровнями функционирования пути ЭМП, пентозофосфатного пути, цикла трикарбоновых кислот и глиоксилатного цикла. Скорость гликолиза меняется в зависимости от доступности для клетки субстратов или кофакторов, таких как НАД и АДФ.

1.4.3. Мицелиальные грибы

В группу мицелиальных грибов, изучаемых микробиологами, объединяются определенные представители трех классов: *Zygomycetes*, *Ascomycetes* и *Deuteromycetes* (*Fungi imperfecti*).

Клетки мицелиальных грибов имеют вытянутую форму и образуют систему ветвящихся нитей (гиф), называемую мицелием. Диаметр гиф вегетативного мицелия многих мицелиальных грибов больше поперечника бактериальной клетки: он варьирует от 5 до 30 мкм и даже более. Гифы часто хорошо видны невооруженным глазом. Мицелий большинства зигомицетов несептированный (ценоцитный) и представляет собой одну гигантскую клетку. Некоторое количество перегородок появляется в мицелии этих грибов при образовании органов плодоношения, а также при старении и в неблагоприятных

условиях. Аскомицеты и несовершенные грибы имеют расчлененный, многоклеточный мицелий.

Некоторые грибы на определенной стадии развития образуют тела плотной консистенции, состоящие из переплетений сильно разветвленных гиф - склероции. У одних видов они твердые, у других мягкие и сочные. Склероции обычно служат для перенесения неблагоприятных условий и рассматриваются как покоящиеся формы грибов. Их можно обнаружить, например, в колониях некоторых видов *Aspergillus* и *Penicillium*. Мицелиальные грибы - неподвижные организмы.

Мицелиальные грибы размножаются вегетативным, бесполом и половым путем. Вегетативное размножение осуществляется отдельными участками мицелия, то есть без образования специализированных органов размножения. Бесполое размножение зигомицетов происходит с помощью эндоспор, образующихся в специальных крупных шаровидных клетках - спорангиях. Последние формируются на свободных концах, плодоносящих гиф - спорангиеносцах (спорангиофорах), которые могут иметь разнообразную форму: грушевидную (*Mucor*), шаровидную (*Rhizopus*), булавовидную (*Actinomicor*) и др. У мицелиальных аскомицетов бесполое размножение осуществляется экзоспорами (конидиями), образующимися на конидиеносцах (конидиофорах), форма которых бывает разной. Так, конидиеносцы видов *Penicillium* двукратно ветвятся, а у видов *Aspergillus* на концах вздуты в форме головки. У несовершенных грибов бесполое конидии образуются на изолированных или расположенных группами конидиеносцах или в специальных структурах, названных пикнидами.

Половой процесс известен только у зигомицетов и аскомицетов. При половом размножении зигомицетов между гифами одного мицелия (у гомоталлических видов) или разных мицелиев (у гетероталлических) образуются короткие поперечные выросты, отделяющие на концах многоядерные клетки, носящие название гаметангиев. Они сливаются и образуют зиготу (зигоспору). После периода покоя зигота прорастает в спорангий. При этом имеет место мейоз. Многоядерная цитоплазма спорангия распадается на множество спорангиоспор, каждая из которых, освободившись при разрыве спорангия, в соответствующих условиях может прорасти в мицелий.

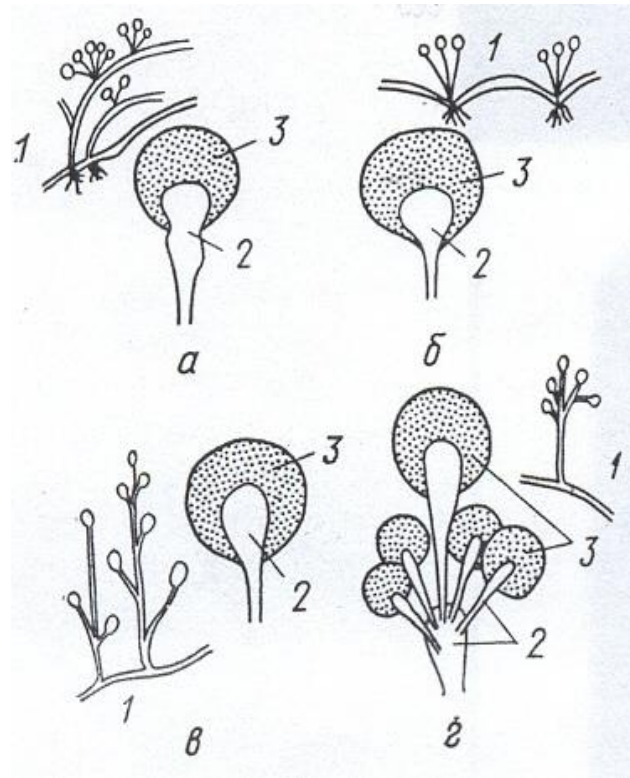


Рис. 30. Спорангии и спорагиеносцы некоторых зигомизетов:
Absidia (а); *Rhizopus* (б); *Mucor* (в); *Actinomyces* (г):
 1 – плодоносящий мицелий, 2 – спорангиеносцы, 3 – спорангий со спорами

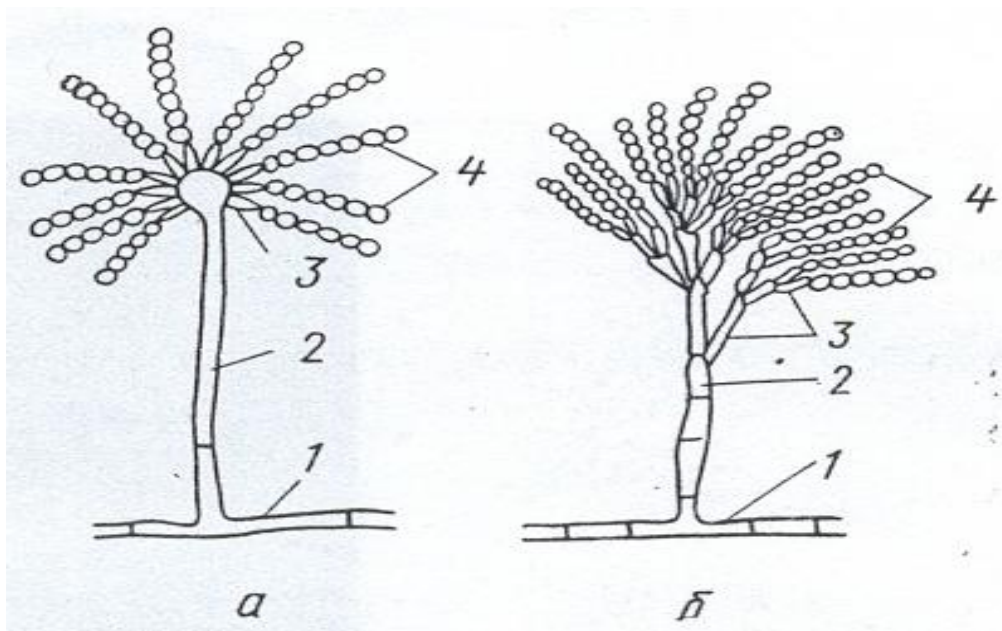


Рис. 31. Конидиеносцы у грибов рода *Aspergillus* (а) и *Penicillium* (б);
 1 – вегетативный мицелий, 2 – конидиофор, 3 – стеригмы,
 4 – конидии

Большая часть жизненного цикла зигомицетов протекает в гаплоидной фазе.

У аскомицетов в результате полового процесса, которому предшествует плазмोगамия, кариогамия и мейоз, формируются специализированные клетки округлой, цилиндрической или булавовидной формы аски (сумки). В сумке образуется определенное число (чаще всего 8) аскоспор, с помощью которых и происходит размножение. У одних аскомицетов сумки возникают непосредственно на мицелии, у других внутри или на поверхности плодовых тел, образуемых в результате сплетения гиф мицелия. Плодовые тела разных представителей могут различаться по форме и строению. У аспергиллов и пенициллов они замкнутые, чаще всего округлой формы. Их можно обнаружить в культуре гриба невооруженным глазом. У большинства аскомицетов плазмोगамия и кариогамия при половом процессе разделены во времени.

У многих сумчатых грибов половому процессу предшествует формирование специализированных мужских и женских половых органов антеридия и архикарпа. В этом случае зигота возникает при слиянии половых клеток. Есть аскомицеты, у которых в зиготу сливаются два сходных гаметангия. У некоторых аскомицетов происходит объединение соматических гиф двух совместимых мицелиев. Среди сумчатых грибов есть гомоталлические и гетероталлические виды.

Клетки грибов имеют строение, характерное для клеток других эукариотных организмов. Как правило, у грибов хорошо выражена клеточная стенка. Она ригидна и у ряда представителей снаружи может быть покрыта слизистым слоем. Внутри от клеточной стенки расположена цитоплазматическая мембрана. Ядро у грибов, как и у всех эукариот, содержит ядрышко, хромосомы и окружено двуслойной мембраной с порами. При митотическом делении ядра целостность ядерной оболочки не нарушается. Размеры ядер в вегетативных гифах лежат на пределе видимости светового микроскопа. У ряда грибов ядра аморфны и вытянуты. Ценоцитный мицелий, не имеющий септ, многоядерный. Отдельные клетки септированного, многоклеточного мицелия могут содержать одно или несколько ядер. Последнее связано в основном с тем, что образование перегородок между клетками значительно отстает от деления ядер. Кроме того, возможна миграция ядер через недостроенные септы из одной клетки в другую. Рибосомы у

грибов рассеяны в цитоплазме, а не локализованы на поверхности мембран, как у других эукариот.

Система внутренних мембран у грибов развита хорошо. Все грибы имеют митохондрии. Мембранные структуры грибов представлены также эндоплазматической сетью, аппаратом Гольджи и лизосомами.

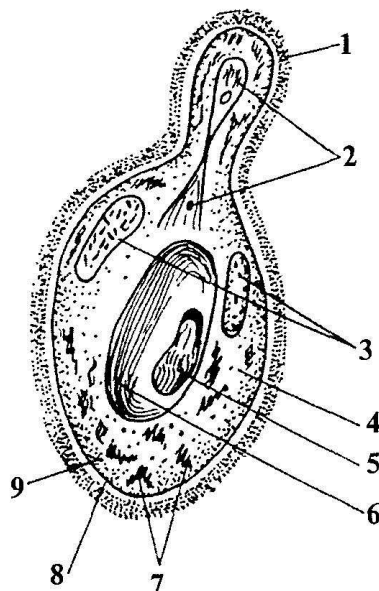


Рис. 32. Схема строения дрожжевой клетки:

*1 – клеточная стенка, 2 – делящееся ядро, 3 – зерна гликогена,
4 – цитоплазма, 5 – метахроматин, 6 – вакуоль,
7 – митохондрии, 8 – клеточная мембрана, 9 – рибосомы*

Характерными мембранными образованиями грибной клетки являются ломасомы. Они возникают между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной в результате отслоения мембраны от стенки. Ломасомы имеют вид пузырьков и обнаруживаются около клеточной стенки. В клетке грибов хорошо видны вакуоли. Обычно они локализуются вблизи клеточной стенки и число их увеличивается в старых культурах.

Основные запасные питательные вещества грибов - волютин, липиды и гликоген. Их можно обнаружить как в цитоплазме, так и в вакуолях. Чаще всего они локализуются в виде гранул. Липиды бывают представлены также жировыми каплями, а волютин в виде коллоидного раствора (в вакуолях). Кроме того, в гифах можно обнаружить кристаллы кальция, а также кристаллы, природа которых пока не установлена.

1.5. Почвообитающие животные и их роль в процессе почвообразования

Почва населена большим количеством животных - от беспозвоночных до высших позвоночных. Все животные, обитающие в почвах, делятся на три группы:

1. геобионты - постоянные обитатели почвы, например, дождевые черви;
2. геофилы - живущие в почве только часть своей жизни (личинки хрущей, шелкоуны);
3. геоксены - животные, которые используют почву как временное укрытие (кролики, барсуки).

По размерам отдельных особей почвенная фауна делится на 4 группы:

1. микрофауна - животные, размер которых не превышает 0,2 мм;
2. мезофауна - животные размером от 0,2 до 4 мм;
3. макрофауна - состоит из животных размером от 4 до 80 мм;
4. мегафауна - размер животных более 80 мм.

По типу питания животные почв подразделяются на следующие трофические группы:

1. фитофаги, питающиеся живыми тканями живых растений (личинки шелкоуны, нематоды);
2. зоофаги поедают других животных, выступая в роли хищников или паразитов;
3. некрофаги, использующие в пищу трупы животных;
4. сапрофаги - наиболее многочисленная и важная группа почвенных животных. Они перерабатывают мертвые остатки растений, их наземный и подземный (корневой) опад. Это черви, многоножки, мокрицы, клещи и многие личинки.

Участие животных в почвообразовании сводится к двум процессам:

1. разложение и минерализация органического вещества;
2. роющее, перемещающее и перемешивающее воздействие на почвенный материал.
3. Использование органических веществ животными в качестве пищи приводит:

4. к их механическому измельчению при пережевывании;
5. биохимическим превращениям в ходе пищеварения;
6. к обогащению экскрементов, которые выделяют животные наружу в виде конечных продуктов обмена, микроорганизмами и биофильными элементами;
7. к частичной гумификации и минерализации органической массы съеденного корма.

По мере прохождения пищи через кишечник животных в десятки тысяч раз увеличивается ее дисперсность и в сотни тысяч - площадь поверхности. Все это облегчает ее доступность для микроорганизмов и ускоряет ее разложение. Помимо этого, в ходе пищеварения синтезируются новые формы органических соединений. Растительная биомасса под воздействием ферментов пищеварения расщепляется на более простые органические и минеральные компоненты. Часть из них усваивается, а большая часть выводится наружу в составе выделений и попадает в почву. Поскольку усвояемость у беспозвоночных весьма высокая, то их экскременты в большей степени обогащены калием, магнием, азотом, фосфором и другими биофильными элементами по сравнению с испражнениями позвоночных. Но у тех и других концентрация биофильных элементов в фекалиях всегда выше, чем их содержание в почве.

Ярким примером необычно интенсивного воздействия на почву служит работа дождевых червей. За счет жизнедеятельности червей почвы из года в год приобретают биогенное сложение и структуру, неповторимые биохимические свойства, не воспроизводимые никаким другим агентом природы. На площади в 1 га черви ежегодно пропускают через свой кишечник от 50 до 600 т мелкозема почвы. Вместе с минеральной массой они поглощают и перерабатывают огромное количество органического опада. Сообщество дождевых червей всего за несколько десятков лет способно пропустить через себя всю массу почвы. За время существования почв их минеральная масса многократно прошла через пищевой тракт червей. На поверхность почвы черви выносят до 25 т/га копролитов в год. В их копролитах в 1,5 раза больше фосфора, в 2,5 раза больше калия и в 3 раза больше азота по сравнению с исходным почвенным материалом. Кроме того, в выделениях всех животных содержатся значительные количества стимуляторов роста, витаминов и микроорганизмов. Та-

ким образом, благодаря животным в почвах появляются, а затем нарастают биогенные свойства в виде рыхлого сложения, структуры, гумусного профиля, биохимической активности и т.д.

Турбомеханическая работа главным образом присуща роющим животным и выражается в виде:

1. рыхления почв, что способствует усилению аэрации;
2. пронизывания почв и пород во всех направлениях норами и ходами, что ведет к изменению водопроницаемости и оказывает дренажное воздействие;
3. перемешивания и переотложения почвенного мелкозема, что придает почве однородное строение и обуславливает «оборот слоев»;
4. перемещения почвенной массы и создания механическим путем микрорельефа, что ведет к изменению гидротермического режима почв и увеличению пестроты почвенного покрова;
5. структурообразования на примере копролитов почвенных беспозвоночных;
6. вытаптывания почвы. Оно свойственно, главным образом, копытным животным. Это проявление негативного влияния животных на свойства почв.

Таким образом, еще до появления человека почвенный покров испытывал механические нагрузки со стороны животных, во многом сходные с сельскохозяйственными приемами в земледелии.

1.6. Биологические процессы в почвообразовании. Роль микроорганизмов в превращении органического вещества почвы

Плодородие почв и его рациональное использование в сельскохозяйственном производстве во многом определяются интенсивностью и направленностью биохимической деятельности микроорганизмов. Ведущая роль при этом принадлежит синтезу и минерализации гумуса.

Агрономическая ценность гумуса в значительной степени определяется соотношением содержащихся в нем гуминовых и фульвокислот. Преимущественный синтез гуминовых кислот, обусловленный спецификой микробиологической гумификации свежего органического вещества, сопровождается формированием в почве четко выраженного гумусового горизонта. Способность гумусовых веществ

формировать и регулировать физико-химические свойства почв определяет их важную роль в оптимизации почвенных условий произрастания растений и развития микроорганизмов. В высоко гумусных почвах для растений и микроорганизмов создаются более благоприятные водный, воздушный и тепловой режимы. В них исключительно широко представлены разнообразные группы и виды микроорганизмов. Преимущественно развивается сапрофитная микрофлора, что сопровождается значительным повышением фунгистатичности этих почв. В связи с этим хорошо окультуренные, богатые гумусом почвы характеризуются сильно выраженной фитосанитарной способностью, а при возделывании сельскохозяйственных культур в узкоспециализированных севооборотах они менее подвержены «почвоутомлению».

В составе гумуса аккумулируются огромные запасы питательных элементов, которые при постепенной минерализации микроорганизмами переходят в почвенный раствор и используются растениями. Следовательно, микробиологические процессы трансформации гумуса, постоянно протекающие в почве, являются необходимым условием для нормальной жизнедеятельности растений, так как способствуют наиболее продуктивному использованию ими почвенной среды обитания.

Большую роль гумусовые соединения почвы играют в образовании углекислоты и обеспечении ею растений. Большая часть углекислоты образуется в процессе микробиологического разложения органического вещества почв. Непрерывное ее поступление из почвы в приземный слой воздуха оказывает огромное влияние на развитие растений и их фотосинтез. Даже незначительное повышение концентрации CO_2 в приземном слое воздуха увеличивает урожай растений на 30-100%. Таким образом, гумус, составляющий основной фонд органического вещества в почвах, выступает одним из наиболее важных регуляторов угольной кислоты в природе. Исключительно важную роль гумус играет в энергетике почвенных процессов. Аккумулированные в его составе огромные запасы солнечной энергии непрерывно используются в процессах жизнедеятельности растений и микроорганизмов.

Гумус активизирует биохимические и физиологические процессы, повышает обмен веществ и общий энергетический уровень процессов в растительном организме, способствует поступлению в него

элементов питания, что сопровождается повышением урожая и улучшением его качества.

Непрерывное поступление в почву органических остатков и их микробиологическая трансформация - необходимые условия гумусообразования. Процессы разложения свежих растительных остатков и формирование гумуса почв носят сложный ферментативный характер и протекают при непосредственном участии микроорганизмов. Выяснение роли микробиологических процессов в формировании гумуса и их значения в почвенной плодородии - одна из актуальных почвенно-микробиологических проблем в современной земледелии.

Разложение органических остатков, поступающих в почву, под воздействием биохимической деятельности микроорганизмов протекает по двум основным направлениям: минерализация до конечных продуктов с высвобождением минеральных элементов, CO_2 и воды; разложение с прохождением стадии гумификации, обеспечивающее синтез биологически устойчивых органических соединений гумусовой природы. Оба эти процесса имеют важное значение для жизнедеятельности растений. Разложение до конечных продуктов способствует сравнительно быстрому переходу закрепленных в органическом субстрате различных элементов в минеральные формы, которые, используя растениями, вовлекаются в новый цикл биологического круговорота веществ. При гумификации свежего органического вещества формируются агрономически ценные физико-химические свойства почв и создается запасной, медленно реализуемый фонд питательных элементов для растений. Этот путь микробиологического превращения органических остатков осуществляется с незначительной скоростью и требует для полного завершения более длительного времени. Соотношением указанных направлений разложения свежего органического вещества микроорганизмами главным образом и определяется интенсивность процессов синтеза гумуса в почвах.

Скорость и специфика развития минерализационных процессов в почвах зависят от многих факторов, важнейшие из которых: химический состав разлагаемого органического материала, особенности почвенных и климатических условий, состав микробных ассоциаций и др.

Поступающий в почву органический материал по своему химическому составу крайне неоднороден. Он состоит из легкогидролизу-

емых углеводов и белков, трудно разлагаемых веществ: лигнина, липидов, восков, смол, фенольных соединений, содержит различные пигменты, витамины, ферменты, низкомолекулярные органические кислоты, а также зольные элементы. Указанные соединения характеризуются неодинаковой устойчивостью к микробиологическому разложению. Наиболее интенсивно в почвах минерализуются углеводы, белки, водорастворимые органические вещества и значительно медленнее различные фенольные соединения, особенно лигнин. В связи с этим одним из наиболее важных критериев, определяющих скорость разложения органических соединений микроорганизмами, следует считать присутствие в составе минерализуемых веществ циклических и гетероциклических группировок.

Большую роль в процессах трансформации свежего органического вещества играет характер связи между легко- и труднодоступными микроорганизмам биохимическими компонентами, входящими в состав органических остатков. Белки в почвах подвергаются более быстрой микробиологической минерализации по сравнению с лигнинно-протеиновыми комплексами.

Устойчивость к минерализации органических субстратов, попадающих в почву, зависит от содержания в этих субстратах зольных элементов. Последние, являясь дополнительным источником минерального питания микроорганизмов, способствуют более быстрой трансформации органических остатков в почве.

Скорость превращения свежего органического вещества в значительной степени регулируется химическим и минералогическим составом почв. В почвах, богатых вторичными минералами (монтмориллонитом, каолинитом, гидрослюдами), интенсивность разложения органических остатков заметно снижается. Это объясняется тем, что вторичные минералы, адсорбируя на своей поверхности многие органические соединения, препятствуют их дальнейшей минерализации.

Устойчивость к микробиологической минерализации многих органических веществ, высвобождающихся из разлагающихся субстратов, возрастает и при их взаимодействии с различными минеральными элементами. Степень устойчивости к микробиологическому расщеплению формирующихся органоминеральных комплексных соединений определяется прочностью возникающих химических связей.

Все факторы, определяющие интенсивность минерализации органических остатков в почвах, оказывают существенное влияние и на процессы их гумификации. Гумификация органической массы в почвах связана со значительной убылью исходного материала. В среднем 80-90% органических остатков минерализуется до конечных продуктов, и лишь 10-20% принимает участие в образовании гумуса или накапливается в почвах в форме устойчивых к разложению соединений.

Величина коэффициентов гумификации в значительной степени определяется качественным составом органических остатков, а также структурой микробных ценозов, принимающих участие в их разложении. При оценке роли микроорганизмов в процессах превращения органического вещества и синтеза гумуса в почвах необходимо учитывать особенности их энергетического обмена. Различные физиологические группы микроорганизмов характеризуются неодинаковыми коэффициентами использования органического субстрата. Высокой эффективностью использования субстрата обладают микроскопические грибы. Эти микроорганизмы способны использовать на построение своих клеток до 50-60% разлагаемого ими органического материала. Следовательно, лесные подстилки, в переработке которых доминирующую роль играют грибы, разлагаются с высокой эффективностью. Коэффициенты использования субстрата у актиномицетов и особенно бактерий характеризуются более низкими величинами. Однако уровень энергетического обмена микроорганизмов обуславливается не только их видовым составом, но и качеством используемого ими субстрата. Кроме того, в естественных условиях превращение органических веществ осуществляется комплексом микроорганизмов, а не отдельными видами и при этом коэффициенты использования субстратов значительно возрастают.

В разложении отдельных химических компонентов свежего органического вещества почв могут принимать участие многие представители почвенной микрофлоры. Степень разложения и состав получаемых при этом конечных продуктов распада будет резко различным. Этим объясняется образование в почве чрезвычайно сложной системы высоко- и низкомолекулярных продуктов разложения органических остатков, служащих исходным материалом для синтеза гумусовых соединений.

Минерализация клетчатки в почве осуществляется различными группами бактерий, грибов и актиномицетов, активно продуцирующих ферменты целлюлозы. Скорость разложения клетчатки обычно незначительна, что объясняется не только особенностью строения волокон целлюлозы, но и (в большей степени) ее связями в растительных тканях с лигнином, восками и смолами, которые сильно снижают доступность клетчатки микроорганизмам. В зависимости от видового состава микробных ассоциаций, принимающих участие в разложении клетчатки, в почвах наблюдаются резкие различия в составе конечных продуктов ее распада. Так, под влиянием анаэробных микроорганизмов при разложении целлюлозы формируется серия низкомолекулярных кислот и спиртов.

Более интенсивно гумифицируются в почве *гемицеллюлозы* и *пектиновые вещества*. В расщеплении этих соединений принимают участие бактерии, грибы, актиномицеты и другие микроорганизмы, способные выделять в почву различные ферменты, относящиеся к классу гидролаз.

Исключительно важную роль в процессах синтеза гумусовых веществ играют *белки* и *аминокислоты*. Белки начинают принимать участие в процессе гумусообразования, еще находясь в составе растительных тканей, образуя в них устойчивые комплексы с фенолами.

Важную роль в процессе гумусообразования играет микробиологическая трансформация *лигнина растительных остатков*. Сложный химический состав и циклическое строение лигнина значительно затрудняют его разложение микроорганизмами. Микробиологическое разложение лигнина осуществляется комплексом окислительных ферментов типа фенолоксидаз, продуцируемых грибами, бактериями и актиномицетами. Наиболее активные минерализаторы лигнина - базидиомицеты, возбудители «белой» гнили древесины. Среди продуктов промежуточного распада молекул лигнина обнаруживается значительное количество фенольных соединений ароматической природы: ванилин, сиреневый альдегид и др.

Второй путь микробиологического превращения лигнина в почвах - его гумификация. Этот процесс сопровождается значительной его убылью. Через полгода разложения лигнина анаэробными микроорганизмами сохраняется лишь 47-63% его первоначального количества.

Аналогичным образом происходит в почвах микробиологическая трансформация *флавоноидов* и *танинов*, составляющих одну из важных групп природных соединений ароматического строения и широко представленных в растениях и микробных метаболитах. Разлагаясь в почвах различными грибами и бактериями, они принимают активное участие в синтезе гумусовых соединений.

Таким образом, от особенностей биохимического состава разлагаемого материала в значительной степени зависит как интенсивность микробиологического разложения органических остатков в почве, так и степень их участия в процессах гумусообразования. Субстраты, обогащенные биологически неустойчивыми формами органических соединений (напр., простыми углеводами), подвержены быстрому микробиологическому окислению с образованием в качестве конечных продуктов CO_2 и H_2O . Разложение органических остатков с высоким содержанием ароматических структур, и в частности лигнина, протекает замедленно, а продукты их трансформации преимущественно используются на строение гумусовых соединений.

1.7. Разложение растительных остатков и формирование подстилки

Основная масса ежегодно поступающего в почву органического вещества заключена в отмирающих остатках и прижизненных выделениях высших растений.

Часть первичной растительной продукции отчуждается травоядными животными, но до 60% ее возвращается в почву в виде экскрементов после переработки в кишечнике с участием микроорганизмов. От 20 до 90% фитомассы растений в разных зонах приходится на долю корней, разложение которых происходит в разных горизонтах почвы. Причем отмирание части корней происходит не только периодически, но представляет собой постоянный процесс, сопутствующий росту.

Основная масса растительного опада в природных условиях накапливается на поверхности почвы. Из этого материала в лесных экосистемах формируется подстилка, под травянистыми формациями - ветошь и степной войлок.

Переработка опада осуществляется сложным комплексом организмов, включая и представителей микроорганизмов и почвенной фауны. Характер разложения и его скорость определяются тремя главными факторами: составом растительного материала, гидротермическим режимом и комплексом организмов - деструкторов. В процессе разложения одна часть веществ полностью минерализуется, другая - включается в гумус. При этом синтезируется живая биомасса обитателей подстилки, живущих сапрофитно за счет разлагаемого мертвого органического субстрата; 85% выделяющегося при разложении диоксида углерода приходится на долю микроорганизмов, 10-15% - на долю дыхания животных.

По мере разложения происходит изменение опада и превращение его в аморфную массу. Это прослеживается в вертикальном профиле в виде слоев разной степени минерализации опада. В разных условиях минерализация опада значительно различается. В тропическом лесу, где круглый год положительные температуры и высокая влажность, ежегодный опад полностью разлагается и почва здесь почти голая, без подстилки. В хвойных лесах Севера с коротким периодом положительных температур опад разлагается медленно и накапливается благодаря климатическим условиям и химическому составу хвои. Общая продолжительность разложения растительных остатков может колебаться от 10 до 15 лет.

Опад лиственных пород разлагается быстрее, чем хвойных, поскольку в нем содержится меньше трудноразлагаемых веществ. В разложении опада широколиственных лесов большая роль принадлежит дождевым червям. Среди микроорганизмов доминирующее значение имеют не грибы, а бактерии.

Наиболее легко подвергаются разложению остатки травянистой растительности. В их преобразовании ведущая роль принадлежит микроорганизмам. Под их влиянием мягкие ткани таких растений как свекла, салат, бобы могут полностью разложиться в течение двух месяцев.

Корни растений распадаются значительно медленнее, чем надземные остатки. Так, у злаковых трав после года разложения потеря массы корней может составлять 25-33% от исходного. В минерализации корневого опада принимают участие грибы, бактерии, простейшие и дождевые черви.

Основные закономерности биохимии гумусообразования изучались в нашей стране такими крупными учеными как М.М. Кононова, Л.Н. Александрова, Д.С. Орлов, а также их учениками.

При равных условиях наиболее быстрой гумификации подвергаются растительные остатки, богатые белками (бобовые травы, зернобобовые) и бедные лигнином (корнеплоды, клубнеплоды, молодые растения). При этом происходит потеря исходной массы материала примерно на две трети.

Химический состав растительного опада оказывает большое влияние на скорость его разложения. Интенсивное разложение опада возможно только при определенном уровне содержания в нем азота.

Быстрой минерализации растительного опада благоприятствует высокое содержание водорастворимых органических соединений, например сахаров. Наличие большого количества лигнина, наоборот, замедляет этот процесс. Ингибирующее действие на скорость распада оказывают так же бактерицидные вещества (танины, терпены, смолы), которые токсичны для многих групп микроорганизмов.

Существенное значение для скорости разложения имеет содержание оснований. Растительные остатки, богатые катионами, разлагаются быстрее, чем содержащие мало оснований.

Процесс переработки растительных остатков зависит не только от их химического состава, но и от физиологических свойств тех или иных микроорганизмов, прежде всего особенностей их ферментативных систем. Способностью разлагать полимерные системы грибы и актиномицеты обладают в большей степени, чем бактерии. Поэтому грибы играют ведущую роль в разрушении опада хвойных лесов, в составе которых присутствует много устойчивых соединений (лигнин, воски).

Помимо микроорганизмов в переработке растительного опада большое участие принимают почвенные животные. Дождевые черви, личинки некоторых жуков, во-первых, измельчают растительный материал. Во-вторых, пропуская часть растительных остатков через свой кишечник, они подвергают его глубокой переработке. При этом, прежде всего, разлагаются крахмал, пектин, клетчатка. Попадая в кишечник почвенных животных вместе с пищей, одни микроорганизмы гибнут, а другие, найдя здесь благоприятные условия, активно размножаются. В результате этого экскременты беспозвоночных содер-

жат обильную и активную микрофлору. Интенсивность микробиологических процессов в выбросах животных оказывается намного выше, чем в окружающей почве.

Таким образом, участие почвообитающих животных в разложении растительных остатков сводится к следующему (по М.С. Гилярову и Б.Р. Стригановой):

1. размельчение растительных тканей, которые благодаря этому становятся более доступными для микроорганизмов;
2. расщепление некоторых клеточных включений и целлюлозных компонентов клеточных стенок с помощью ферментов;
3. соединение образующегося в кишечнике аммиака с лигнином, что имеет большое значение для гумификации разлагающегося материала;
4. частичная минерализация и частичная гумификация растительного материала;
5. перемещение растительных остатков в более глубокие горизонты и перемешивание их с минеральными частицами;
6. стимуляция развития почвенной микрофлоры и распространение микроорганизмов в подстилке и почвенном профиле.

1.8. Превращения почвенными микроорганизмами различных соединений

1.8.1. Соединения фосфора

Фосфор играет важную роль в питании растений. Превращение его в соединения, доступные для растений, происходит при участии корневой системы растений и микроорганизмов.

Почвенные фосфаты обычно делят на две категории: легкорастворимые (и, соответственно, доступные растениям) и нерастворимые (недоступные растениям). Нерастворимые фосфаты в зависимости от типа почвы могут составлять до 95-97% от общего содержания фосфора. Они присутствуют в виде неорганических и органических соединений.

Нерастворимые неорганические соединения фосфора во всех почвах большей частью связаны с тремя элементами, из которых же-

лезо и алюминий являются главными фиксаторами в кислых почвах, а кальций - в нейтральных и слабощелочных.

Количество нерастворимых органических фосфатов особенно велико в кислых почвах. В нейтральных и щелочных (черноземы, каштановые почвы) их значительно меньше. Органический фосфор присутствует в основном в составе фитина, нуклеиновых кислот, нуклеотидов и фосфолипидов.

Между нерастворимыми почвенными фосфатами (неорганическими и органическими) и легкорастворимой их частью в почве существует определенное равновесие. Равновесное состояние между доступными и недоступными для растений формами фосфора во многом регулируется почвенной микрофлорой. Ее деятельность осуществляется по следующим направлениям.

Участие микроорганизмов ризосферы корней в поглощении фосфора растениями. Корни растений имеют контакт с относительно небольшим объемом почвы. Вследствие постоянного поглощения растворимых фосфатов их запасы у поверхности корней истощаются. Ввиду низкой подвижности этого элемента пополнение запасов фосфатов в почвенном растворе вблизи корней идет гораздо медленнее, чем растения их поглощают. Это создает зону обеднения фосфором вокруг корней, ширина которой составляет 1-2 мм. Обитающие в этой зоне микробы принимают участие в поступлении фосфора в корни растений.

Однако наибольшее значение в поглощении фосфора корнями растений имеют микоризные грибы. Они находятся внутри корней растений, откуда грибные гифы прорастают в почву. Тем самым они увеличивают контакт корней с большим объемом почвы. Во - вторых, микоризные грибы выделяют ауксины (ростовые вещества), которые усиливают рост корней, их ветвление и увеличивают диаметр поглощающей части корней. Как выявили канадские исследователи, растения с микоризными грибами не только поглощают больше фосфора (в том числе и из бедных почв), но и могут использовать формы почвенного фосфора, недоступные для растений.

Растворение минеральных фосфатов. Большинство видов микроорганизмов способны растворять нерастворимые минеральные фосфаты почвы. Особенно активны в этом плане виды *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptomyces* и *Aspergillus*.

Растворение фосфатов происходит в пределах ризосферы (т.е. 1-2 мм от поверхности корня). Это обусловлено тем, что интенсивность микробной деятельности зависит от выделения корней и отслоившихся от них клеток, которые служат субстратом для микробов.

Основной способ, которым микроорганизмы растворяют фосфаты - это выделение органических кислот, таких как молочная, щавелевая, лимонная.

Бактерии, способные окислять серу или аммоний, образуют соответственно серную и

азотную кислоты, которые растворяют фосфаты.

Микроорганизмы выделяют в процессе дыхания углекислый газ, который участвует в синтезе углекислоты, способной растворить большое количество фосфатов.

Исследованиями последних лет также установлено, что гуминовая кислота и фульво-кислота могут образовывать комплексы с железом и алюминием, высвобождая при этом фосфор из сложных труднорастворимых фосфатов железа и алюминия.

Минерализация органического фосфора. Микроорганизмы родов *Proteus*, *Streptomyces*, *Aspergillus* и др. могут минерализовать сложные органические фосфаты почвы.

Органические фосфаты могут растворяться бактериальными органическими кислотами, а также путем ферментативного гидролиза фосфолипидов и нуклеиновых кислот.

Следует отметить, что, по мнению большинства ученых, занимавшихся этой проблемой, минерализация микроорганизмами органического фосфора почвы широко распространена и встречается повсеместно. Однако она редко выходит за пределы собственной потребности микроорганизмов и лишь незначительно улучшает фосфорное питание растений.

Иммобилизация фосфора. Почвенные микроорганизмы конкурируют с корнями растений за подвижный фосфор. В обрабатываемой почве (по расчетам) бактерии поглощают и таким образом иммобилизуют 4-10 кг/га фосфора. Если к этому прибавить его поглощение грибами, то можно предположить, что микроорганизмы удерживают столько же фосфора, сколько нужно полевым культурам. Фосфор, связанный в микробных клетках, освобождается после их отмирания.

Бактерии накапливают больше фосфора (1,5-2,5% от их сухой массы), чем грибы (0,51,0%) или зеленые растения (0,05-0,5%).

1.8.2. Превращения калия

Калий входит в число важнейших элементов, необходимых для растений. Он участвует в обменных процессах при синтезе аминокислот и белков, в реакциях фотосинтеза. В значительной степени калий регулирует использование растениями азота. Между тем он относится к элементам, содержание которых в доступной форме в почве ниже потребности в них сельскохозяйственных растений, и поэтому необходимо внесение калия в составе комплексных удобрений.

Усваиваемый калий составляет всего 1-2% от его валового содержания в почве. Основной запас калия находится в минералах. К первичным минералам, содержащим калий, относятся слюды и полевые шпаты (ортоклаз и микроклин). Калий входит и во вторичные минералы - каолинит, монтмориллонит, вермикулит. Освобождение калия из минералов происходит при воздействии на них организмов. Этот процесс наиболее значителен в горах, на изверженных вулканических породах. Разложение минералов при взаимодействии с почвенными микроорганизмами и их метаболитами постоянно происходит и в сформированных почвах. В основе этих взаимодействий лежат разные механизмы: растворение сильными минеральными кислотами, образующимися при нитрификации, при окислении серы тионовыми бактериями; воздействие органических кислот - продуктов брожения и неполного окисления углеводов грибами; иммобилизация в микробной биомассе.

1.8.3. Превращения железа

По содержанию в литосфере железо среди металлов занимает второе место после алюминия и энергично мигрирует в земной коре. Железо образует около 300 минералов. В биосфере оно накапливается в осадочных породах, входит в состав живых клеток всех организмов, в том числе в молекулы ферментов, участвует в кислородном обмене. Дефицит его в почве вызывает функциональные расстройства метаболизма.

Железо относится к элементам с переменной валентностью, и это обуславливает его разную подвижность в восстановительных и окислительных условиях. При наличии органических веществ и анаэробных условий Fe^{+3} восстанавливается до Fe^{+2} и легко мигрирует. При соприкосновении с кислородом воздуха Fe^{+2} окисляется, образуя скопление гидроокисей охристого цвета, что придает соответствующий оттенок почвам и породам (красные и бурые суглинки и глины, желтые пески, латеритные почвы). В щелочных почвах образуются недоступные для растений соединения железа, в кислых - доступные, иногда в избытке. И то, и другое для растений плохо.

Участие микроорганизмов в превращении железа в почвах может быть прямым (окисление) и косвенным (за счет создания определенного ОВП и рН среды).

Железобактерии - это сборная группа микроорганизмов разного положения, которые объединяются на основании способности окислять восстановленные соединения железа с отложением окисного железа на поверхности клеток. К ним относятся нитчатые бактерии, флексибактерии, одноклеточные бактерии разных родов, микоплазмы и цианобактерии.

Окисление Fe^{+2} происходит в результате действия перекиси водорода, которая образуется в процессе окисления органических веществ и накапливается в виде гидроокиси. Одноклеточные бактерии, накапливающие окисленное железо в гетеротрофных условиях, широко распространены в почвах гумидных зон.

В *восстановлении железа* также участвуют почвенные микроорганизмы. Процесс протекает при сопряженном окислении органических веществ или молекулярного водорода в анаэробных условиях и проводится множеством бактерий. Восстановленное железо образует нерастворимый минерал вивианит.

Итак, в процессах окисления и восстановления железа участвуют многие группы микроорганизмов. У одних функция окисления железа связана с получением энергии и процесс протекает только в условиях кислой среды; у других превращение железа - побочный процесс, имеющий важный физиологический смысл - удаление токсичной перекиси; у третьих - эта функция сопряжена с разложением железогумусовых комплексов и отложением железа на клетках или извлечением железа из минералов и образованием хелатных форм со-

единений. В зависимости от условий среды железо либо отлагается в виде охры, либо мигрирует в составе комплексных соединений и аккумулируется в определенных горизонтах почвы.

1.8.4. Превращения алюминия

Алюминий - один из наиболее распространенных элементов. По содержанию в земной коре он занимает третье место после кислорода и кремния, а из металлов - первое. В почве алюминий находится в составе первичных и вторичных минералов, гидроокиси и солей, в форме различных алюмоорганических соединений. В зависимости от физикохимических условий среды т формы соединений алюминий по-разному мигрирует и аккумулируется в почвах.

Соединения алюминия малоподвижны в слабощелочной и нейтральной средах и приобретают подвижность в кислых. Участие микроорганизмов прямое или косвенное в цикле превращения алюминия в почве следующее: 1. мобилизация алюминия из первичных и вторичных минералов; 2. разложение (минерализация) алюмоорганических соединений; 3. аккумуляция гидроокиси алюминия.

Минералы почвообразующей породы - это первоисточник всех содержащихся в почве форм алюминия. Освобождение алюминия из первичных и вторичных минералов может происходить в результате выноса остальных, более подвижных в соответствующих условиях химических элементов.

При выветривании алюмосиликатов полуторные окислы алюминия (глинозем) и железа в зависимости от физико-химического режима почв или выносятся из определенных почвенных горизонтов, или, наоборот, закрепляются в них. В первом случае это приводит к подзолообразованию, которое сопровождается накоплением остаточного кремнезема, а во втором - к латеритообразованию.

Один из важных механизмов мобилизации алюминия из кристаллических решеток алюмосиликатов - хелатизация. В этом процессе участвуют, с одной стороны, продукты микробного синтеза и микробного разложения растительных остатков, с другой - специфические органические вещества почвы - гумусовые кислоты. Образующиеся алюмоорганические соединения широко распространены в почвах. Напр., комплексы алюминия с фульвокислотами в значитель-

ных количествах закрепляются и накапливаются в иллювиальных горизонтах подзолистых почв.

Алюмоорганические соединения не только образуются в самой почве, но и поступают в нее с растительными остатками в виде комплексов алюминия с органическими кислотами, аминокислотами и белками. Далее в зависимости от экологических условий алюмоорганические соединения в почве претерпевают различные превращения: выносятся за пределы почвенного профиля, минерализуются, закрепляются в составе гумусовых веществ. Первые два процесса характерны для почв влажных субтропиков, третий - для почв подзолистой зоны.

Процессы минерализации алюмоорганических комплексных соединений связаны с жизнедеятельностью почвенных микроорганизмов. В разложении участвуют грибы в комплексе с организмами группы микоплазм.

1.8.5. Превращения соединений серы

Сера - необходимый питательный элемент для живых организмов. В почве она встречается в форме сульфатов, главным образом $\text{CaSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, 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 и белках 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 микроорганизмов подвергаются в почве различным превращениям. Характер трансформаций соединений серы регулируется в основном факторами внешней среды. Органические соединения серы могут быть разрушены и минерализованы. В определенных условиях восстановленные неорганические соединения серы подвергаются окислению микроорганизмами, а окисленные соединения серы (сульфаты, сульфиты и др.) могут быть восстановлены в сероводород.

Окисление неорганических соединений серы. Активными окислителями соединений серы являются следующие группы микроорганизмов: тионовые бактерии, одноклеточные и многоклеточные (нитчатые) формы, относящиеся к родам *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Thi-*

ospira, и др.; фотосинтезирующие пурпурные и зеленые серобактерии, а также некоторые цианобактерии; хемоорганогетеротрофные организмы из родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиномицеты и грибы (*Penicillium*, *Aspergillus*).

Тионовые бактерии обитают 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*. Эти бактерии способны окислять тиосульфат, сероводород, сульфиды, тетратионаты и тиоцианаты.

По современным представлениям, сера из почвенного раствора поступает в клеточную вакуоль 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. В данном процессе участвуют ферменты, способствующие поступлению серы внутрь клетки. Под их воздействием сера восстанавливается до сульфидного иона, окисление которого происходит в дальнейшем внутриклеточно. Окисляют соединения серы также фотолитоавтотрофные пурпурные и зеленые серобактерии. Они обычно обитают в среде, где имеется сероводород, а в почвах большой роли 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. Окисление серы хемоорганогетеротрофными микроорганизмами идет довольно медленно и слабо.

Бактерии, окисляющие неорганические соединения серы, применяются при разработке месторождений полезных ископаемых. Так, в Институте микробиологии РАН С. И. Кузнецовым проведены исследования, которые позволили начать применение окисляющих серу бактерий из рода *Thiobacillus* для выщелачивания бедных сульфидных руд. Наиболее разработаны методы микробиологического выщелачивания

лачивания меди из минералов, в которых медь соединена с серой. Обработке подвергают отвалы бедных руд на поверхности или руды под землей.

Восстановление неорганических соединений серы. В плохо аэрированных, затопляемых почвах, с дефицитом кислорода, а также в водах (лиманах, некоторых морях и других водоемах) в зоне анаэробно-за происходит микробиологическое восстановление сульфатов. Иногда этот процесс называется десульффикацией.

Бактерии, вызывающие восстановление сульфатов, разделяют на два рода: неспорообразующие - *Desulfovibrio* и спорообразующие - *Desulfotomaculum*. Это облигатные анаэробы, мезофилы (оптимальная температура для них 30°C). Обнаружены в морской воде и иле, пресной воде и почве.

Сульфатвосстанавливающие бактерии - весьма специализированная группа микроорганизмов, которая использует сульфат в качестве акцептора электронов (водорода) в анаэробных условиях для окисления органических соединений или водорода. 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 служат углеводы, органические кислоты, спирты, а также молекулярный водород. Водород окисляемых органических субстратов переносится на окисленные соединения серы (сульфаты, сульфиты, тиосульфаты), которые восстанавливаются до сероводорода.

Анаэробное окисление органических веществ сульфатвосстанавливающими бактериями является неполным и ведет к аккумуляции уксусной кислоты в качестве конечного продукта.

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.

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.

1.8.6. Биогеохимические превращения и круговорот соединений азота

Практически во всех почвенно-климатических условиях от содержания азота зависит величина урожая сельскохозяйственных культур. Растениям недоступен газообразный азот, в большом количестве находящийся в воздухе, они могут использовать только минеральные формы этого элемента.

Источниками почвенного азота являются атмосферный газообразный азот (N_2) и освобождающийся при разложении органического вещества. Некоторое количество органического азота превращается в минеральный, то есть в ионы аммония (NH_4^+), нитрита (NO_2^-) и нитрата (NO_3^-). Минеральный азот поглощается растениями и микроорганизмами и превращается в органический. Азот растений может составлять большую часть всего азота в системе почва - растение, особенно в лесах. Газообразный азот присутствует также в почвенном воздухе, но его не рассматривают как азот почвы, потому что между почвой и атмосферой идет активный газообмен.

Азот почвы непрерывно превращается из одной формы в другую в результате жизнедеятельности растений и микроорганизмов. Процессы трансформации азотных соединений сводятся к следующим циклам.

Минерализация - превращение органического азота в минеральный в результате микробиологической активности почвы;

Нитрификация - окисление аммонийного азота до нитрита и нитрата специфическими микроорганизмами;

Иммобилизация - превращение минерального азота в органический. Это происходит, когда микроорганизмы не могут удовлетворить свои потребности в азоте за счет органических веществ, которыми они питаются. В результате они поглощают минеральный азот и превращают его в органический;

Улетучивание - потеря аммония из почвы в виде газа. В щелочных условиях ионы аммония превращаются в молекулы аммиака в растворе, которые затем выделяются в почвенный воздух;

Денитрификация - потеря газообразного азота и закиси азота из почвы в анаэробных условиях. Микроорганизмы восстанавливают нитрат и нитрит до этих газов;

Азотфиксация - превращение молекулярного азота (N_2) в почвенной атмосфере в NH_4 особыми группами микроорганизмов. NH_4 затем ассимилируется в виде органического азота;

Нетто-минерализация. Поскольку минерализация и иммобилизация происходят одновременно, эти процессы трудно разграничить. Обычно определяют изменение количества минерального азота за данный период времени, принимая во внимание потери, обусловленные вымыванием, денитрификацией и улетучиванием, и подсчитывают чистый эффект. В результате можно получить прибавку или убыль минерального азота, в последнем случае это называется *нетто-иммобилизацией*.

Вымывание нитратов - это процесс, при котором нитраты теряются из почвы в дренажные воды. Нитраты не адсорбируются на поверхности почвенных частиц, если только они не несут положительный заряд.

Таким образом, нитраты свободно вымываются из почвы, исключение составляют кислые почвы влажных тропических регионов.

Цикл азота завершается поглощением его растениями из почвы и поступлениями непосредственно из атмосферы (в виде нитрата, аммиака и газообразных оксидов азота, которые превращаются в почве в нитрат), с удобрениями, навозом и выделениями животных.

Минерализация азота (аммонификация белков). *Среди органических соединений, составляющих клетку, первое место по количеству занимают белки - не менее 50% сухой массы клетки. Значительная часть белков попадает в почву с остатками отмерших растений, животных и микроорганизмов. При разложении белков микроорганизмами азот освобождается в виде аммиака. Этот процесс называют аммонификацией, или минерализацией азота.*

Белки могут разлагаться аэробными и анаэробными бактериями, грибами. В состав белков обычно входит около 20 аминокислот. По составу белки подразделяются на простые и сложные. Простые белки при гидролизе дают только аминокислоты, а сложные - также и другие органические и неорганические продукты. К сложным белкам относят нуклеопротеиды, липопротеиды, металлопротеиды и гликопро-

теиды. Молекулы белков и большинства пептидов расщепляются ферментами вне клеток микроорганизмов, так как они 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 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. 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. 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 , а также ряд органических кислот, меркаптаны, индол, скатол и сероводород, обладающие неприятным запахом.

При анаэробном разрушении белков могут образоваться токсические соединения.

Из азотсодержащих соединений в природе встречаются мочевины, мочевины и гиппуровая кислоты, цианамиды и хитин. Мочевина может синтезироваться растениями. Так, в шампиньонах до 13% сухой массы грибов составляет мочевины. 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. Мочевина, в частности, под действием микроорганизмов, содержащих фермент уреазу, превращается в аммиак и углекислый газ. Многие бактерии и грибы выделяют уреазу и могут использовать мочевины в качестве источника азота для синтеза белков. Обычно бактерии, разлагающие мочевины, называются уро-

бактериями. Эти бактерии могут развиваться при высокой щелочности среды (рН 9-10), что позволяет им вызывать распад значительных количеств мочевины до аммиака.

Мочевая и гиппуровая кислоты также имеют значение в обмене веществ у животных и растений. В почве эти соединения быстро распадаются под влиянием гидролитических ферментов микроорганизмов. Разложение мочевой и гиппуровой кислот может иметь энергетическое значение. Эти соединения разрушаются рядом микроорганизмов.

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 Са, Мп, Fe и т. д. вызывает превращение цианамидов в мочевину. Гидролиз мочевины происходит под влиянием уробактерий.

Разложение хитина осуществляют многие почвенные микроорганизмы, так как хитин представляет собой вещество, постоянно присутствующее в почве. Хитин -это азотсодержащий полисахарид, он содержится в наружном скелете беспозвоночных животных, в панцирных покровах насекомых, в клеточной стенке многих грибов. Способностью разлагать хитин обладают бактерии, актиномицеты, мукоровые грибы. Особенно активно разлагается хитин актиномицетами. Под действием синтезируемого микроорганизмами фермента хитиназы хитин в конечном итоге расщепляется до уксусной кислоты, глюкозы и аммиака.

Нитрификация. Аммиак, образующийся в почве, навозе и воде при разложении органических веществ, довольно быстро окисляется до азотистой, затем азотной кислоты. Этот процесс получил название нитрификация.

До работ Л. Пастера образование нитратов объяснялось как результат химической реакции окисления аммиака атмосферным кислородом. Причем предполагалось, что почва играет роль химического катализатора. Л. Пастер предположил, что образование нитратов -микробиологический процесс.

Однако выделить культуры возбудителей нитрификации удалось лишь в 1890-1892 гг. С. Н. Виноградскому, который применил особую методику изолирования чистых культур нитрификаторов. Нитрификаторы оказались хемолитоавтотрофами, очень чувствитель-

ными к наличию в среде органических соединений. Нитрификаторы-облигатные аэробы. С помощью кислорода они окисляют аммиак до азотистой кислоты (первая фаза нитрификации), а затем азотистую кислоту до азотной (вторая фаза нитрификации):

Этапность процесса нитрификации - характерный пример так называемого метабиоза, то есть такого рода трофических связей микробов, когда один микроорганизм развивается после другого на отходах его жизнедеятельности.

Явление нитрификации для земледелия имеет двойное значение. 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. Существуют методы определения запасов доступного растениям азота в почве по показаниям нитрификационной способности. Следовательно, по интенсивности нитрификации можно дать характеристику агрохимических 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, 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.

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: N, то при его разложении накапливается аммиак, так как микроорганизмам не хватает углеродсодержащих соединений для ассимиляции азота. При внесении в почву массы, богатой углеводами и бедной азотом, происходит потребление минерального азота. Например, в соломе зерновых культур соотношение C: N приближается к 100:1. После 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.

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, под зерновые культуры, не следует вносить растительные остатки, бедные азотом, потому что это ухудшает азотное питание растений. Соломыстые удобрения можно вносить в почву лишь с добавлением небольших (стартовых) доз азотных удобрений, тогда это дает хороший результат. С другой стороны, на почвах с промывным водным режимом и в условиях орошения, 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 солоmistых удобрений. Наоборот, последние увеличивают их урожай и способствуют лучшему азотонакоплению.

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.

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 вносят в форме нитратов совместно с навозом или другими органическими удобрениями.

Потери азота из почвы могут происходить и в результате различных химических реакций (косвенная денитрификация).

Молекулярный азот также образуется химическим путем при реакции между азотистой кислотой и аминокислотами или солями аммония, протекающей при рН ниже 5,5.

Проблема азотного баланса почв и азотного питания растений - одна из центральных в почвоведении и агрохимии. От ее правильного решения зависит урожайность полей и сохранение почвенного плодородия при многолетней эксплуатации земель.

В естественных экосистемах растения используют азот из разных источников: из почвенных растворов, из гумуса после его разложения микроорганизмами и от бактерий, связывающих молекулярный азот, который в форме аминокислот поступает в клетки корня. В агроценозах растения дополнительно получают азот из вносимых в почву органических и минеральных удобрений. Азот, который включается в биомассу растений в результате фиксации его бактериями, называют *биологическим*, а сами бактерии, связывающие молекулярный азот, - азотфиксаторами или diaзотрофами. Доля биологического азота в урожае по разным оценкам составляет от 60 до 90%.

Азотфиксация- процесс, лимитирующий все остальные звенья цикла азота. Он имеет планетарное значение и по масштабам сопоставим с фотосинтезом. Сопряженность азотфиксации с фотосинтезом позволяет использовать солнечную энергию, чтобы избежать огромных затрат сырья для производства азотных удобрений. Кроме того, микробное связывание молекулярного азота - единственный путь снабжения растений азотом, не ведущий к нарушению экологической среды из-за загрязнения почв, водоемов и атмосферы.

Биологический процесс восстановления азота представляет собой цепь ферментативных реакций, в которых главную роль играет фермент нитрогеназа. Активный центр этого фермента состоит из комплекса двух белков, содержащих железо, серу и молибден в соотношении Fe:S:Mo=6:8:1.

У микроорганизмов-азотфиксаторов встречаются все известные типы метаболизма. Среди них есть аэробы с дыхательным энергетическим обменом, анаэробы, осуществляющие брожение, хемоорганотрофы, автотрофы-фотосинтетики и хемолитоавтотрофы.

Азотфиксирующие микроорганизмы по их связи с растением делят на несимбиотические и симбиотические.

В первой группе различают свободноживущие бактерии, которые не связаны непосредственно с корневыми системами растений, и ассоциативные, обитающие в сфере прямого влияния растения, в прилегающей к корням почве (ризосфере) или на поверхности корней и

листьев (в фитоплане). К симбиотическим микроорганизмам относятся те, которые живут в тканях растения, стимулируя образование особых разрастаний на корнях или листьях в форме клубеньков или узелков.

Фиксация азота свободноживущими микроорганизмами. К настоящему времени установлено, что многие свободноживущие бактерии - представители около 30 видов - могут фиксировать молекулярный азот. Большое значение в фиксации азота имеет семейство *Azotobacteriaceae*.

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 азота (в том числе и при внесении удобрений) полностью подавляет усвоение молекулярного азота.

Азотобактер способен использовать огромный набор органических соединений - моно -и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), многие спирты, органические кислоты, в том числе ароматические. Азотобактер проявляет потребность в органических веществах. Поэтому он в больших количествах встречается в почвах, хорошо заправленных органическими удобрениями. 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. В зоне подзолистых и

дерново-подзолистых почв азотобактер можно найти в огородных и пойменных почвах, богатых органическими соединениями, с благоприятным значением рН.

К активным азотфиксаторам относятся аэробные цианобактерии (сине-зеленые водоросли). 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 обитают в симбиозе с другими растительными организмами, например, - с грибами, образуя при этом лишайники. 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 дают эффект "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 существенен.

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, синтезированным растением, а растение получает из клубеньков связанные соединения азота. 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.

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 и ростовые вещества эти бактерии синтезируют сами.

Существенное свойство клубеньковых бактерий - их активность, 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.

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.

Взаимоотношения между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями, обеспечивающие хорошую и энергичную фиксацию азота, создаются при действии комплекса факторов (оптимальные влажность, аэрация, температура, рН, 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 свойственные им клубеньковые бактерии в данных почвах отсутствуют.

На количество клубеньковых бактерий в почве влияет 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.

Значительная часть полевых опытов по изучению роли бобовых культур в накоплении общего и биологического азота проведена без применения дополнительной инокуляции этих культур нитрагином. Использование нитрагина - препарата, содержащего специально отселекционированные высокоактивные штаммы клубеньковых бактерий, широко распространено в высокоразвитых странах. Этот препарат производят на стерильном торфе, в 1 г которого содержится в среднем 3-4 млрд. бактерий. Такой торфяной препарат называется ризоторфином. Высокий положительный эффект обычно оказывает применение нитрагина на почвах, где ранее бобовые культуры не возделывались. Наряду с влиянием на урожай нитрагинизация значительно повышает содержание белка в растениях, а проблема белка в настоящее время является первоочередной.

Круговорот биогеохимический - это перемещения и превращения химических элементов через косную и органическую природу при активном участии живого вещества. Химические элементы циркулируют в биосфере по различным путям биологического круговорота: поглощаются живым веществом и заряжаются энергией, затем покидают живое вещество, отдавая накопленную энергию во внешнюю среду. Такие в большей или меньшей степени замкнутые пути были названы В.И. Вернадским "биогеохимическими циклами". Эти циклы можно подразделить на два основных типа: 1) круговорот газообразных веществ с резервным фондом в атмосфере или гидросфере (океан) и 2) осадочный цикл с резервным фондом в земной коре. Во всех биогеохимических циклах активную роль играет живое вещество. По этому поводу В.И. Вернадский (1965, с. 127) писал: «Живое вещество охватывает и перестраивает все химические процессы биосферы, действенная его энергия огромна. Живое вещество есть самая мощная геологическая сила, растущая с ходом времени». К главным циклам можно отнести круговороты углерода, кислорода, азота, фосфора, серы и биогенных катионов.

Нормальные биогеохимические циклы не являются замкнутыми, хотя степень обратимости годовых циклов важнейших биогенных элементов достигает 95-98 %. Неполная обратимость (незамкнутость) - одно из важнейших свойств биогеохимических циклов, имеющая планетарное значение. Именно это обусловило биогенное накопление кислорода и азота в атмосфере, различных химических элементов и

соединений в земной коре. Например, за счет неполной обратимости цикла углерода в течение последних 600 млн. лет накопились огромные запасы углеродистых отложений (известняков, битумов, углей, нефти и т.д.), оцениваемые в 10¹⁶-10¹⁷ т.

В глобальном биогеохимическом цикле азота ведущая роль принадлежит массообмену между педосферой и атмосферой, поскольку протекающие в почвенном покрове процессы обеспечивают образование основных количеств доступных для растений форм азота. Связывание молекулярного азота осуществляется микроорганизмами, свободно обитающими или симбиотичными с некоторыми видами растений (в их числе - все представители семейства бобовых, ольха и др.). Эти бактерии, а также сине-зеленые водоросли, симбиотически связанные с грибами лишайников или с некоторыми видами папоротников, содержат в клетках фермент нитрогеназу, в состав которого входят атомы молибдена и железа.

Из-за высочайшей активности биогеохимических процессов и колоссальных объемов, и масштабов оборота веществ биологически значимые химические элементы находятся в постоянном циклическом движении. По некоторым подсчетам, если принять, что биосфера существует не менее чем 3,5-4 млрд. лет, то вся вода Мирового океана прошла через биогеохимический цикл не менее 300 раз, а свободный кислород атмосферы - не менее 1 млн. раз. Круговорот углерода происходит за 8 лет, азота за 110 лет, кислорода за 2500 лет. Основная масса углерода, сосредоточенная в карбонатных отложениях дна океана (1,3 x 10¹⁶ т), других кристаллических горных породах (1 x 10¹⁶ т), каменном угле и нефти (0,34 x 10¹⁶ т), участвует в большом круговороте. Углерод, содержащийся в растительных (5 x 10¹⁰ т) и животных тканях (5 x 10⁹ т), участвует в малом круговороте (биогеохимическом цикле).

Совокупности популяций различных видов в экосистемах создают устойчивые биогеохимические циклы, благодаря которым поддерживается постоянство современных сред жизни - почвенной, наземной и водной. Экосистемы способны к саморегуляции, восстановлению равновесия численности популяций многих видов, взаимодействующих между собой в биоценозах. Особое значение для гомеостаза экосистем имеют трофические отношения между видами. В природе закономерно сочетаются численности видов, представляю-

ших основные экологические группы организмов: продуцентов (растений), консументов (животных) и редуцентов (бактерий и грибов). Чем более разнообразными видами представлена каждая группа, тем устойчивее экосистема в целом, благодаря взаимозаменяемости видов. В биогеоценозах многообразие биологических видов поддерживает устойчивые круговороты биогенов, химических элементов, входящих в состав живых организмов (кислорода, углерода, водорода, азота, фосфора, кальция, серы и др.), благодаря которым осуществляется усвоение и трансформация солнечной энергии в биосфере, получение ресурсов и переработка отходов.

Часть биологического круговорота, состоящая из круговоротов углерода, воды, азота, фосфора, серы и других биогенных веществ, называют биогеохимическим круговоротом.

Движение азота представляет собой достаточно сложный и отличный от круговорота других биогенов процесс, так как включает в себя газообразную и минеральную фазу. Атмосфера содержит 78% азота (N_2). При всей огромной значимости азота для жизнедеятельности живых организмов они не могут непосредственно потреблять этот газ из атмосферы. Растения усваивают ионы аммония (NH_4^+) или нитрата (NO_3^-).

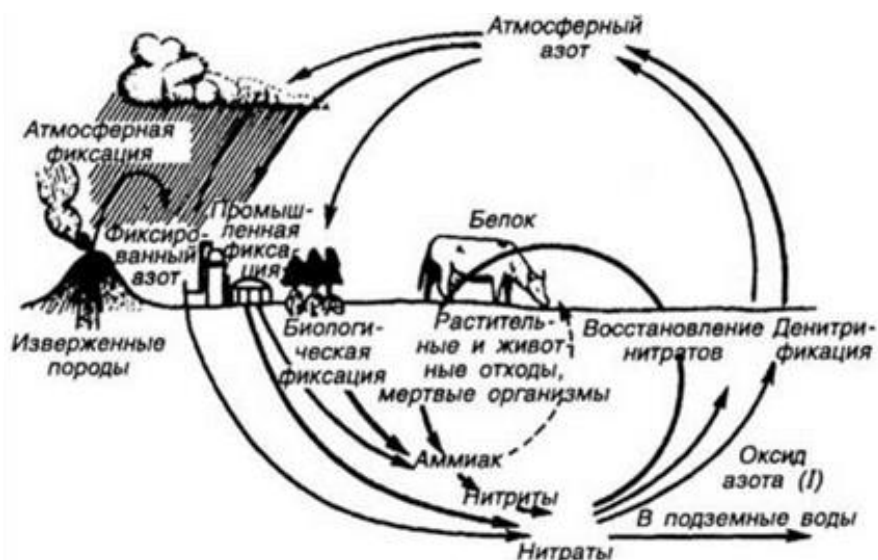


Рис. 33. Круговорот азота в биосфере

Для того чтобы азот преобразовался в эти формы, необходимо участие некоторых бактерий или сине-зеленых водорослей (цианобактерий). Процесс превращения газообразного азота (N_2) в аммо-

нийную форму носит название азотфиксации. Важнейшую роль среди азотфиксирующих микроорганизмов играют бактерии из рода *Rhizobium*, которые образуют симбиотические связи с бобовыми растениями. Среди последних наибольшее значение имеют клевер и люцерна. Азотфиксирующие бактерии, создавая форму азота, которая усваивается растениями, за счет симбиотического взаимодействия позволяют накапливаться азоту в наземных и подземных частях растений; к примеру, за год на одном гектаре клевера или люцерны накапливается от 150 до 400 кг азота. Сами азотфиксирующие микроорганизмы, среди которых есть виды, синтезирующие сложные протеины, отмирая, обогащают почву органическим азотом. При этом за год в почву поступает около 25 кг азота на 1 га (И.А. Шилов, 2000).

В природе есть также микроорганизмы, которые обладают симбиотическими связями не только с бобовыми, но и с другими растениями. В водной среде и на переувлажненных почвах азотфиксацию осуществляют сине-зеленые водоросли (способные одновременно и к фотосинтезу). В любом из описанных случаев азот потребляется либо в виде нитратов, либо в аммонийной форме.

Азот после потребления его растениями участвует в синтезе протеинов, которые, сосредоточиваясь в листьях растений, затем обеспечивают азотное питание фитофагов.

Мертвые организмы и отходы жизнедеятельности (экскременты) являются средой обитания и служат пищей для сапрофагов, которые, как мы уже отмечали выше, постепенно разлагают органические азотсодержащие соединения до неорганических. По И.А. Шиллову (2000, с. 50-51), конечным звеном в этой цепи оказываются аммонифицирующие организмы, образующие аммиак (NH_3), который, кстати, может быть вовлечен в цикл нитрификации. *Nitrosomonas* окисляют аммиак в нитриты, *aNitrobacter* окисляют нитриты в нитраты и таким образом круговорот азота может быть продолжен. Параллельно с описанными процессами происходит постоянное возвращение азота в атмосферу за счет деятельности бактерий - денитрификатов, способных разлагать нитраты и в азот (N_2). Эти бактерии, как правило, имеют широкое распространение в плодородных почвах там, где много азота и углерода. Эти бактерии за год с 1 га поверхности почвы выделяют в атмосферу до 50-60 кг азота.

Кроме указанных процессов азотфиксации в природной среде возможно образование оксидов азота при электрических грозовых разрядах. Эти оксиды затем в виде селитры или азотной кислоты при смешивании с атмосферными осадками попадают в почву (при разрядах молний фиксируется от 4 до 10 кг азота на 1 га). Имеет место и фотохимическая фиксация азота.

Возможно выключение азота из круговоротных процессов путем аккумуляции его соединений в глубоководных океанических осадках, что компенсируется, правда, частичным выделением азота (N_2) при вулканических извержениях.

Азот имеет газообразный резервный фонд, который находится в атмосфере. Между резервным и обменным фондами постоянно осуществляется обмен элементов и обеспечивается непрерывная связь

Из резервного фонда азот включается в обменный фонд тремя путями:

Атмосферная фиксация. Под действием атмосферных электрических разрядов часть азота взаимодействует с кислородом с образованием оксида и диоксида азота, которые растворяются в водяных парах и в виде азотистой и азотной кислот попадают в почву. В почве образуются нитраты, которые поглощаются растениями и включаются в биологический круговорот.

Биологическая фиксация. В основном азот из резервного фонда вовлекается в обменный фонд азотфиксирующими бактериями, которые переводят его в доступные для растений формы.

Промышленная фиксация. С наступлением промышленной революции человек научился с помощью техники превращать газообразный азот в минеральные азотные удобрения, которые после внесения в почву усваиваются растениями в аммиачной и нитратной форме.

Пополнение резервного фонда из обменного фонда происходит путем денитрификации, которую осуществляют денитрифицирующие бактерии. Часть азота из обменного фонда смывается с поверхностным стоком в море, где он включается в морские организмы или мелководные отложения. Часть его через живые организмы возвращается в биологический круговорот, а часть переходит в глубоководные отложения - это полные и окончательные потери элемента.

После наступления техногенной эры сельское хозяйство стало широко использовать технику для обработки почвы, а это привело к усилению поверхностного стока и увеличению выноса азота. За счет улучшения аэрации усилился процесс денитрификации. В то же время, за последние 100 лет биологическая фиксация снизилась в 20-30 раз. Все это привело к обеднению обменного фонда и для его пополнения человек вынужден вносить минеральные удобрения или на больших площадях выращивать азотфиксирующие бобовые растения. Однако примерно 1/10 часть искусственно внесенного азота используется растениями, а остальная часть с поверхностным стоком и грунтовыми водами переходит в морские отложения. При этом имеет место эвтрофикация пресноводных экосистем, что ведет к их деградации.

Таким образом, в результате антропогенного влияния происходит перекачивание азота из резервного фонда в обменный, а из него - в глубоководные отложения. То есть происходит постепенное выведение азота из круговорота.

В природе органическое вещество создают не только зеленые растения, но и бактерии, не содержащие хлорофилл. Этот автотрофный процесс называется хемосинтезом. *Хемосинтез* открыл в 1889-1890 гг. знаменитый русский микробиолог С.Н. Виноградский. Хемосинтез осуществляется благодаря энергии, выделяющейся при химических реакциях окисления различных неорганических соединений: водорода, сероводорода, аммиака, оксида железа (II) и других. Энергия, образовавшаяся в реакциях окисления, запасается в бактериальных клетках в форме АТФ.

В водоемах, вода которых содержит сероводород, живут бесцветные серобактерии. Колоссальное количество серобактерий имеется в Черном море, в котором глубже 200 м вода насыщена сероводородом. Энергию, необходимую для синтеза органических соединений эти бактерии получают, окисляя сероводород.

Выделяющаяся в результате свободная сера накапливается в бактериальных клетках в виде множества крупинок. При недостатке сероводорода бесцветные серобактерии производят дальнейшее окисление находящейся в них свободной серы до серной кислоты.

Чрезвычайно широко распространены в почве и в различных водоемах нитрифицирующие бактерии. Они добывают энергию путем

окисления аммиака и азотистой кислоты, поэтому играют очень важную роль в круговороте азота в природе. Аммиак, образующийся при гниении белков в почве или в водоемах. Окисляется нитрифицирующими бактериями (*Nitrosomonas*).

Дальнейшее окисление образовавшейся азотистой кислоты осуществляется другой группой нитрифицирующих микроорганизмов - *Nitrobacter* - нитробактером.

Энергетический эффект реакций окисления аммиака до азотной кислоты равен 763 кДж.

Процесс нитрификации происходит в почве в огромных масштабах и служит для растений источником нитратов. Жизнедеятельность бактерий представляет собой один из важнейших факторов плодородия почв.

В почве обитают бактерии, окисляющие водород.

Энергетический эффект реакций окисления водорода равен 235 кДж.

Водородные бактерии окисляют водород, постоянно образующийся при анаэробном (бескислородном) разложении различных органических остатков микроорганизмами почвы.

Хемосинтезирующие бактерии, окисляющие соединения железа и марганца, обитают как в пресных, так и в морских водоемах. Благодаря их жизнедеятельности на дне болот и морей образуется огромное количество отложенных руд железа и марганца. Академик В.И. Вернадский - основатель биогеохимии говорил о залежах железных и марганцевых руд как о результате жизнедеятельности этих бактерий в древние геологические периоды. Энергетический эффект реакций окисления железа (II) в железо (III) равен 324 кДж.

1.8.7. Биогеохимические превращения и круговорот соединений фосфора

Возникновение на Земле живой материи обусловило возможность непрерывной циркуляции в биосфере химических элементов, перехода их из внешней среды в организмы и обратно. Эта циркуляция химических элементов и получила название биогеохимических круговоротов. Биогеохимический круговорот представляет собой часть биотического круговорота, включающую обменные циклы хи-

мических элементов абиотического происхождения, без которых не может существовать живое вещество (углерод, кислород, водород, азот, фосфор, сера и многие другие). Обычно выделяют три основных типа биогеохимических круговоротов: круговорот воды, круговороты газообразных веществ с резервным фондом в атмосфере или гидросфере (океан), осадочные циклы химических элементов с резервным фондом в земной коре.

Особенно активно изучают роль фосфора, который необходим живым организмам в достаточно больших объемах - около 10% от количества азота.

Фосфор содержится в земной коре и живых организмах в небольших количествах; тем не менее, он имеет очень большое значение для растений и животных. Без этого элемента невозможен синтез белков. Кроме того, фосфор входит в состав костей и зубов. Именно недостаточное количество фосфора чаще всего ограничивает рост массы живого вещества. Значительная часть фосфора содержится в почвах. Фосфор образует многочисленные минералы (например, фосфориты), однако они не часто встречаются в горных породах в больших количествах. В атмосфере фосфор практически отсутствует.

В природных водах фосфор присутствует в составе органических соединений и взвешенных твердых частиц. Лишь небольшая его часть находится в растворе в виде ортофосфат-иона PO_4 и гидроортофосфат-иона HPO_4 .

В океане «органический» фосфор многократно переходит от одного живого организма к другому и медленно накапливается в донных отложениях в виде малорастворимых фосфатов. Эти потери фосфора компенсируются только из одного источника - выветривающихся горных пород суши, куда они попадают со дна океанов в результате длительных геологических процессов.

Деятельность человека нарушила природный круговорот фосфора. Соединения фосфора используются для производства удобрений и моющих средств. Это приводит к загрязнению водоемов соединениями фосфора. В таких условиях фосфор перестает быть элементом, ограничивающим рост массы живых существ, особенно водорослей и других водных растений.

Фосфор является одним из главных компонентов нуклеиновых кислот, клеточных мембран, систем переноса энергии, костных тка-

ней. Фосфор имеет важное значение для производительности водных экосистем. Его недостаток в водной среде резко снижает производительность водных растений. Правда, в местах, куда поступает избыточное количество фосфорных соединений, в частности, детергентов, с полей, а также в составе сточных вод, производительность водоемов достигает нежелательных результатов, выраженных в интенсивной эвтрофикации вод озер, рек, водохранилищ, прудов и тому подобное.

Изучение круговорота фосфора облегчается тем, что его концентрацию и перемещения легко определить и проследить, используя один из изотопов как радиоактивную метку. Круговорот фосфора состоит из меньшего количества этапов, чем круговорот углерода или азота. Растения ассимилируют фосфор в виде фосфат-иона (PO_4) непосредственно из почвы или воды. У животных (в случае избытка органического фосфора в кормах) фосфор выводится из организма вместе с мочой. Некоторые группы бактерий превращают органический фосфор в фосфат. Фосфор поступает в атмосферу в единой форме - в виде пыли. Учитывая это, в круговороте фосфора главная роль принадлежит только грунту и воде. Несмотря на относительную простоту круговорота фосфора, на доступность этого элемента для растений влияет много факторов природной среды. В частности, при избытке растворенного кислорода фосфор легко образует нерастворимые соединения, выпадающие в осадок и, таким образом, фосфор удаляется из форм, доступных для растений. В случае значительной продолжительности таких условиях образуются фосфатные породы. В активные формы фосфор возвращается очень медленно вследствие эрозии или искусственного использования (разработки) фосфатов для изготовления минеральных удобрений.

Кислотность среды также влияет на доступность фосфора растениям. Фосфаты натрия и кальция сравнительно слабо растворимы в воде. В щелочной среде фосфат-ионы легко соединяются с натрием и кальцием, образуя нерастворимые соединения. В кислой среде фосфат превращается в хорошо растворимый кислоту. Итак, каждый из органогенных элементов имеет свои особенности круговорота, а вместе они образуют малый или биотический круговорот элементов и веществ, одновременно пополняя и большой геологический круговорот.

Как считает Р. Риклефс (1979), «круговорот биогенных элементов в определенные периоды развития экосистемы выходят из равновесия и, или накапливаются в системе, или же, наоборот, оставляют ее. Так, в периоды угле- или торфонакопления мертвый органический материал аккумулируется в отложениях озер, прибрежных болотах и мелководных морях, где анаэробные условия препятствуют его расписания микроорганизмами».

Интенсивное распашка почв или уничтожение естественной растительности приводит к эрозии земель. Это вызывает разрушение богатых биогенные элементы верхних почвенных горизонтов, которые формировались на протяжении тысячелетий. В подавляющем большинстве случаев ландшафтные системы находятся в стационарном состоянии, когда отток биогенных элементов из систем уравнивается их притоком из других систем, из атмосферы и литосферы.

Итак, как отмечает П. Второв (1971), «Энергия Солнца движет своеобразным кругом плеяды химических элементов, которые то объединяются в грозди органических молекул, то рассыпаются снова в неорганические вещества, выделяя энергию для жизни многочисленных существ нашей планеты».

Кларк этого элемента в земной коре равен 0,093 %, что в несколько десятков раз больше кларка азота. Однако в отличие от последнего фосфор не играет роли одного из главных элементов оболочек Земли. Тем не менее, геохимический цикл фосфора включает разнообразные пути миграции в земной коре, интенсивный биологический круговорот и миграцию в гидросфере.

Фосфор - один из главных органогенных элементов. Его органические соединения играют важную роль в процессах жизнедеятельности всех растений и животных, входят в состав нуклеиновых кислот, сложных белков, фосфолипидов мембран, являются основой биоэнергетических процессов. Фосфор концентрируется живым веществом, где его содержание почти в 10 раз выше, чем в земной коре. На суше протекает интенсивный круговорот фосфора в системе почва - растения - животные - почва.

Круговорот фосфора в природе сильно отличается от биогеохимических циклов углерода, кислорода, азота и серы, так как газовая форма соединений фосфора (например, PH_3) практически не участву-

ет в биогеохимическом цикле фосфора. Значение фосфора в жизни клетки и организмов очень велико: соединения фосфора входят в состав тканей мозга, скелета, панцирей. Поэтому главная роль в биогеохимическом цикле фосфора принадлежит живому веществу и таким процессам, как питание, размножение, передвижение. Для растений наиболее доступным является фосфор неспецифических органических соединений и гумуса, и именно он играет главную роль в малом (локальном) биологическом цикле фосфора.

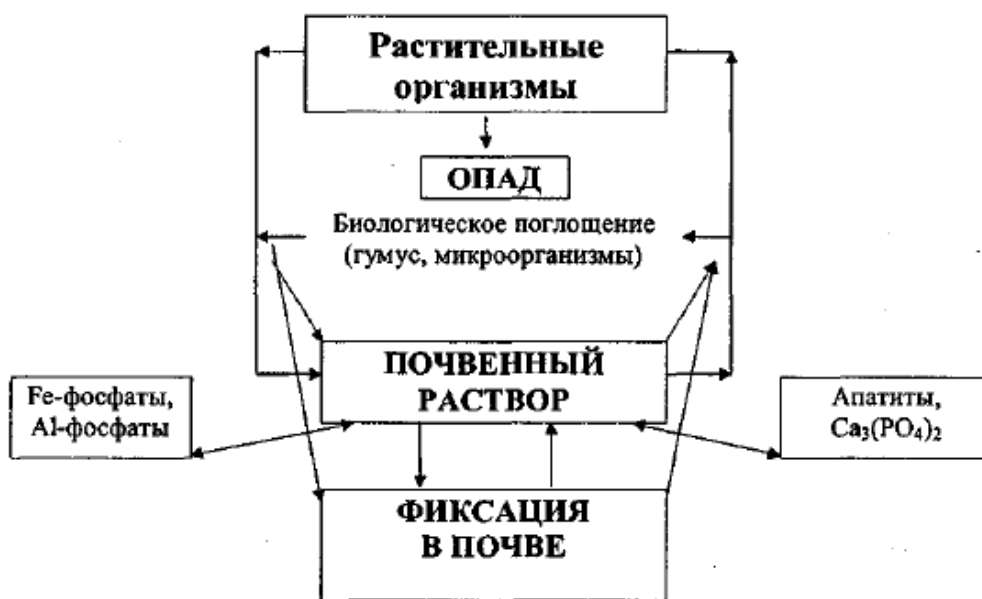


Рис. 34. Круговорот фосфора в природе

1.8.8. Биогеохимические превращения и круговорот соединений калия

Калий вместе с другими щелочными и щелочно-земельными химическими элементами аккумулировался в земной коре в процессе ее выплавления. Калий входит в состав наиболее распространенных силикатов. При их разрушении этот элемент, в основном, переходит в глинистые минералы. В то же время он частично высвобождается и вовлекается в водную миграцию. Ионы калия активно абсорбируются дисперсным минеральным веществом, а также поглощаются высшими растениями, поэтому калий более прочно удерживается в пределах суши, чем кальций и натрий. В океан некоторое количество калия выносится в виде ионов, однако большая масса элемента переносится в

форме взвесей глинистых частиц. Калий активно мигрирует в системе поверхность океана - атмосфера - поверхность океана в составе аэрозолей.

Этот элемент играет важную роль в жизни растений и животных. Он принимает участие в фотосинтезе, влияет на обмен веществ, частично сохраняется в мертвом органическом веществе.

Широкое использование минеральных удобрений пока не оказывает заметного влияния на круговорот калия, однако миграция его сильно возросла в результате эрозии почв.

Круговорот калия. Калий, как известно, принимает участие в процессах фотосинтеза, оказывает влияние на углеводный, азотный и фосфорный обмен, существенным образом сказывается на осмотических свойствах клеток. Он концентрируется в плодах и семенах, в интенсивно растущих тканях и органах растений.

Пока что малоизученным остается круговорот калия в водной среде. Каждый год с водным стоком в Мировой океан поступает около 90 млн. т этого элемента. Какая-то часть поглощается водными организмами, но значительное количество нигде не фиксируется, и последующее его перемещение неизвестно.

Важной составной частью круговоротов является ионный и твердый сток. Круговорот химических элементов проходит, как правило, сразу в нескольких сопредельных оболочках Земли (атмосфере и гидросфере, гидросфере и педосфере) либо во всех трех геосферах одновременно. Надежность и постоянство осуществления круговоротов обеспечиваются регулярным обменом веществ и энергией между геосферами. Такого рода направленная связь наглядно проявляется на примере ионного стока, представляющего собой процесс выноса реками с суши химических элементов в ионном растворенном состоянии в Мировой океан. Поступившие в ионной форме химические элементы, как и на суше, в водной среде подвергаются воздействию живых организмов, продолжая круговорот. Миграция химических элементов в растворенном состоянии представляет собой гигантский планетарный процесс.

Твердое вещество поверхности Земли не остается неподвижным. Оно также участвует в миграции, перемещаясь поверхностными водами суши. Поверхностные воды наряду с элементами, мигрирующими в растворенном состоянии или с коллоидными частицами, перено-

сят огромные массы обломков горных пород и минералов, называемые твердым стоком (по аналогии со стоком воды). Значительная часть твердого стока перемещается в пределах суши, но и объемы, попадающие в моря, достаточно велики. В Мировой океан с континентов поступает каждый год 22,13 млрд. т обломочного и глинистого материала, что примерно в 7 раз превышает количество выносимых растворенных веществ.

Кларк калия в земной коре составляет 2,89%. Суммарно в гранитной оболочке Земли, осадочной толще, океане и т.д. содержится $236,7 \times 10^{15}$ тонн. Большая часть калия в ходе гипергенной перестройки кристаллохимических структур силикатов остается в составе вторичных глинистых минералов, поэтому калий прочнее удерживается в пределах Мировой суши, чем кальций и натрий. И все же частичное высвобождение ионов калия происходит, и они активно вовлекаются в биологические круговороты. Обусловлено это тем, что калий играет важную роль в жизни живых организмов. Он принимает участие в фотосинтезе, влияет на углеводный и белковый обмены, усиливает образование Сахаров в листьях и передвижение их в другие органы. Кроме того, калий улучшает поступление воды в клетки растений и понижает процесс испарения, тем самым увеличивая устойчивость растений к засухе. Недостаток калия в почве приводит к значительному снижению урожайности растений. Именно поэтому кларк калия в живом веществе такой же высокий, как у азота: он составляет 0,3%. В сухом веществе некоторых видов растительных организмов содержание калия значительно выше. Так, много, калия накапливают морские водоросли (до 5,2%; Боуэн, 1966). В биологический круговорот на суше вовлекается ежегодно около $1,8 \times 10^9$ тонн (Добровольский, 1998). Освобождающаяся из системы биологического круговорота на суше масса калия частично задерживается в мертвом органическом веществе и сорбируется минеральной частью почвы, частично вовлекается в водную миграцию. Концентрация калия в мертвом органическом веществе колеблется в пределах 0,1-0,2%, т.е. часть калия, связанная в мертвом органическом веществе педосферы, составляет $(3-6) \times 10^9$ тонн. Ежегодно с континентальным водным стоком в океан поступает более 61×10^6 тонн калия в виде свободных ионов и 283×10^6 тонн - в составе взвесей.

Калий активно мигрирует в системе поверхность океана - атмосфера в составе аэрозоля: средняя концентрация элемента в океанических атмосферных осадках над океаном 0,15%. Концентрация калия в континентальных атмосферных осадках заметно выше, в среднем 0,7%. Значительное количество элемента переносится пылью с суши в океан: если принять концентрацию калия в пыли равной его концентрации в глинистых отложениях, то, по оценке В. В. Добровольского (1998), эта величина составит 43×10^6 тонн в год.

1.8.9. Биогеохимические превращения и круговорот соединений кальция и серы

Кларк кальция в литосфере составляет 2,96 %. Кальциевые силикаты неустойчивы в зоне гипергенеза и при выветривании горных пород разрушаются в первую очередь. Поэтому кальций активно вовлечен в процессы геологического круговорота веществ. Кальций обладает относительно высокой миграционной способностью, во многом определяемой особенностями климата. В гумидных условиях при активном развитии в почвах процесса выщелачивания он выносится в реки, озера, моря. Здесь кальций активно потребляется морскими организмами и накапливается после их отмирания в виде карбонатных отложений. В аридном и супераридном климате кальций выпадает из растворов в виде карбонатов, формируя мощные толщи карбонатных пород и иллювиально-карбонатные горизонты в почвах. Кальций играет важную роль в процессах почвообразования, он входит в состав почвенно-поглощающего комплекса, участвует в обменных реакциях почвенного раствора, обуславливая высокую буферную способность почв в кислом интервале среды. Гуматы кальция играют также важную роль в формировании структуры почвы, во многом обеспечивая ее водопрочность (Хан, 1969). Кроме того, кальций активно участвует в процессах осаждения полуторных окислов, марганца, нередко образуя конкреционные образования совместно с этими элементами и кремнеземом. В почвах кислого ряда, характеризующихся значительным проявлением процесса выщелачивания, наблюдается явление биогенного накопления кальция в подстилке и аккумулятивных поверхностных горизонтах. Обусловлено это той важной ролью, которую выполняет кальций в растительных организмах. Он входит в

группу элементов-биофилов (Ферсман, 1934), т.е. таких элементов, которые обязательно входят в состав живого вещества и без которых существование организмов невозможно. Поэтому кальций активно участвует в биологическом круговороте: на территории Европейской части СНГ растительным покровом вовлекается в биологический круговорот 12,8 млн. т кальция в год (Ивлев, 1986). Размеры вовлечения кальция в биологический круговорот очень сильно различаются в разных природных зонах. Так, лесостепной растительностью (широколиственной и травянистой) ежегодно потребляется, по данным Т. И. Евдокимовой с соавторами (1976), 100 кг/га кальция, а тундровой растительностью - только 8,6 кг/га. В наибольшем количестве он требуется разнотравно- типчаковой растительности степей. Подсчитано, что в доисторический период его потребление с приростом составляло 137 кг/га в год. Весь этот кальций возвращался в почву с растительным спадом, т.е. малый биологический круговорот кальция носил почти замкнутый характер. В настоящее время ситуация коренным образом изменилась, растительность полей выносит ежегодно только 30-50 кг/ га кальция, но большая его часть отчуждается с урожаем.



Рис. 35. Круговорот кальция в природе

Но нарушение биогеохимического круговорота кальция в настоящее время происходит не только и не столько за счет отчуждения части его с сельскохозяйственной продукцией, но и за счет использо-

вания карбонатных пород в строительстве, сельском хозяйстве (известкование почв), металлургической промышленности.

Сера является одним из элементов, играющих важную роль в круговороте веществ биосферы. Она определяет важные биохимические процессы живой клетки, является компонентом питания растений и микрофлоры. Соединения серы участвуют в формировании химического состава почв, в значительных количествах находятся в подземных водах, а это, в свою очередь, играет решающую роль в процессах засоления почв.

Сера также имеет основной резервный фонд в отложениях и почве, но в отличие от фосфора имеет резервный фонд и в атмосфере. В обменном фонде главная роль принадлежит микроорганизмам. Одни из них восстановители, другие - окислители. В горных породах сера встречается в виде сульфидов (FeS и др.), в растворах - в форме иона (SO_4^{2-}), в газообразной фазе в виде сероводорода (H_2S) или сернистого газа (SO_2). В некоторых организмах сера накапливается в чистом виде (S_2) и при их отмирании на дне морей образуются залежи самородной серы. В морской среде сульфат-ион занимает второе место по содержанию после хлора и является основной доступной формой серы, которая восстанавливается автотрофами и включается в состав аминокислот. Круговорот серы, хотя ее требуется организмам в небольших количествах, является ключевым в общем процессе продукции и разложения. Например, при образовании сульфидов железа (FeS), фосфор переходит в растворимую форму, доступную для организмов. В наземных экосистемах сера возвращается в почву при отмирании растений, захватывается микроорганизмами, которые восстанавливают ее до H_2S . Другие организмы и воздействие самого кислорода приводят к окислению этих продуктов. Образовавшиеся сульфаты растворяются и поглощаются растениями из поровых растворов почвы - так продолжается круговорот. Однако круговорот серы, так же как и азота, может быть нарушен вмешательством человека. Виной тому прежде всего сжигание ископаемого топлива, а особенно угля. Сернистый газ (SO_2) нарушает процессы фотосинтеза и приводит к гибели растительности. Биогеохимические циклы легко нарушаются человеком. Так, добывая минеральные удобрения, он загрязняет воду и воздушную среду. В воду попадает фосфор, вызывая эвтрофикацию, азотистые высокотоксичные соединения и др. Иными словами, круго-

ворот становится не циклическим, а ациклическим. Охрана природных ресурсов должна быть, в частности, направлена на то, чтобы ациклические биогеохимические процессы превратить в циклические.

Содержание серы в земной коре составляет $4,7 \times 10^{-2} \%$, в почве - $8,5 \times 10^{-2} \%$, в океане - $8,8 \times 10^{-2} \%$ (Виноградов, 1962; Ковда, 1985). Однако в засоленных почвах содержание серы может достигать значений, измеряемых целыми процентами. Сера имеет ряд изотопов, среди которых в природных соединениях наиболее распространены S (95,06%) и S^{34} (4,18%). В результате биогеохимических и биологических процессов происходит изменение в соотношении этих изотопов в сторону увеличения легкого изотопа в верхних гумусовых горизонтах почв. Это свидетельствует в пользу того, что интенсивный биологический круговорот серы в почвах охватывает только ее верхние слои. Однако почвенногрунтовые воды и подземные воды также принимают участие в биогеохимическом цикле серы. На это указывает сходство изотопного состава серы подземных, почвенногрунтовых вод и воднорастворимых сульфатов из горизонта С сульфатно-содовых солончаков и свидетельствует об участии серы подземных вод в формировании сульфатно-содового засоления. Таким образом, в засоленных почвах биогеохимический круговорот серы не ограничивается верхними гумусовыми горизонтами, а охватывает значительную толщу: 5-10 и более метров (Буйлов, Буйлова, 1976). Промышленные процессы и перевозки серных отходов уносят в атмосферу большое количество серы. В отдельных случаях значительная концентрация серы в воздухе служит причиной нарушений в окружающей среде. Двуокись серы (точнее, ее присутствие в воздухе) поражает как высшие растения, так и лишайники, причем эпифитные лишайники могут служить индикаторами на повышенное содержание серы в воздухе, так как их чувствительность к появлению SO_2 в воздухе значительно выше. Связано это с тем, что лишайники впитывают (поглощают) влагу из атмосферы всем слоевищем. Именно поэтому концентрация серы в них быстро достигает предельно допустимый уровень и организмы погибают. Однако, несмотря на признание важности роли серных соединений в функционировании биосферы, информации о биогеохимическом циркулировании серы и ее балансе недостаточно. Более подробно этот вопрос рассмотрели Дж. П. Френд

(1976) и Ф. Я. Шипунов (198). Биогеохимический цикл серы состоит из четырех стадий.



Рис. 36. Биогеохимический цикл серы

Усвоение минеральных соединений серы живыми организмами (растениями и бактериями) и включение серы в состав белков и аминокислот.

Превращение органической серы живыми организмами (животными и бактериями) в конечный продукт - H_2S .

Окисление минеральной серы живыми организмами (серобактериями, тионовыми бактериями) в процессе сульфатредукции. На этой стадии происходит окисление сероводорода, элементарной серы, ее тио- и тетрасоединений.

Восстановление минеральной серы живыми организмами (бактериями) в процессе десульфификации до H_2S .

Таким образом, важнейшим звеном всего биогеохимического цикла серы в биосфере является биогенное образование сероводорода. Биогеохимический цикл серы играет основную роль в общем круговороте этого элемента в биосфере. Приходные статьи баланса серы в общем круговороте следующие (Дж. П. Френд, 1976; цит. по Шипунову, 1980).

Дегазация земной коры - 12×10^{12} г/год.

Выветривание осадочных пород (пирит, гипс и др.) - 42×10 г/год.

Антропогенные поступления серы в виде SO - 65×10^{12} г/год.

Итого: 119×10 г/год. Уход серы за пределы биосферы в осадочные отложения в виде сульфидов и сульфатов - 100×10^{12} г/год.

Из этих данных видно, что антропогенное поступление серы в биосферу существенно изменяет круговорот этого элемента, а приход серы в биосферу превышает на современном этапе ее расход, как результат, в биосфере в целом наблюдается приход нециклической серы.

Сера также имеет основной резервный фонд в отложениях и почве, но в отличие от фосфора имеет резервный фонд и в атмосфере. В обменном фонде главная роль принадлежит микроорганизмам. Одни из них восстановители, другие - окислители. В горных породах сера встречается в виде сульфидов (FeS и др.), в растворах - в форме иона (SO_4^{2-}), в газообразной фазе в виде сероводорода (H_2S) или сернистого газа (SO_2). В некоторых организмах сера накапливается в чистом виде (S_2) и при их отмирании на дне морей образуются залежи самородной серы. В морской среде сульфат-ион занимает второе место по содержанию после хлора и является основной доступной формой серы, которая восстанавливается автотрофами и включается в состав аминокислот. Круговорот серы, хотя ее требуется организмам в небольших количествах, является ключевым в общем процессе продукции и разложения. Например, при образовании сульфидов железа (FeS), фосфор переходит в растворимую форму, доступную для организмов. В наземных экосистемах сера возвращается в почву при отмирании растений, захватывается микроорганизмами, которые восстанавливают ее до H_2S . Другие организмы и воздействие самого кислорода приводят к окислению этих продуктов. Образовавшиеся сульфаты растворяются и поглощаются растениями из поровых растворов почвы - так продолжается круговорот. Однако круговорот серы, так же как и азота, может быть нарушен вмешательством человека. Виной тому, прежде всего, сжигание ископаемого топлива, а особенно угля. Сернистый газ (SO_2) нарушает процессы фотосинтеза и приводит к гибели растительности. Биогеохимические циклы легко нарушаются человеком. Так, добывая минеральные удобрения, он загрязняет воду и воздушную среду. В воду попадает фосфор, вызывая эвтрофикацию,

азотистые высокотоксичные соединения и др. Иными словами, круговорот становится не циклическим, а ациклическим. Охрана природных ресурсов должна быть, в частности, направлена на то, чтобы ациклические биогеохимические процессы превратить в циклические. Таким образом, всеобщий гомеостаз биосферы зависит от стабильности биогеохимического круговорота веществ в природе. Но являясь планетарной экосистемой, биосфера состоит из экосистем всех уровней, поэтому первоочередное значение для ее гомеостаза имеют целостность и устойчивость природных экосистем.

Круговорот серы имеет ряд характерных особенностей:

обширный резервный фонд в почвах и меньший - в атмосфере;
ключевая роль в быстро обмениваемом фонде микроорганизмов, выполняющих определенную работу в окислении или восстановлении;

микробная регенерация из глубоководных отложений, в результате которой вверх движется газовая фаза (H_2S);

взаимодействие геохимических и метеорологических процессов с биологическими процессами;

взаимодействие воздуха, воды и почвы в регуляции круговорота в глобальном масштабе.

Основная доступная форма серы - SO_4 - восстанавливается автотрофами и включается в белки. Для растений серы требуется меньше, чем азота и фосфора, поэтому лимитирующим фактором она бывает реже. Тем не менее, круговорот серы - ключевой в общем процессе продуцирования и разложения биомассы.

Круговороты различных элементов могут оказывать взаимное влияние друг на друга. Например, при образовании в осадках сульфидов железа фосфоров из нерастворимых соединений переходит в растворимые.

В последнее время на круговороты азота и серы все большее влияние оказывает промышленное загрязнение атмосферы. Особенно токсичны соединения азота в форме оксидов NO_2 и N_2O и серы - в форме SO_2 , которые являются промежуточными продуктами круговоротов этих элементов. В большинстве местообитаний их концентрация невелика, но в связи с неумеренным сжиганием топлива содержание в воздухе этих соединений, особенно в крупных промышленных

центрах, увеличилось до такой степени, что они представляют опасность для важных биотических компонентов экосистемы.

Основным источником соединений азота являются выхлопные газы и другие промышленные выбросы, сернистого газа - продукты сжигания угля.

Особенно большой вред наносит SO_2 растениям. Реагируя с водяным паром, он образует слабую серную кислоту, которая выпадает с осадками, известными как «кислотные дожди». Попав на листовую поверхность, H_2SO_4 вызывает химические ожоги, что снижает фотосинтезирующую поверхность растений.

Оксиды азота раздражают дыхательные пути высших животных и человека. Также следует иметь в виду, что, реагируя с другими соединениями, они могут образовывать соединения с синергическим эффектом, когда взаимодействие продуктов реакции больше суммарного воздействия каждого из реагирующих веществ в отдельности. Например, под действием ультрафиолетового излучения солнца NO_2 вступает в реакцию с продуктами неполного сгорания углеводородов. В результате возникает фотохимический смог.

В конечном счете, оксиды азота и серы, попадающие в атмосферу, ухудшают качество жизни.

1.9. Методы стерилизации

Стерилизация, или обеспложивание (от латинского – «бесплодный») - это полное уничтожение всех форм жизни, как на поверхности, так и внутри стерилизуемых объектов. Микробиологи стерилизуют питательные среды, посуду, различные инструменты и другие необходимые предметы с целью не допустить развития посторонних микроорганизмов. Наиболее часто применяют химическую и физическую стерилизацию.

Стерилизация является одним из важнейших и необходимых приемов в микробиологической практике. Слово «стерилизация» в переводе с латинского означает обеспложивание. В практической работе под стерилизацией понимают методы, применяемые для уничтожения всех форм жизни, как на поверхности, так и внутри стерилизуемых объектов, микробиологи стерилизуют питательные среды, посуду, различные инструменты и другие необходимые предметы с

целью не допустить развития посторонних микроорганизмов в исследуемых культурах. Термин «стерильность» имеет абсолютное значение.

Различают термическую и холодную стерилизацию. В микробиологии находят применение следующие способы термической стерилизации: прокаливание в пламени и обжигание, сухожаровая стерилизация (горячим воздухом), стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование), дробная стерилизация (тиндализация), кипячение, из методов холодной стерилизации микробиологи используют стерилизацию фильтрованием, ультрафиолетовыми лучами и газообразными средствами. Возможность и целесообразность применения того или иного способа определяются в первую очередь физико-химическими свойствами материала, подлежащего стерилизации, а иногда и целью исследования.

1.10. Стерилизация питательных сред

Стерилизация насыщенным паром под давлением (автоклавирование)

Это наиболее надежный и чаще всего применяемый способ стерилизации питательных сред. Он основан на нагревании материала насыщенным водяным паром при давлении выше атмосферного. Известно, что температура пара возрастает при повышении его давления (табл. 1).

Совместное действие высокой температуры и пара обеспечивает особую эффективность данного способа. При этом погибают и вегетативные клетки, и споры микроорганизмов. Установлено, что споры большинства микроорганизмов не выдерживают и 5-минутную экспозицию в насыщенном паре при 121. Лишь споры некоторых почвенных микробов погибают при 1 атм только через 20 мин. Стерилизацию паром под давлением осуществляют в специальных герметически закрывающихся толстостенных аппаратах - автоклавах.

Химическая стерилизация основана на губительном действии химических веществ на микроорганизмы. Она применяется для консервации вакцин, сывороток и других биопрепаратов, консервируемых различными антисептиками (хлороформ, мертиолат, хинозол и др.) Химические вещества применяются также для обработки рабочих

мест, рук, одежды, чтобы уничтожить на их поверхности патогенные микроорганизмы. Для этого применяют водный раствор фенола, раствор формалина, хлорамина, йода и др.

К физическим методам стерилизации относят: стерилизацию высокой температурой (термическая стерилизация) и холодную стерилизацию ультрафиолетовыми лучами, радиоактивными лучами, фильтрованием через бактериальные фильтры.

Термическая стерилизация может проходить следующим способами: - Прокачивание в пламени горелки (фламбирование) - самый быстрый и надежный способ стерилизации. Этим методом стерилизуют бактериологические иглы, пинцеты, петли, предметные стекла и другие мелкие инструменты. Для стерилизации обрабатываемый предмет несколько раз проводят через пламя горелки. При прокаливании происходит сгорание микробов и их спор.

Стерилизация сухим жаром - или горячим воздухом проводится в сухожаровочных шкафах при температуре 160-170 С в течение 1,5-2 часов с момента достижения заданной температуры. Стерилизуют сухим жаром посуду, стеклянные пипетки. Стерилизуемые предметы заворачивают в пергаментную бумагу. Простерилизованные предметы извлекают из шкафа после остывания.

Стерилизация паром под давлением (автоклавирование) самый эффективный способ. Даже однократная стерилизация уничтожает не только вегетативные, но и споровые формы микроорганизмов. Установлено, что споры большинства микроорганизмов не выдерживают и 5-то минутную экспозицию в насыщенном паре. Стерилизацию проводят в специальных приборах - автоклавах. Стерилизация в автоклаве проводится обычно при 1 атм., что соответствует 120,6 С или 1,5 атм., что соответствует 126" С. Время стерилизации зависит от состава стерилизуемого объекта и степени его бактериологического загрязнения, может быть от 30 минут до 1.5 часов.

Материалы перед стерилизацией упаковывают в пергаментную бумагу или укладывают в биксы и металлические стерилизаторы.

Питательные среды стерилизуют 20-30 минут, при 1 атм., а содержащие углеводы 15 мин. При 0,5 атм. При автоклавировании 3-5% жидкости теряется при испарении.

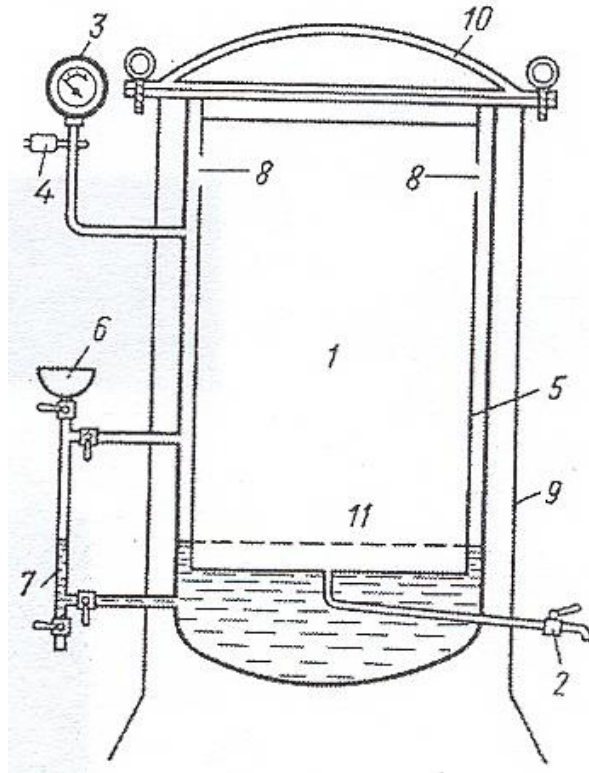


Рис. 37. Схема автоклава: 1 – стерилизационная камера; 2 – кран для выхода воздуха; 3 – манометр; 4 – предохранительный клапан; 5 – водопаровая камера; 6 – воронка для заполнения автоклава водой; 7 – водомерная трубка; 8 – отверстия для поступления пара в стерилизационную камеру; 9 – защитный кожух; 10 – крышка автоклава; 11 – подставка для размещения стерилизуемых предметов

Стерилизация текучим паром применяется в тех случаях, когда стерилизуемый материал изменяется при температуре выше 100 С. Текучим паром стерилизуют среды, содержащие белки, углеводы, молоко, витамины и т.д. Для этого используют автоклав с незакрытой крышкой и открытым паровыпускным клапаном или специальный аппарат Коха. Стерилизация проводится в течение 30 минут - 1 часа со времени закипания воды. При этом погибают только вегетативные формы микроорганизмов, а споровые сохраняют свою жизнедеятельность. Для уничтожения споровых форм проводят повторную стерилизацию через сутки, повторяя ее 3 раза. Это называется дробной стерилизацией.

Тиндализация - разновидность дробной стерилизации. Она проводится в аппаратах Коха или специальных водяных банях с целью уничтожения микроорганизмов в веществах, легко разрушающихся и

денатурирующих при температуре выше 60 С (белки сыворотки крови, яиц, витамины). Прогревание проводится при температуре 56-58 С в течение 1 час с 5-6 кратным повторением через каждые 24 часа. За это время споровые формы микроорганизмов прорастают и превращаются в вегетативные, которые затем погибают при повторных прогревах.

Пастеризация - однократное прогревание материала в течение 30 минут при температуре 65-70°С. После прогревания материал быстро охлаждают до 10 С и при этой температуре и хранят. Метод направлен для уничтожения только вегетативных форм, преимущественно патогенных микробов. Применяется для пищевых продуктов (молока, вин, соков и т.д.), так как полностью сохраняет их вкус.

Стерилизация фильтрованием используется для освобождения от микробов различных жидкостей, которые нельзя подвергать действию высоких температур. Эти жидкости содержат летучие или легко разрушающиеся компоненты - антибиотики, витамины, аминокислоты, ароматические углеводы и т.д. Фильтрование осуществляется через мелкопористые материалы, легко адсорбирующие клетки микроорганизмов - это асбест, целлюлоза, фарфор, каолин, нитроцеллюлоза и др. Размеры пор таких фильтров не больше 0,7 мкм. Фильтры применяются многократно, после обработки и стерилизации в автоклаве при 1 атм.

Обычно фильтрование ускоряется путем создания на фильтре перепада давления. Для выделения фагов из суспензии почвы широко пользуются фильтром Зейца.

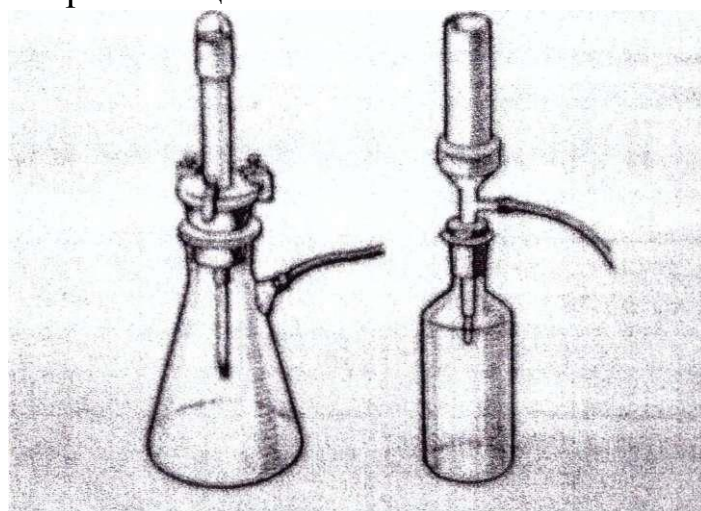


Рис. 38. Фильтры Зейца

Стерилизация газообразными веществами. Аппаратуру, имеющую зеркальное, оптическое и радиоактивное оборудование, а также изделия из термолабильных пластмасс (центрифужные пробирки), стерилизуют газообразным методом. Для газовой стерилизации применяют только те соединения, которые обладают спороцидными свойствами (убивают споровые формы микроорганизмов). Это оксид этилена, метил бромид, формальдегид, озон. Особенно эффективны их смеси. Стерилизацию проводят в специальных аппаратах, упаковывают материал как при стерилизации в автоклаве. Стерилизуют при температуре 45-70 С 24 часа. Предметами после стерилизации можно пользоваться после проществий 24 часов, чтобы весь газ удалился. При проведении газовой стерилизации необходимо строго соблюдать правила работы с ядовитыми газами.

Устройство автоклавов. Автоклавы разнообразны по форме, размерам, рабочему давлению, конструкции и другим показателям; они могут быть с ручным управлением, полуавтоматические, автоматические. Но поскольку все автоклавы предназначены для выполнения одной и той же задачи - стерилизации, основной принцип их устройства один и тот же. Разберём его на примере вертикального автоклава с ручным управлением.

Автоклав представляет собой металлический двустенный резервуар, способный выдерживать высокое давление. Его внутренняя часть является стерилизационной камерой (1). В нее помещают стерилизуемый материал. Стерилизационная камера снабжена краном (2) для выхода воздуха, манометром (3) для определения давления пара и предохранительным клапаном (4) для выхода пара при повышении давления сверх необходимого и для предотвращения разрыва автоклава. Пространство между стенками (5), называемое водопаровой камерой, заполняется через воронку (6) водой (лучше дистиллированной, чтобы не образовывалась накипь) до определенного уровня, который отмечен на специальной водомерной трубке автоклава (7). Выше этого уровня воду наливать не следует, так как при бурном кипении вода может попасть в трубку, ведущую к манометру, и исказить его показания. В верхней части внутренней стенки водопаровой камеры имеются отверстия (8), через которые пар поступает в стерилизационную камеру. Паровой котёл сверху покрыт защитным кожухом (9). Он предохраняет котёл от механических повреждений, а ра-

ботающих около автоклава - от ожогов. Для создания герметичности автоклав плотно закрывается массивной крышкой (10) с резиновой прокладкой.

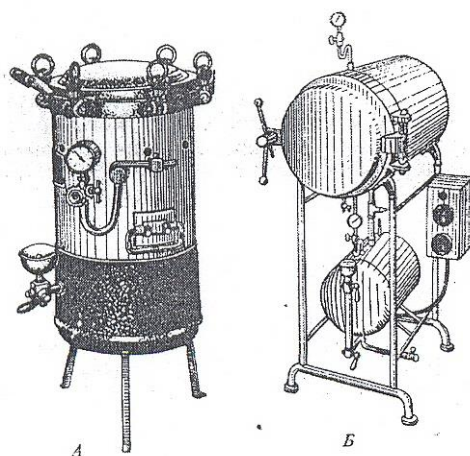


Рис. 39. Автоклавы цилиндрические:
 А – вертикальный с ручным управлением газовый;
 Б – горизонтальный, полуавтоматический, с электрическим обогревом

Таблица 1

Температура насыщенного пара при различном давлении

Давление		Температура, С
Нормальное, атм	Добавочное, атм	
1,0	-	110
1,0	0,5	111
1,0	0,75	116
1,0	1,0	121
1,0	1,5	126
1,0	2,0	134
1,0	2,5	138

Автоклавирование. Отдельные операции процесса стерилизации в автоклавах разных типов могут быть несколько различными. Соответственно немного различается и техника работы с ними. Однако общий принцип проведения стерилизации в разных автоклавах один и тот же.

Перед работой осматривают автоклав и контрольно - измерительную аппаратуру. При наличии любой неисправности (смещение стрелки манометра с нуля, трещина на водомерной трубке и др.) работать с автоклавом нельзя. После осмотра автоклава в водопаровую камеру наливают воду до верхней отметки на водомерной трубке. В

некоторых автоклавах предельный уровень заполнения водой контролируется воронкой. В стерилизационную камеру на специальную подставку помещают стерилизуемый материал. Предметы следует размещать не слишком плотно, так как пар должен свободно проходить, между ними, иначе они не нагреваются до нужной температуры и могут остаться нестерильными. Загрузив стерилизационную камеру, устанавливают и плотно завинчивают крышку (дверь) автоклава. Затем открывают кран, соединяющий стерилизационную камеру с наружным воздухом, и включают нагрев.

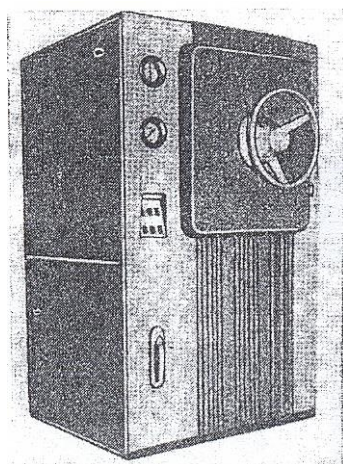


Рис. 40. Автоклав автоматический

После начала парообразования удаляют воздух из стерилизационной камеры. Это необходимое условие стерилизации, так как при одном и том же давлении температура чистого пара выше температуры смеси пара и воздуха. Поэтому если в автоклаве останется воздух, материал может не простерилизоваться. Наиболее простой и очень распространенный способ обезвоздушивания автоклава - вытеснение воздуха паром. Пар и конденсат отводят либо в сосуд с водой, либо в специальное устройство, соединенное с канализацией. В первом случае на кран (2) надевают резиновый шланг, который опускают в воду. Началом продувания считают появление устойчивой непрерывной струи чистого пара. Пока в автоклаве еще имеется воздух, смесь воздуха и пара, проходя через воду, издаст сильный треск. Чистый пар выходит с равномерным шипящим звуком. Его пропускают в течение 10 мин. В целом вся операция с момента появления пара с воздухом должна занимать не более 15 - 20 мин. иначе в автоклаве останется мало воды, и он может испортиться. Чтобы уменьшить расход пара

(воды), кран открывают не полностью. Степень открывания крана устанавливают на практике при эксплуатации автоклава. В наиболее совершенных автоклавах воздух из стерилизационной камеры удаляют с помощью вакуумного насоса.

Когда воздух вытеснен, закрывают паропроводный кран, и давление пара доводят до показания, соответствующего режиму стерилизации. Режим автоклавирования часто выражают в единицах избыточного давления, указывая при этом продолжительность его поддержания. Например, стерилизация при 1 атм в течение 20 мин. На манометре автоклава обозначается именно то дополнительное давление, которое создается в автоклаве сверх нормального. Нередко режим автоклавирования характеризуют температурой и временем. Как только стрелка манометра дойдет до указателя определённого дополнительного давления и, следовательно, температура пара достигнет соответствующего значения, поддерживают давление на этом уровне необходимое время путем ручного или автоматического регулирования подачи пара. В автоклавах с огневым обогревом подачу пара регулируют интенсивностью горения, в автоматических автоклавах - электроконтактным манометром.

По окончании времени стерилизации выключают нагрев автоклава. Давление в автоклаве постепенно падает и сравнивается с атмосферным. Лишь после этого открывают кран, выводящий пар. Преждевременное открывание крана недопустимо, так как перегретые среды при резком снижении давления сразу же бурно закипают, смачивают и даже иногда выталкивают ватные пробки, что нарушает впоследствии стерильность материала. Когда пар выйдет, открывают крышку (дверь) автоклава, соблюдая при этом осторожность во избежание ожога паром лица и рук. Удаление пара из стерилизационной камеры автоклавов, оснащенных вакуумным насосом, осуществляют с помощью насоса. Одновременно происходит подсушивание стерильного материала.

Поскольку автоклав является аппаратом, работающим при высоких давлениях и температурах, неправильное обращение с ним может быть причиной несчастных случаев. Установка автоклава и работа с ним производятся при строгом и точном выполнении правил, указанных в прилагаемой к аппарату инструкции. К работе допускаются только подготовленные лица.

1.11. Подготовка сред к стерилизации

При автоклавировании 3 - 5% жидкости теряется в результате испарения, поэтому рекомендуется в приготавливаемые среды добавлять сверх объема примерно 5% дистиллированной воды. Тогда после стерилизации среда (раствор) будет иметь требуемую концентрацию.

Среды обычно стерилизуют в пробирках, колбах, бутылках. Емкости заполняют средой не более чем на половину их высоты, чтобы предотвратить смачивание пробок. Сосуды со средами закрывают ватными пробками. Пробки должны быть достаточно плотными, чтобы выполнить эту функцию, но с равномерным распределением волокон ваты, так как через них происходит газообмен культуры с окружающей средой. Слишком плотные пробки затрудняют снабжение культур воздухом.

Для приготовления пробки плоский кусок ваты, взятый вдоль волокна, скатывают валиком. Чтобы придать пробке прочность, ее прокатывают между ладонью и чистым стеклом, лежащим на столе. Длина пробки для обычной пробирки должна быть около 4 см. Пробка должна входить в пробирку на 1,5 - 2,0 см. Для сохранения формы пробку вынимают из горлышка, слегка вращая. Удобно обернуть пробку чистой марлевой салфеткой.

Перед стерилизацией пробки можно прикрыть бумажными колпачками. Нельзя обертывать пробки сосудов, которые будут стерилизоваться в автоклаве, целлофаном. Фольгой или другими материалами, не пропускающими пар, так как пар должен обязательно проникать через пробку в сосуд иначе среды не нагреются до нужной температуры и не простерилизуются.

Выбор режима автоклавирования. В микробиологической практике стерилизация в автоклавах осуществляется при температуре в пределах 111-138 С, т. е. от 0,5 до 2,5 атм. Температура ниже 111 С не может считаться надежной; температура выше 138 С, как правило, не является необходимой, к тому же, чем выше давление пара, тем сложнее условия эксплуатации автоклава.

Микробиологи чаще всего стерилизуют при 0,5 и 1 атм.

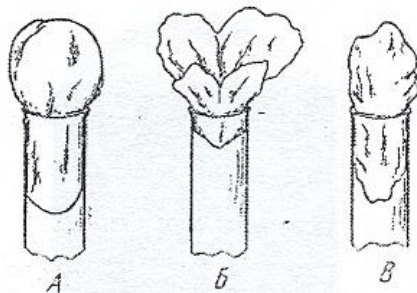


Рис. 41. Ватные пробки:
A – приготовлена правильно;
Б и В – приготовлены неправильно

Таблица 2

*Зависимость продолжительности стерилизации жидкостей
от объёма сосудов*

Емкость	Объем		Время стерилизации при 121-123, мин
	мм	мл	
Пробирки	18X150		12-14
	32x200		13-17
	38 X 200		15--20
Колбы тонко-стенные		50	12-14
		125	12-14
		200	12-15
		500	17-22
		900	19-24
		1000	20-25
		1800	25-30
Колбы толсто-стенные		500	24-28
		1000	25-30
		2000	10-45
Матрацы		1000	30-35
Бутылки		9000	50-55
		100	13-17

Температура и длительность автоклавирования питательных сред определяются прежде всего их составом, термоустойчивостью или термолабильностью компонентов. Такие легко разрушающиеся субстраты, как молоко или желатиновые среды, а также субстраты, содержащие сахара, витамины (сусло пивное, соки, дрожжевой авто-

лизат и др.) обычно стерилизуют при 0,5 атм в течение 15-30 мин. Мясо-пептонные среды можно стерилизовать при 1,0 атм 20 мин. Среда, содержащая агар, стерилизуется труднее, потому что стерилизация начинается фактически после того, как агар расплавится. Но и расплавленный агар требует для стерилизации вдвое больше времени, чем тот же объем воды. С трудом поддаются стерилизации в автоклаве различные порошки (например, тальк) и вязкие жидкости (глицерин, вазелиновое масло), поскольку они плохо передают тепло и очень медленно прогреваются. Их лучше стерилизовать в сушильных шкафах при 160 в течение 2 ч или 1 ч при 170 С. В этом случае слой масла или порошка в сосуде не должен превышать 1,5 см.

Имеются субстраты, в которых могут быть споры, отличающиеся особой термостабильностью. К ним относится почва, причём она, кроме того, и нагревается с замедленной скоростью. Ее обычно стерилизуют при 1 атм либо 1 раз 2 ч, либо два дня подряд по 1 ч, а иногда при 2 атм 2 ч.

Выбирая режим стерилизации, необходимо учитывать рН среды. При кислой реакции многие вещества, входящие в её состав, могут подвергнуться гидролизу. Чем ниже значение рН, выше температура и больше продолжительность стерилизации, тем интенсивнее происходит гидролиз. В результате после стерилизации перестают застывать среды с желатином и даже с агаром. Если среда щелочная, то при стерилизации выпадают в осадок соли железа, карамелизуются и становятся непригодными для использования бактериями сахара. В некоторых случаях в процессе стерилизации изменяется рН среды. Так, если рН среды с углеводами выше 7,0, то может произойти ее подкисление до рН 6,0. Особенно часто это наблюдается в присутствии ксилиты. Чтобы избежать таких явлений, рекомендуется углеводы, фосфаты, соли железа автоклавировать отдельно в виде более или менее концентрированных растворов в дистиллированной воде при том значении рН, которое обеспечивает целостность вещества. После стерилизации растворы стерильно объединяют в нужном соотношении. Таким приемом раздельной стерилизации в микробиологии пользуются довольно часто, поскольку многие компоненты сред нельзя стерилизовать одним и тем же способом.

Режим автоклавирования в значительной степени зависит от объема стерилизуемого субстрата. Чем больше объем, тем больше

времени при одной и той же температуре (давлении) требуется для обеспечения надежности стерилизации. Имеет значение толщина стенок и форма емкостей. Это нужно учитывать в практической работе. Например, не следует стерилизовать термочувствительный субстрат одновременно в пробирках и больших бутылках. Если среда стерилизуется по режимам, рекомендованным для малых объемов, содержимое бутылки может не простерилизоваться. Если же стерилизация проводится с расчётом на большой объем, среда в пробирке прогревается значительно дольше, чем требуется, и может испортиться.

После автоклавирования среды для проверки стерильности выдерживают 2-3 суток в термостате при 30 С. Если в средах обнаруживается рост микроорганизмов, их готовят заново.

1.11.1. Дробная стерилизация (тиндализация)

Дробная стерилизация применяется для обеззараживания сред, разрушающихся под действием температур выше 100 С. Этот прием был введен английским ученым Тиндалем. Принцип тиндализации заключается в том, что прогревают среду или ее компоненты без избыточного давления несколько раз, и в период между прогреваниями дают прорасти жизнеспособным спорам. Предполагается, что развивающиеся из спор клетки погибают при последующем прогревании, не успев образовать новые споры. Прогревание можно осуществлять в парах кипящей воды, т. е. при 100 С или, как говорят, текучим паром. Обработку текучим паром проводят 3-4 раза по 20-40 мин в автоклаве с незакрытой крышкой, в кипятильнике Коха или на водяной бане с хорошо пригнанной крышкой. Время прогревания отмечается с момента энергичного выделения пара.

Кипятильник Коха представляет собой металлический цилиндр, обычно накрытый теплоизолирующим слоем, чаще всего - асбестом. Внутри цилиндра находится сетчатое ведро или подставка на ножках, куда помещают стерилизуемый материал, прикрыв его клеёнкой для защиты от конденсационной воды. На дно цилиндра наливают воду так, чтобы уровень ее не доходил до дна подставки. Кипятильник закрывают крышкой, в которой имеется отверстие для выхода пара, и нагревают с помощью газовой горелки или электричества. В современных аппаратах Коха имеются терморегуляторы.

В промежутки между прогреваниями среды помещают на сутки в термостат, отрегулированный на 30 С, для проращивания спор. Субстраты, не выдерживающие нагревания при 100 С, прогревают более осторожно: при 70-80 С по 1 ч ежедневно в течение 3 дней или при 60-65 С в течение 5 дней. Между нагреваниями их выдерживают при температуре от 25 до 37 С.

Тиндализация обеспечивает стерильность лишь в том случае, если среда, в которой находятся споры и поддерживаемая между прогреваниями температура обеспечивает их прорастание, и с другой стороны, если появившиеся вегетативные клетки вновь не образуют термостойкие споры. Существенным недостатком дробной стерилизации является и то, что она требует большой затраты времени. Вот почему практическое значение тиндализации в настоящее время весьма ограничено. Этим способом пользуются преимущественно для стерилизации некоторых термолабильных лекарственных веществ и иногда - желатины.

1.11.2. Стерилизация фильтрованием

Стерилизация фильтрованием широко используется в микробиологической практике. Она применяется для субстратов, не выдерживающих нагревания, например, для жидких сред и растворов, содержащих термолабильные белки, витамины, сахара, некоторые антибиотики, а также для сывороток, летучих веществ, например, некоторых углеводов и других. Этим способом освобождают культуральную жидкость от клеток микроорганизмов, когда необходимо сохранить содержащиеся в ней продукты обмена в неизменном виде.

Способ заключается в пропускании жидкостей через специальные мелкопористые фильтры, называемые бактериальными. Микробные клетки задерживаются фильтрами главным образом механически, поскольку они крупнее диаметра пор фильтра, а также потому, что поры идут через фильтр чрезвычайно извилисто и на всём протяжении имеют разную форму и неодинаковый размер. Если же фильтр изготовлен из положительно заряженного материала, то имеет место и притягивание бактерий к стенкам пор, поскольку большинство микроорганизмов в водной суспензии имеет на своей поверхности отрицательный заряд. Такой фильтр может эффективно задерживать даже

те микроорганизмы, средние размеры которых несколько меньше среднего диаметра пор. Тем не менее поры фильтров должны быть достаточно мелкими не только затем, чтобы обеспечить механическую задержку клеток, но и для того, чтобы микроорганизмы оказались в сфере действия электрического заряда стенок.

Диаметр пор определяет область применения фильтров. Стерилизующими бактериальными фильтрами теоретически можно считать такие, размер пор которых не превышает 0,75 мкм. В практике пригодность фильтров для стерилизации устанавливают путем пробной фильтрации через них суспензии какого-либо мелкого микроорганизма, например *Pseudomonas aeruginosa*. Для проверки на стерильность фильтрат в большом количестве высеивают на питательную среду. Если в течение 5 дней тест - организм не вырастет, фильтры могут быть использованы для стерилизации. Как правило, бактериальные фильтры пропускают L - формы бактерий, вирусы и бактериофаги.

Типы бактериальных фильтров. Бактериальные фильтры изготавливаются из разных материалов. Они различаются по форме и диаметру пор, обычно указанному на упаковке фильтра или в прилагаемом паспорте. Нередко фильтры выпускаются под определёнными номерами и марками.

Мембранные (коллоидные) фильтры готовят на основе нитроцеллюлозы. Отечественная промышленность выпускает мембранные фильтры диаметром 35 мм. Они представляют собой диски - разного диаметра толщиной 0,1-0,5 мм. В зависимости от размеров пор они обозначаются номерами от 1 до 5.

Во Франции и США фирма «Миллипор» выпускает фильтры с размером пор от 0,01 до 14 мкм.

В последнее время получили распространение мембранные фильтры фабрики «Синпор» ЧССР.

Мембранные фильтры задерживают микроорганизмы почти исключительно благодаря малым размерам своих пор. Адсорбция здесь играет незначительную роль. Через эти фильтры пропускают небольшие объемы жидкости, так как при фильтровании больших объемов происходит закупорка пор и оно затрудняется. Кроме того, при длительном фильтровании возможно прорастание микроорганизмов внутри пор и попадание их в фильтрат. Мембранные фильтры, имеющие диаметр пор 0,1 мм или меньше, называют ультрафильтрами.

Их используют для фильтрации вирусов и высокомолекулярных белков.

Асбестовые фильтры известны под названием фильтров Зейтца. Их изготавливают из смеси асбеста с целлюлозой в виде больших плотных (4-6 мм толщиной) листов, которые затем разрезают на диски или квадраты разной величины. Верхняя поверхность пластин флокулирована. Плотность фильтров тем выше (т. е. меньше пористость), чем больше в них асбеста. На пористость фильтров указывают обозначения, имеющиеся на пластинах: индекс ЕК соответствует диаметру пор 1,5-1,8 мкм; ЕКС - 1,2-1,5; ЕКС-1 - 1-1,2; ЕКП 0,8-1 мкм. Кроме того, в СССР выпускаются асбестовые фильтры, обозначаемые марками Ф2 и СФ. Стерилизующими являются пластины СФ-3 и СФ-4.

Асбестовые фильтры имеют ряд недостатков. Один из основных связан с их химическим составом: при фильтровании из них могут вымываться щелочи, соли щелочных металлов, а иногда и соли железа.

Фильтрат загрязняется нежелательными примесями и приобретает щелочную реакцию. Это затруднение можно преодолеть путем предварительного промывания фильтра последовательно разведенной кислотой и дистиллированной водой или удалением первых порций фильтрата.

Другой существенный недостаток фильтров Зейтца состоит в том, что асбест, будучи отрицательно заряженным, может адсорбировать значительные количества различных веществ из фильтруемой жидкости.

И, наконец, асбестовые фильтры нередко загрязняют фильтрат волокнами. Асбестовые пластины относительно, мягкие, они легко искривляются и разрываются. Помятые фильтры, а также пластики с надломами и трещинами для работы непригодны.

Фарфоровые фильтры были впервые предложены Пастером и Шамберланом в 1884 году. Впоследствии они получили название «свечи Шамберлана». Их изготавливают из смеси кварцевого песка и каолина, прокалённых на огне. Они имеют форму полого цилиндра, закрытого на одном конце. Верхняя часть цилиндра глазурованна. Особенно часто применяются свечи трех размеров: 10 X 55, 15 X 105 и 25 X 205 мм. Пористость их обозначается буквой L с цифрами от 1

до 13, соответственно увеличению плотности фильтра, т. е. уменьшению диаметра его пор - от 9 до 1,2 мкм. Мелкопористые свечи обозначаются также маркой «В», крупнопористые - маркой «F». Последние используются только для фильтрации воды и отделения мелких микроорганизмов от крупных. Свечи Шамберлана имеют положительный заряд.

Фильтры из инфузорной земли готовят из диатомита или кизельгура, нередко с добавлением асбеста или других материалов. В России выпускается несколько типов таких фильтров под различными названиями. Чаще всего их называют «свечи Беркефельда». Это замкнутые с одного конца цилиндры 5-26 X 1,5-5 мм, имеющие в верхней части фарфоровую или металлическую головку «Свечи Беркефельда» имеют обозначения W, N, и V, что соответствует диаметрам пор 3 - 4, 5 - 7, 8 - 12 мкм.

Фильтры из стекла. Стерилизующие стеклянные фильтры представляют собой двуслойные диски, изготавливаемые из фрагментов стекла «Пирекс» путем их сплавления. Нижний слой, имеющий пористость в пределах 15-40 мкм, служит подставкой. На ней лежит бактерионепроницаемый верхний слой. Это тонкая мелкопористая пластинка. По пористости такие пластинки разделяются на три типа: Р - диаметр пор меньше 1 мкм, М - от 1 до 1,7 мкм, С - больше 1,7 мкм. Но, поскольку стеклянные фильтры отличаются нестандартностью пор, в паспорте, прилагаемом к каждому фильтру, обычно указывается средний диаметр пор данного фильтра. Диски впаяны в стеклянные воронки-держатели. Форма их может быть разной. Особенно широкое распространение получили фильтры Нутча и воронки Бюхнера с диаметром пластин от 30 до 120 мм.

Стеклянные фильтры имеют отрицательный заряд. Но они не столь активно адсорбируют вещества при фильтровании, как асбестовые, и не загрязняют фильтрат, поскольку материал фильтра из них не вымывается. Из-за нестандартности пор фильтры из стекла перед употреблением обязательно должны быть проверены на стерилизующий эффект.

В настоящее время из всех типов бактериальных фильтров для стерилизации наиболее широко применяются мембранные и асбестовые фильтры.

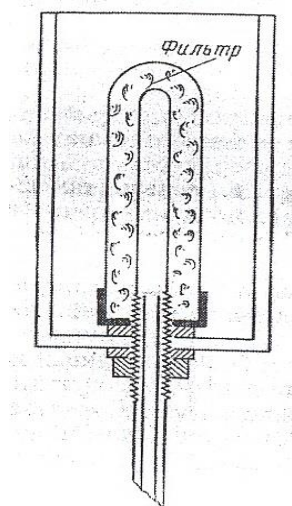
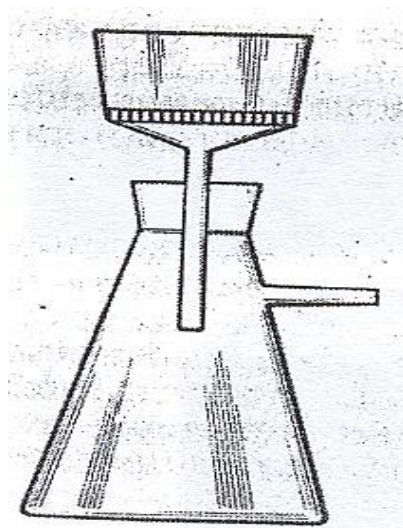


Рис. 42. Свеча Беркефельда



*Рис. 43. Стекланный фильтр (воронка Бюхнера),
вмонтированный в колбу Бунзена*

Работа с бактериальными фильтрами включает ряд этапов:

1. Подготовка фильтров. Фильтр должен быть закреплен в держателе, который вставляется в приемник фильтрата. Обычно приемником является колба Бунзена.

Для мембранных фильтров имеются многочисленные держатели. Есть, например, прибор, изготовленный целиком из стекла, в котором в качестве опоры фильтра используется крупнопористый стеклянный диск. Чаще применяются металлические и пластмассовые держатели. Все они приспособлены для дисков различного диаметра и рассчитаны на фильтрование разных объемов жидкостей.

Асбестовые фильтры монтируют в металлические основы, которые известны под названием «приборы Зейтца». Асбестовая пластина крепко зажимается винтами между верхней (цилиндр без дна) и нижней (воронкообразный тубус) частями держателя. Опорой для асбестового диска служит сетка или пористая пластинка из нержавеющей стали. Трубка держателя, по которой стекает фильтрат, через резиновую пробку проходит в колбу Бунзена. Нередко весь этот прибор в собранном виде называют фильтром Зейтца.

Узкие свечи монтируют в стеклянные трубки с помощью резиновой пробки, которую вставляют в колбу Бунзена. Жидкость фильтруется из трубки внутрь свечи. Узкие свечи можно вставлять и непосредственно в резиновую пробку, закрывающую колбу Бунзена. В этом случае фильтрование происходит изнутри наружу.

Широкие свечи соединяют с колбой Бунзена резиновой трубкой. Свечу помещают в сосуд, куда наливают фильтруемую жидкость. Фильтрование при этом идет снаружи, а приемником является внутренняя полость свечи.

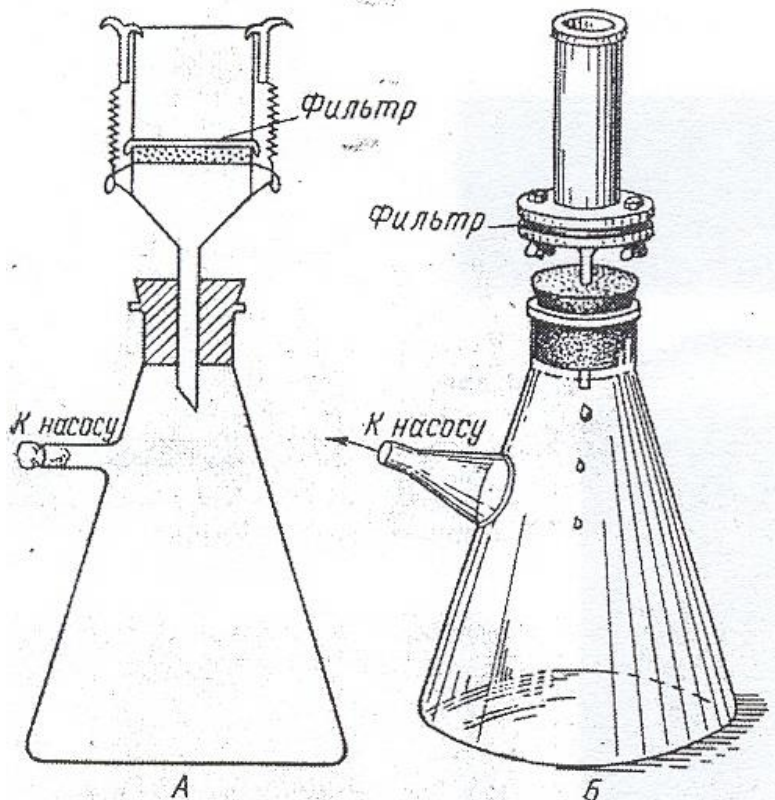


Рис. 44. Приборы для стерилизации фильтрованием:
 А – со стеклянным держателем;
 Б – с металлическим держателем

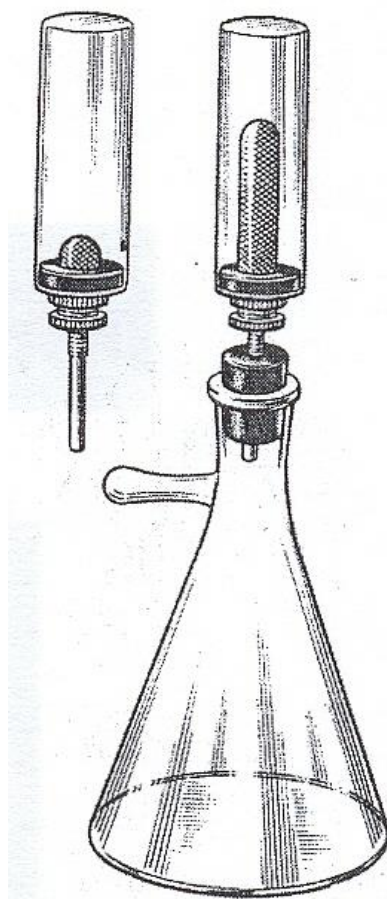


Рис. 45. Керамический фильтр, соединенный с колбой Бунзена при помощи наружного стеклянного цилиндра

Стеклянные фильтры, имеющие форму воронки, вставляют в резиновую пробку колбы Бунзена.

Перед использованием фильтры, их держатели и приемник фильтрата должны быть простерилизованы. А мембранные фильтры стерилизуют, поместив их в дистиллированную воду, кипячением в течение 30 мин или автоклавированием при 1 атм 15 мин. Сосуд с фильтрами должен быть закрыт ватной пробкой. Иногда мембранные фильтры стерилизуют химическими средствами: окисью этилена в смеси с углекислотой в течение 6 ч или парами формальдегида в течение 24 ч. В последнем случае фильтры помещают в эксикатор с разряженным воздухом, на дно которого наливают 2%-ный раствор формальдегида. Стерилизацию окисью этилена проводят в специальных аппаратах. После химической стерилизации фильтры проветривают в стерильных условиях не менее 5 ч.

Металлические и стеклянные держатели мембранных фильтров заворачивают в бумагу вместе с резиновой пробкой и автоклавируют при 1 атм 20-30 мин. Способ и режим стерилизации пластмассовых держателей определяется их термостойкостью. Стерилизация мембранных фильтров вместе с держателем не рекомендуется, так как это может привести к повреждению фильтра. Колбу Бунзена стерилизуют горячим воздухом или в автоклаве при 1 атм 20-30 мин. Предварительно горлышко колбы Бунзена закрывают ватной пробкой, а в отводную трубку, которая в дальнейшем присоединяется к вакуумному насосу, вставляют ватный тампон. Весь прибор собирают непосредственно перед работой. Мембранные фильтры закладывают в держатель в стерильных условиях.

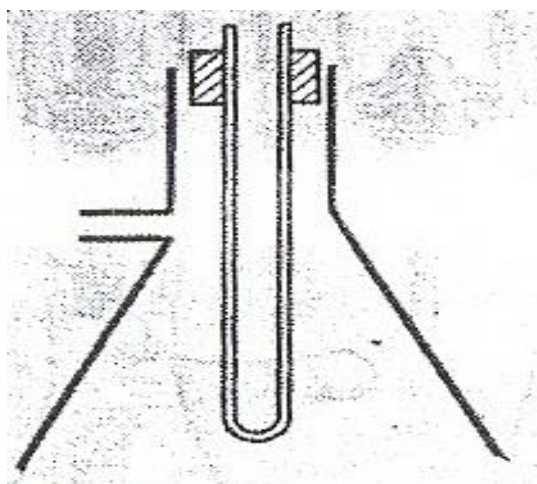
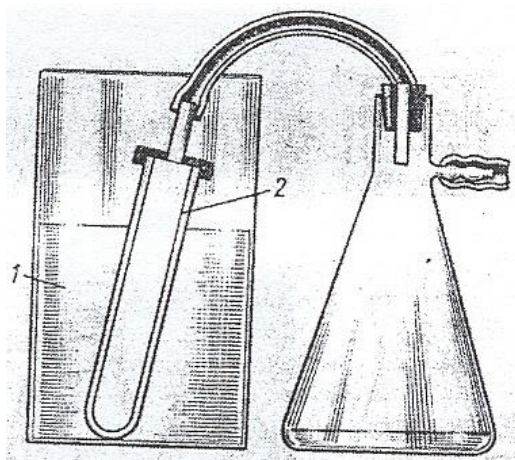


Рис. 46. Керамический фильтр, смонтированный в колбу Бунзена с помощью резиновой пробки



*Рис. 47. Керамический фильтр, соединенный с колбой Бунзена резиновой трубкой:
1 – фильтруемая жидкость, 2 – фильтр*

Фильтры Зейтца стерилизуют в автоклаве при 1-1,5 атм 20 мин или горячим воздухом при 160 С в течение 1 ч в собранном виде, то есть вместе с асбестовыми пластинками. Не рекомендуется перед стерилизацией туго завинчивать винты держателя. Их подтягивают сразу после стерилизации.

Свечи чаще всего стерилизуют в автоклаве при 0,5-1 атм в течение 15 мин либо вместе с приемником, либо отдельно. В том случае, если свечи не соединены с резиновыми деталями, их можно стерилизовать горячим воздухом. Для сохранения стерильности свечи защищают от соприкосновения с воздухом тем или иным способом. Последнее зависит от того, как будет монтироваться прибор и в каком направлении пойдет фильтрование.

Стеклянные фильтры, вставленные в резиновые пробки, стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 30 мин вместе с колбой-приемником или отдельно. В первом случае на воронку фильтра, закрытую ватной пробкой, надевают бумажный колпачок, во втором - фильтр с пробкой заворачивают в пергамент или алюминиевую фольгу. Стеклянные фильтры, не соединенные с резиновой пробкой, можно стерилизовать горячим воздухом.

Через бактериальные фильтры жидкости проходят медленно, а длительное фильтрование нежелательно, поскольку при этом, как уже отмечалось, возможно прорастание микроорганизмов в порах фильтров и загрязнение ими фильтрата. Поэтому обычно фильтрование ускоряют путем создания на фильтре перепада давления, достигаемого либо приложением повышенного давления к находящейся над фильтром жидкости, либо откачиванием воздуха с помощью вакуумного насоса, присоединенного к приемнику фильтрата. Чаще применяют откачивание воздуха. При этом происходит легкое разбухание клеток, чем облегчается их задержка на фильтре. Но в то же время в условиях вакуума возможно вспенивание фильтрата, содержащего белок, поэтому фильтрация под давлением, исключая это явление, считается более благоприятной, хотя, вероятно, и менее удобной в техническом отношении. Не исключено, что при сильном положительном давлении бактериальная клетка сжимается и может проходить через фильтр. Слишком большое разрежение и высокое давление ускоряют закупорку пор.

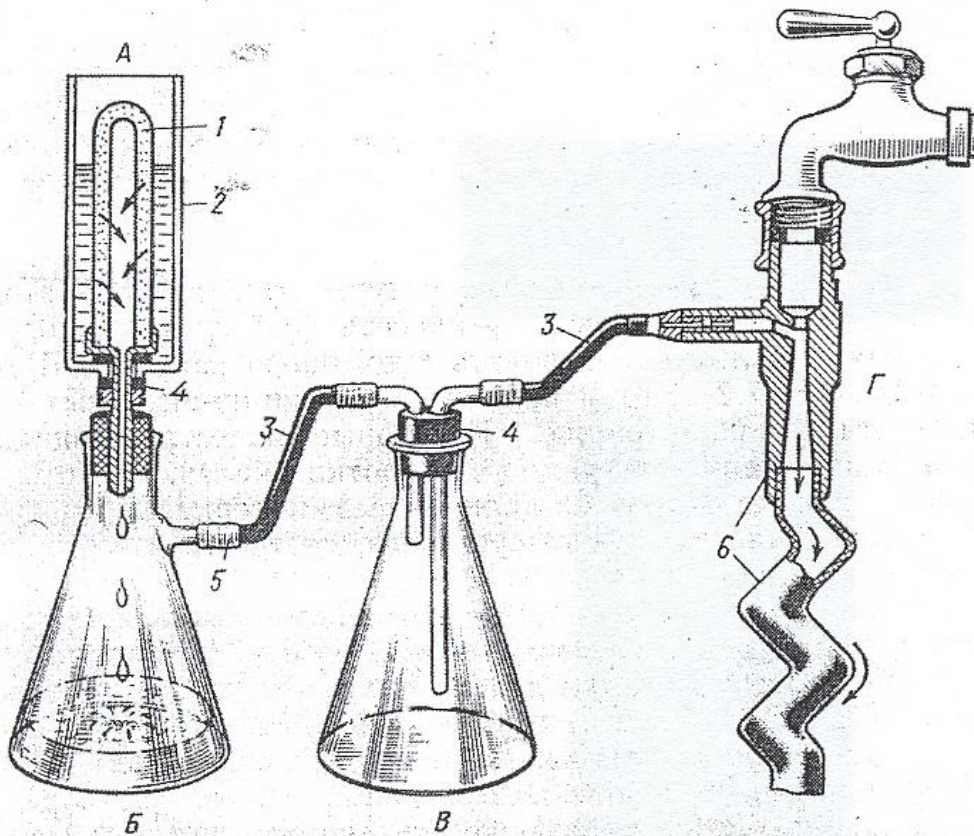


Рис. 48. Прибор для фильтрации под вакуумом в собранном виде:

А – держатель с фильтром; *Б* – приемник фильтрата;

В – предохранительная склянка; *Г* – водоструйный насос;

1 – свеча; *2* – стеклянный сосуд; *3* – трубка из толстой резины;

4 – резиновая пробка; *5* – ватный тампон; *6* – вакуумный насос

Фильтрация под вакуумом осуществляют следующим образом. Непосредственно перед работой ватную пробку колбы Бунзена, если она стерилизовалась отдельно, быстро заменяют держателем с фильтром, а отводной конец колбы соединяют с предохранительной склянкой, находящейся перед водоструйным насосом. Тампон из отводного конца не вынимают, чтобы сохранить стерильность приемника. По окончании фильтрации насос выключают постепенно, так как при резком изменении давления вода из крана может быстро заполнить предохранительную колбу и попасть в фильтрат. Профильтрованные жидкости разливают в стерильных условиях в заранее простерилизованную посуду. Так же, как и при термической стерилизации, их выдерживают 2-3 суток при 30 С и, если в них появится рост микроорганизмов, готовят вновь.

Важно помнить, что состав жидкостей, прошедших через бактериальные фильтры, может меняться вследствие вымывания из фильтров или, напротив, адсорбции на них ряда веществ, и фильтрат (среда) станет непригодным для культивирования данных микроорганизмов. Из асбестовых фильтров, как уже отмечалось, могут вымываться щелочи и различные соли. Адсорбируются же на фильтрах некоторые жирные кислоты, белки, полисахариды. Возможность и степень адсорбции веществ на фильтрах определяются химической природой фильтра, размерами его пор, продолжительностью фильтрования. Большую поглотительную ёмкость (до 30 и более процентов) имеют керамические (свечи) и асбестовые фильтры. Это важно учитывать при работе с малыми объёмами жидкостей.

Эффективность фильтрования определяется не только качествами фильтра, но и свойствами фильтруемой жидкости: её вязкостью, рН, температурой и др. Жидкости с низкой вязкостью фильтруются легче, поэтому при возможности вязкие жидкости разводят. Скорость фильтрации возрастает с повышением температуры, так как при этом снижается вязкость. Поэтому многие жидкости фильтруют подогретыми. Летучие жидкости нельзя фильтровать с помощью вакуума. Щелочная реакция среды (рН 7,2 - 8,0) и наличие капиллярно - активных веществ (бульон) облегчают фильтрацию. Некоторые вещества, понижающие поверхностное натяжение, например, сыворотка, желчь, мыла, кислоты, способствуют проникновению бактерий через материалы, содержащие кремний. Трудно фильтруются гетерогенные системы, поэтому предварительно их осветляют пропусканием через свечи Шамберлана L1 или L2 через крупнопористые мембранные или даже бумажные фильтры.

Мембранные и асбестовые фильтры используются только один раз; после употребления их выбрасывают. Если стерилизации подвергалась жидкость, содержащая патогенные микроорганизмы, то фильтры, прежде чем выбросить, стерилизуют или выдерживают в дезинфицирующем растворе. Свечи Шамберлана и Беркефельда, а также стеклянные фильтры можно использовать повторно. При употреблении они загрязняются не только бактериями, но и органическими веществами. Для очистки фильтров применяют различные способы.

Фарфоровые свечи (Шамберлана) сначала промывают дистиллированной водой, пропуская ее через стенки фильтра в направлении,

обратном фильтровании. Затем фильтры заливают на ночь концентрированной серной кислотой, содержащей небольшие количества нитрата натрия и хлорнокислого калия. На следующий день их многократно промывают дистиллированной водой, а затем кипятят в воде для удаления растворенного воздуха. Свечи Шамберлана можно обрабатывать и другим способом. Их промывают в течение 10 ч в 3%-ном растворе фенола, затем в воде и 2%-ной жавелевой воде (KClO) в течение 2 ч и, наконец, моют щеткой в 10%-ной соляной кислоте также 2 ч. От кислоты фильтры отмывают в проточной воде в течение суток до исчезновения реакции на хлор, затем оставляют на ночь в дистиллированной воде. Третий вариант очистки заключается в следующем. Свечи сначала промывают теплой водой для удаления осадка и протирают мягкой щеткой, затем моют 2-3%-ным раствором формалина и, наконец, 15 %-ным раствором хлорной извести. Потом свечи выдерживают 30 мин в растворе соляной кислоты (1:10), кипятят в водопроводной воде 1 ч и отмывают водой. Свечи Беркефельда мягче фарфоровых, поэтому обработку щеткой они не выдерживают. При их чистке следует также избегать кислот. Они хорошо отмываются растворами гипохлорита. Промытые тем или иным способом свечи должны быть высушены. Хранить их во влажном состоянии нельзя, так как при этом в их порах могут размножиться микроорганизмы, то есть появляется опасность загрязнения фильтра биомассой. Очищать свечи от частиц органического происхождения можно также прокаливанием их в муфельной печи.

Стеклянные фильтры обычно промывают раствором соляной кислоты или горячей концентрированной серной кислотой (80-100 С) при добавлении небольшого количества нитрата калия или смеси нитрата натрия и перхлората натрия и азотной кислоты. Фильтры рекомендуется держать в этой смеси в течение ночи. Затем их промывают дистиллированной водой до исчезновения ионов SO_4^{2-} .

Бактериальные фильтры нельзя мыть смесью двухромовокислого калия с серной кислотой, так как хромат адсорбируется на фильтре, что может повредить фильтр и испортить фильтрат. Свечи не следует также обрабатывать, концентрированными растворами щелочей, поскольку это моет увеличить размеры их пор.

1.12. Назначение, классификация и приготовление питательных сред

Для получения чистых культур микроорганизмов, изучения их морфологических и физиологических свойств, производят их выращивание (**культивирование**) на питательных средах.

Любая питательная среда должна отвечать следующим характеристикам:

содержать все вещества необходимые для роста и размножения данного микроба в легко усвояемой форме;

быть изотонической;

иметь оптимальную влажность или вязкость;

оптимальную рН и окислительно-восстановительный потенциал;

быть стерильной.

При культивировании микроорганизмов готовят среды такого состава, который наилучшим образом соответствует требованиям той или иной физиологической группы микробов или проявлению их определенных свойств. Поэтому для выделения и изучения свойств микробов применяется большое количество сред, различающихся по происхождению, консистенции, составу и назначению.

1.12.1. Классификация питательных сред

В зависимости от происхождения среды бывают:

Естественные среды - представляют собой натуральные продукты (молоко, овощи, яйцо) или естественный субстрат (сыворотка крови, желчь и т.д.).

Искусственные среды готовят по специальным рецептам из различных настоев или отваров животного или растительного происхождения с добавлением неорганических солей, углеводов и азотистых солей.

Синтетические среды готовят из химически чистых веществ (солей, углеводов, аминокислот, витаминов и др.), взятых в определенных пропорциях. Синтетические среды - разновидность искусственных сред.

Натуральными обычно называют среды, которые состоят из продуктов животного или растительного происхождения. К таким средам относятся овощные или фруктовые соки, животные ткани, разведенная кровь, молоко, воды морей, озер и минеральных источников, отвары или экстракты, полученные из природных субстратов, таких как мясо, почва, навоз, различные части растений, клетки микроорганизмов.

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

Элективные среды предназначены для выделения микроорганизмов из мест их естественного обитания. Они обеспечивают преимущественно развитие определённой группы микроорганизмов, для которой характерна общность физиологических свойств.

Дифференциально - диагностические (индикаторные) среды дают

возможность быстро отличить одни виды микроорганизмов от других или выявить некоторые их особенности.

Жидкие среды широко применяют для накопления биомассы или продуктов обмена, для исследования физиологии и биохимии микроорганизмов, а также для поддержания и сохранения в коллекции культур микроорганизмов, плохо развивающихся на плотных средах.

Сыпучие среды применяют главным образом в промышленной микробиологии для культивирования некоторых продуцентов физиологически активных соединений, а также в коллекциях для сохранения культур микроорганизмов. К таким средам относятся, например, разваренное пшено, отруби, кварцевый песок, пропитанный питательным раствором.

Плотные среды используют для выделения чистых культур, в диагностических целях для описания колоний, для определения количества микроорганизмов, их антибиотической активности, для хранения культур в коллекциях и в ряде других случаев. С целью уплотнения сред применяют агар или желатин.

По консистенции различают:

Жидкие среды

полужидкие среды

плотные (твердые) среды.

Жидкие среды готовят из воды и растворенных в ней веществ (мясная вода, бобово - пептонный бульон, мясо - пептонный бульон и др).

Плотные искусственные среды готовят путем добавления к жидкой среде уплотняющих веществ - желатина (10-15%) или агар-агара (1- 2%).

Полужидкие среды содержат те же уплотняющие вещества, но в меньшем количестве (0,2-0,3% агар- агар).

По назначению питательные среды делятся на:

обычные,

специальные,

элективные,

дифференцированно - диагностические

селективные.

Обычные среды применяют для выращивания большинства микроорганизмов. К ним относятся мясо - пептонный бульон, мясо - пептонный агар, бобово - пептонный бульон.

Специальные среды применяют для культивирования и выделения определенного вида или групп микроорганизмов. Например, среда Чапека для культивирования грибов, среда Омельяиского - для выделения возбудителей анаэробного разложения клетчатки.

Элективные среды пригодны для развития одного приспособившегося к данным условиям существования вида микробов. Сопутствующие виды микроорганизмов или совсем не растут на таких средах, или развитие их сильно задерживается. К таким средам относятся накопительные среды Виноградского для большинства почвенных микроорганизмов, среда Эшби для азотобактера и др.

Дифференциально-диагностические среды применяют для изучения биохимических свойств микробов и для выделения чистых культур некоторых микробов. Они позволяют выявить выделяемые микробами ферменты (энзимы). Это жидкие среды Гиса с углеводами, плотные среды с индикаторами - Левина, Плоскирева и др.

Селективные среды - на них ведется селекция микроорганизмов, обладающих определенными признаками. Например, среда с примесью пенициллина селективная для пенициллин - устойчивых бактерий.

Одной из основных задач микробиологии является выявление численности микроорганизмов (**КОЕ** - колониеобразующих единиц) в том или ином субстрате. Однако универсальной среды, на которой бы выявлялись все существующие в данном субстрате микроорганизмы, нет. Немецкий ученый *Р. Кох* предложил относительно универсальную среду на основе мясного бульона, на которой хорошо развиваются микроорганизмы, использующие органические азотсодержащие соединения.

Позднее *С. Н. Виноградским* в практику микробиологии были введены *элективные*, или *избирательные*, среды, предназначенные для определенных групп микроорганизмов. Они составлены в расчете на предельно строгие условия, при которых должен развиваться только избранный микроорганизм и никакой другой. Основным принцип элективных сред - учет избирательных потребностей микроорганизма в специфических условиях развития. Зная физиологические особенности соответствующей группы микроорганизмов, можно подобрать не только химический состав среды, но и такие условия культивирования (активную кислотность среды, условия аэрации, температуру и др.), при которых создается лабораторная имитация экологической ниши естественных условий обитания. Элективные среды позволяют осуществлять биологические процессы в лаборатории и на производстве без предварительной стерилизации среды. Примером элективных сред могут служить среды для выделения азотфиксаторов, нитрификаторов. Эти среды применяют главным образом для выделения микроорганизмов из мест их природного обитания и получения их накопительных культур.

Накопительные среды были предложены голландским ученым *М.Бейеринком*. В них интересующий исследователя компонент среды дается в избытке, чтобы выяснить, какой микроорганизм или группа микроорганизмов его используют, поскольку именно он или они будут доминировать в этой среде.

Оптимальные среды предложил *А. А. Имшенецкий* для целлюлозоразрушающих микроорганизмов, *В. С. Буткевич* - для продуцента

лимонной кислоты *Aspergillus niger*. Основной принцип оптимальных сред заключается в создании наиболее благоприятных условий для избранных микроорганизмов внесением в среду различных стимулирующих рост добавок (витаминов, ростовых веществ, микроэлементов).

По составу среды подразделяются на две группы:

естественные (натуральные)

синтетические.

Естественными обычно называют среды, которые состоят из продуктов животного или растительного происхождения, имеющих сложный неопределенный химический состав. Это - различные части растений, животные ткани, солод, дрожжи, навоз, почва, вода морей, озер и минеральных источников. На естественных средах хорошо развиваются многие микроорганизмы, так как в них есть все компоненты, необходимые для роста. Однако среды с неопределенным составом малопригодны для изучения физиологии обмена веществ микроорганизмов. Естественные среды используют главным образом для поддержания культур микроорганизмов, накопления их биомассы и диагностических целей.

Синтетические - это такие среды, в состав которых входят в точно указанных концентрациях только известные химически чистые соединения. Синтетические среды бывают простыми и достаточно сложными по составу. Их широко используют для исследований, связанных с изучением обмена веществ микроорганизмов.

Питательные среды могут быть различной консистенции:

жидкие,

плотные,

полужидкие.

Плотные питательные среды используют для учета количества бактерий, выделения чистой культуры и других целей. Такие среды готовят из жидких, добавляя 1,5 - 2,5% агара или 10 - 15% желатины. При приготовлении полужидких сред вносят 0,1 - 0,2% агара.

Агар - это растительный коллоид, получаемый из некоторых морских водорослей. В его состав входят главным образом полисахариды, а также ничтожное количество азотистых веществ.

Желатина - кислый азотсодержащий продукт, добываемый при выварке костей, хрящей, сухожилий, чешуи рыб. Температура плав-

ления желатины (22 - 25 С) ниже температуры инкубации большинства микроорганизмов (30 - 37 С).

Плотными питательными средами служат также *гелевые пластины*, введенные в микробиологическую практику С. Н. Виноградским.

Для выращивания микроорганизмов, усваивающих органические формы азота, часто употребляют *мясо-пептонные среды*: мясо-пептонный бульон, мясо-пептонный агар и мясо-пептонную желатину.

1.12.2. Приготовление питательных сред

Мясо-пептонный бульон (МПБ). Для приготовления мясо-пептонных сред используют *мясной бульон*, который получают следующим образом: 500 г мелко изрубленного свежего мяса без костей, жира и сухожилий заливают в эмалированной кастрюле 1 л водопроводной воды, нагретой до 50 С, и оставляют настаиваться 12 ч при комнатной температуре или 1 ч при 50 - 55 С. Мясо отжимают, экстракт процеживают через марлю со слоем ваты, кипятят 30 мин для свертывания коллоидных белков и фильтруют дважды (первый раз через марлю с ватой, второй - через бумажный фильтр). Фильтрат доливают водой до 1 л, разливают в колбы, закрывают ватными пробками и стерилизуют при 120 С 20 мин. (пробки колб закрывают сверху колпачками из бумаги). Ватные пробки должны быть плотными, так как они служат фильтром, препятствующим проникновению бактерий из воздуха после стерилизации.

Мясной бульон может быть использован в любое время для приготовления соответствующих сред. Если их готовят сразу, то предварительная стерилизация мясного бульона не требуется.

Мясо-пептонный агар (МПА). К 1 л МПБ добавляют 15-20 г агара. Среду нагревают до растворения агара (температура его плавления - 100 С, затвердевания - 40 С, устанавливают слабощелочную реакцию среды 20%-ным раствором Na_2CO_3 и через воронку разливают в пробирки (приблизительно по 10 мл агара столбиком для последующего разлива по чашкам Петри и по 5 мл для получения скошенного агара - косяков).

При разливе агара необходимо следить за тем, чтобы края пробирок оставались сухими, иначе пробки прилипнут к стеклу. Пробирки со средой стерилизуют в автоклаве при 120 С 20 мин.

Мясо-пептонная желатина (МПЖ). В 1 л МПБ помещают 100 - 150 г желатины. Температура плавления желатины зависит от ее содержания в среде: в случае 10%-ной концентрации в среде она плавится при 24 С; в случае 15%-ной - при 25 С. В летнее время среды готовят, добавляя 15% желатины.

После растворения желатины при осторожном нагревании устанавливают слабощелочную реакцию среды (как для МПБ и МПА), кипятят 5 мин, затем охлаждают до 40 - 50 С, Взбитый с небольшим количеством воды яичный белок вливают в охлажденную желатиновую среду, хорошо взбалтывают и снова нагревают. Среда после выпадения белков в осадок становится прозрачной. Ее фильтруют в горячем виде через бумажный фильтр, разливают в пробирки и стерилизуют в кипятильнике Коха текучим паром, прогревая среду 3 раза по 30 мин каждые 24 ч.

Картофельный агар. Нарезают ломтиками 200 г очищенного и промытого водой картофеля, заливают 1 л водопроводной воды, варят 30 мин. Отвар фильтруют через вату и добавляют воду до первоначального объема. К полученной жидкости прибавляют 2% агара, кипятят до его расплавления и устанавливают нейтральную реакцию среды (рН = 7). Среду стерилизуют 20 мин при 1 атм.

1.13. Методы приготовления препаратов микроорганизмов для микроскопирования. Техника взятия культуры для приготовления препарата

Пробирку с культурой держат в левой руке почти в горизонтальном положении вблизи горелки. Обожженной в пламени бактериологической иглой из пробирки берут небольшое количество микробной массы. Перед взятием культуры правой рукой вынимают ватную пробку из пробирки, зажимая ее между мизинцем и ладонью, а края пробирки обжигают на пламени горелки. Иглу держат в правой руке, большим, указательным и средним пальцами.

Если культуру берут из жидкой среды, не следует сильно наклонять пробирку, чтобы не смочить ее края и пробку. Для взятия куль-

туры лучше пользоваться петлей. При взятии культуры края пробирки и пробку обжигают в пламени и закрывают пробирку.

Приготовление мазка. Препараты для микроскопических исследований готовят на специальных стандартных стеклах, которые заблаговременно тщательно очищают и обезжиривают. Для обезжиривания стекла используют смесь этилового спирта и серного эфира в соотношении 1:1 или натирают хозяйственным мылом и протирают до блеска. Хранят их сухими или в 95% этиловом спирте. Для приготовления мазка на поверхность предметного стекала стерильной петлей наносят каплю исследуемого материала и равномерно тонким слоем распределяют по поверхности стекла площадью 1,5-2 см². При приготовлении мазков из плотных питательных сред предварительно на предметное стекло помещают каплю стерильной воды, затем вносят в нее исследуемый материал и размазывают тонким слоем до получения мазка. Мазок высушивают при комнатной температуре и фиксируют или рассматривают сразу после нанесения на предметное стекло исследуемых клеток. Бактериологическую петлю перед и после использования прокалывают в пламени горелки. Исследование живых клеток микроорганизмов методами «раздавленной» и «висячей» капли.

Оба метода применяют для выявления подвижности клеток микроорганизмов, наблюдения за размножением, образованием и прорастанием спор, установления реакции микроорганизмов на химические соединения и физические факторы взаимодействия, изучения размера клеток, характера их расположения и определения запасных веществ клетки.

Препараты живых клеток рассматривают обычно с сухими системами микроскопа, слегка затемняя поле зрения; конденсор немного опускают, поступление света регулируют вогнутым зеркалом. Вначале пользуются малым увеличением. После того, как обнаруживают край капли, устанавливают объектив x40 или иммерсионный (x90). Более четкие результаты можно получить при микроскопии в темном поле.

Метод « раздавленной» капли. На чистое предметное стекло наносят каплю стерильной водопроводной воды. В нее вносят культуру и смешивают с водой. Накрывают каплю покровным стеклом так, чтобы под ним не образовывались пузырьки воздуха. Стеклойной

палочкой прижимают покровное стекло к предметному и удаляют избыток воды фильтровальной бумагой, поднося ее к краям покровного стекла. При просмотре приготовленного препарата под микроскопом с иммерсионным объективом на предметное стекло наносят каплю кедрового масла.

Метод «висячей» капли. Применяют для длительных наблюдений за клетками микроорганизмов. На стерильное покровное стекло наносят иглой негустую суспензию микроорганизмов, выращенных на жидкой питательной среде или подготовленных для данной цели в физиологическом растворе (0,5%-й раствор NaCl). Покровное стекло переворачивают и помещают на стерильное предметное стекло с лункой посередине так, чтобы капля свободно свисала над лункой. Для герметичности края лунки смазывают вазелином.

Работа с живыми культурами требует повышенной осторожности. Препараты, с которыми закончена работа, прежде чем вымыть, необходимо выдержать в дезинфицирующем растворе.

Приготовление фиксированных препаратов микроорганизмов. В микробиологии часто готовят фиксированные препараты. Их рассматривают под микроскопом окрашенными. Под фиксацией подразумевают такую обработку живого объекта, которая дает возможность быстро прервать течение жизненных процессов в нем, сохранив тонкую структуру. Фиксация нужна:

для того чтобы убить микроорганизмы в случае работы с патогенными формами микроорганизмов в целях безопасности;

в результате фиксации клетки прочно прикрепляются к стеклу, и мазок не смывается при обработке красками и водой;

для лучшего прокрашивания - мертвые клетки микроорганизмов лучше воспринимают краску.

Фиксация мазка. Проводят над пламенем горелки при исследовании формы клеток или при помощи химических соединений для исследования внутренней структуры клеток. В первом случае препарат три-четыре раза медленно проводят нижней стороной над пламенем горелки. Во втором используют хромовые соединения, формалин, осмиевую кислоту ацетон. Один из распространенных приемов фиксации - обработка препарата 96% спиртом или смесью равных объемов этилового спирта и эфира (жидкость Никифорова). Для этого препарат погружают на некоторое время в фиксирующую жидкость.

Окрашивание препарата. На мазок наносят несколько капель красителя. В зависимости от вида красителя и цели исследования продолжительность окрашивания меняется от 1 до 5 мин, в отдельных случаях до 3 мин и дольше. По окончании окрашивания препарат промывают водой, фильтровальной бумагой удаляют воду, подсушивают на воздухе. Существуют простые и дифференцированные методы окраски. При простой окраске используют какой-либо один краситель, например, метиленовый синий, фуксин, генциан фиолетовый в щелочных или карболовых растворах. На фиксированный мазок наносят несколько капель раствора красителя. Прокрашивается вся клетка. Препарат рассматривают под микроскопом, используя иммерсионное масло - капают его на окрашенный сухой мазок. Смотрят при увеличении $\times 40$ или $\times 70$.

При дифференцированной (сложной) окраске отдельные структуры клетки окрашиваются разными красителями. Для окрашивания микроорганизмов применяют кислые и основные красители. Первые вступают в реакцию с веществами основной, вторые - кислотной природы. Поскольку в белках есть основные (NH_2) и кислотные (COOH) радикалы, клеточные структуры хорошо окрашиваются и теми и другими красителями.

Из основных красителей наиболее часто в микробиологии применяют: красные - нейтральный красный, сафранин, фуксин, гематоксилин; синие - виктория, метиленовый синий; фиолетовые - генциан фиолетовый, кристаллический фиолетовый, метиленовый фиолетовый; зеленые - янус зеленый, метиленовый зеленый, малахитовый зеленый; коричневые - везувин, хризодин; черные - индулин. Кислые красители могут быть следующие: красные и розовые - кислый фуксин, эритрозин; черные - нигрозин; желтые - конго, пикриновая кислота, флуоресцин.

Для сложного окрашивания бактериальных клеток чаще всего применяют метод Грама. Используют последовательно растворы: генцианвиолета на 1-2 минуты, раствор Люголя на 1-2 минуты, фиксируют 96% спиртом 25 секунд. Затем мазок тщательно промывают и на препарат наливают раствор фуксина на 1-2 минуты. После высушивания препарат смотрят под микроскопом. Грамположительные бактерии окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрицательные - в красный.

1.14. Приготовление почвенной суспензии для посева. Техника посева на питательные среды

Среднюю почвенную пробу получают смешиванием отдельных образцов, количество которых зависит от микрорельефа, степени гетерогенности почвы и ее однородности в ботаническом отношении. Рекомендуют с площади 100 м² брать пробу из трех точек; с площади превышающей 100 м², - пяти точек по принципу конверта (четыре с точки по углам и одну - ближе к центру прямоугольника); с 1 га и более - из 15 точек. При исследовании пашни пробы берут с глубины всего пахотного слоя: при изучении микрофлоры почвенного профиля - по генетическим горизонтам (снизу вверх).

Почвенный образец берут буром, лопатой и ножом. В поле после взятия очередного образца эти предметы тщательно очищают, обрабатывают спиртом и фламбируют (обжигают). Укладывают образец в заранее подготовленную стеклянную широкогорлую стерильную банку или колбу, закрываемую пробкой или в стерильные пергаментные пакеты из плотной бумаги, взятой двойным слоем. На пакеты и банки наклеивают этикетки с указанием места, горизонта взятия образца и других сведений. Почвенные образцы анализируют в первые сутки или хранят в холодильнике. Для определения численности биомассы микроорганизмов прямым люминесцентным микроскопированием образцы до анализа замораживают. Почву освобождают от органических остатков, включений, корней.

Численность популяций микроорганизмов в почве обычно велика, поэтому для получения изолированных колоний необходимо приготовить

ряд последовательных разведений. Разведения готовят в стерильной водопроводной воде или в 0,85 %-м растворе NaCl (физиологическом растворе).

Одновременно с взятием навески для анализа из средней пробы отбирают 10-12г почвы для определения влажности, так как все расчеты численности микроорганизмов проводят на 1г абсолютно сухой почвы. Значительно больше микроорганизмов выявляется, если навеску поместить в фарфоровую чашку, увлажнить и растереть резиновым пестиком до пастообразного состояния. Этот прием дает

возможность разрушить почвенный агрегаты и десорбировать микроорганизмы с поверхности почвенных частиц.

Навеску почвы 10 г помещают в колбу на 250 мл с 90 мл стерильной водопроводной воды, встряхивают 10 минут, оставляют на 30 сек, чтобы отстоялись грубые частицы почвы. Затем готовят разведения, содержащие разные концентрации почвы.

Для приготовления разведений стерильную водопроводную воду разливают по 9 мл в стерильные сухие пробирки. Затем 1 мл исследуемой суспензии стерильной пипеткой переносят в пробирку с 9 мл воды - это первое разведение (10^1). Полученное разведение тщательно перемешивают и новой стерильной пипеткой отбирают 1 мл и переносят в новую пробирку - это второе разведение (10^{-2}). Таким же образом готовят последующие разведения. Степень разведения зависит от плотности изучаемых популяций микроорганизмов.

Для приготовления каждого разведения следует обязательно использовать новую пипетку, так как пренебрежение этим правилом приводит к получению ошибочного результата.

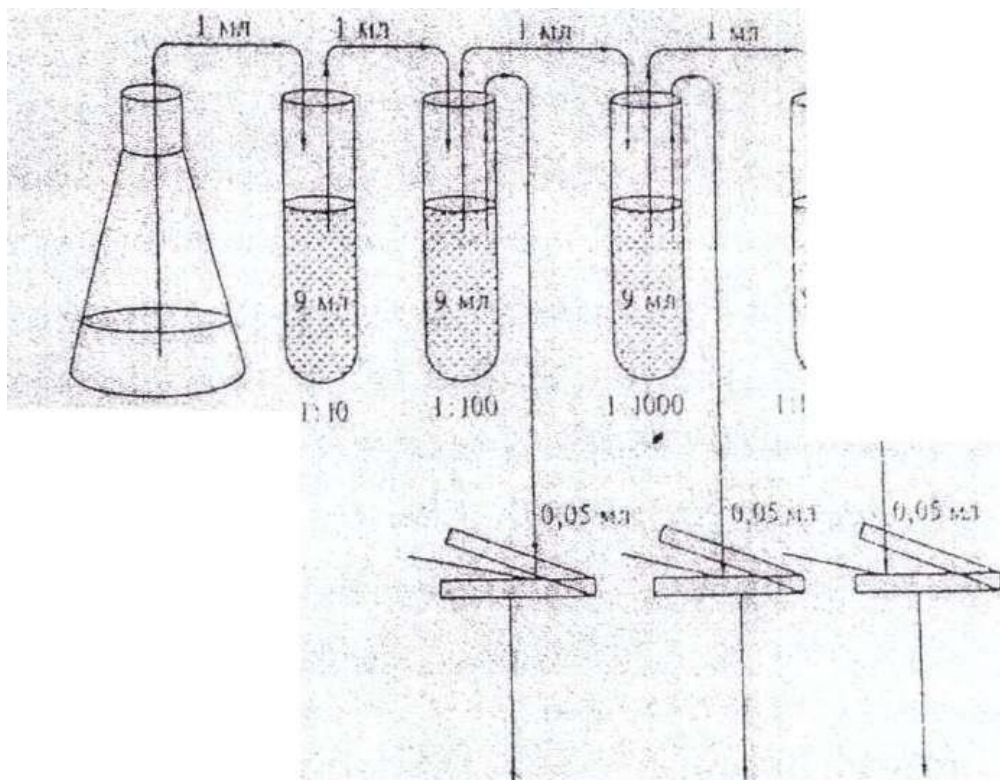


Рис. 49. Схема проведения разведения для посева почвенной суспензии

Посев можно производить на плотные и жидкие питательные среды. На твердые питательные среды в чашки Петри посев проводят поверхностно. Для этого на поверхность агаровой среды в чашку Петри стерильной пипеткой наносят 0,1 - 0,05 мл почвенной суспензии из соответствующего разведения. Затем стеклянным шпателем растирают каплю до суха по всей поверхности чашки. При этом открытую чашку Петри держат вертикально около пламени горелки. У Их каждого разведения делают 3-4 параллельных высева в чашки.

При глубинном посеве: суспензию вносят в чашки Петри, а затем заливают ее расплавленным и охлажденным до 45 градусов питательным агаром и перемешивают с ним.

При посеве в жидкую среду из каждого разведения берут по 1 мл суспензии и переносят в жидкую среду, разлитую по пробиркам или колбам. Чашки переносят в термостат при температуре 28- 37 С на 24-48 часов, а затем выдерживают 1-2 суток при комнатной температуре.

При определении количества бактерий в почве пахотного слоя для посева на МПА, среде Чапека используют разведение 10^{10} . Для почв нижних горизонтов соответственно используют разведение на порядок меньше, чем для поверхностных слоев.

Сначала определяют количество выросших в чашке колоний. Затем переводят пересчет на 1 г абсолютно сухой почвы. Лучшее разведение, из которого вырастает от 30-50 до 100-150 колоний микроорганизмов.

. Результаты параллельных высевок суммируют и определяют среднее число колоний.

. Количество клеток в одном грамме сырой почвы определяют по формуле:

$$M = \frac{a \times 10^n}{V}$$

где M- количество клеток (КОЕ) в 1 г сырой почвы; а - среднее число колоний; V - объем суспензии взятой для посева; 10^n - коэффициент разведения.

Для учета микроорганизмов в 1 г абсолютно сухой почвы число клеток в 1 г сырой почвы делят на количество абсолютно сухой почвы, содержащейся в 1 г сырой почвы.

$$M = \frac{a \times 10^n}{V \times W}$$

где W- вес абсолютно сухой почвы, содержащейся в I г сырой почвы.
100 - % влажности почвы

$$W = \frac{100 - \% \text{ влажности}}{100}$$

1.15. Изучение морфолого-культуральных признаков микроорганизмов

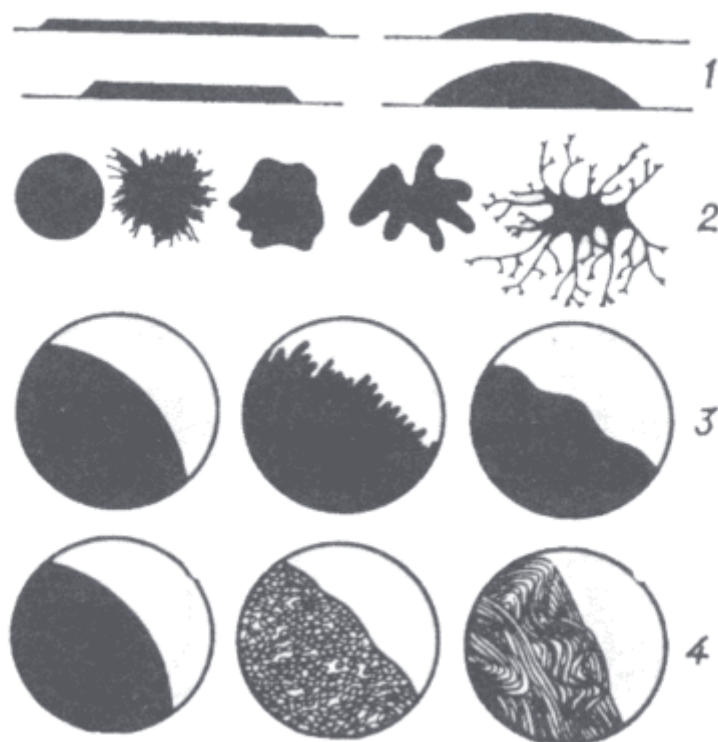
Культуральные признаки микроорганизмов по строению их колоний

Признаки, выявляемые при развитии культур микроорганизмов на питательных средах, носят название **культуральных**. Чистые культуры микробов, относящихся к различным видам, чаще всего по-разному растут на питательных средах. Одни микроорганизмы могут равномерно развиваться по всей среде, например в МПБ, образуя муть, другие формируют на поверхности плёнку или осадок на дне. В результате выделения продуктов жизнедеятельности микробов, среды могут окрашиваться в разные цвета, приобретать запах и т. д.

Из культуральных признаков микроорганизмов наиболее существенным является **строение колоний**.

Колонии - это видимые простым глазом на поверхности субстрата скопления огромного количества особей микроорганизмов одного и того же вида. Споры или отдельные клетки микробов, попадая при посеве на определённое место плотного субстрата, не могут как в жидкости рассеиваться по всей среде, а прорастают и размножаются на одном и том же месте, образуя колонии.

Колонии различных микроорганизмов резко отличаются друг от друга. Но и внутри групп отдельные виды образуют характерные колонии, что по ним можно определить вид микроорганизма, например **Bacillus mycoides**. На рис. 50 представлены различные типы бактериальных колоний.



*Рис. 50. Морфологическое и структурное разнообразие колоний.
 1 – формы выпуклости колоний над поверхностью питательной среды;
 2 – очертания колоний; 3 – характер края колоний;
 4 – внутренняя структура колоний*

При макроскопическом изучении колонии (невооруженным глазом) чашку просматривают сначала со стороны дна в проходящем свете, а затем со стороны крышки в отраженном свете. Для описания характера роста бактерий отбирают чашки с отдельно расположенными колониями. При наличии в исследуемом материале нескольких видов бактерий в чашках вырастают колонии различных типов, отличающихся между собой по ряду признаков. В этом случае отбирают изолированно расположенные колонии отдельных типов, обводят их со стороны дна восковым карандашом, нумеруют и исследуют.

Исследование ведется по определенной схеме. Так, колонии бактерий описывают, отмечая следующие признаки:

Размер (колония крупная > 10 мм в диаметре, средняя 1 – 10 мм, мелкая, точечная < 1 мм).

Профиль (колония выпуклая, конусовидная, плоская, кратерообразная, погруженная в среду).

Край колонии (ровный, волнистый, зубчатый, бахромчатый).

Цвет.

Блеск и прозрачность.

Консистенция (тестообразная, густая, слизистая, тягучая, жидкая, клейкая, кожистая). Ее определяют посредством прикосновения.

Поверхность (гладкая, бугристая, складчатая, морщинистая, с концентрическими кругами, радиально исчерченная).

Вид колонии под микроскопом (зернистая, однородная, исчерченная).

Микроскопическое изучение колоний проводят или с помощью лупы, или непосредственно под микроскопом при малом увеличении. При изучении под микроскопом чашку с посевом помещают на предметном столике дном вверх. При микроскопическом изучении хорошо выявляется строение колоний - характер краев и структура. Структура колонии может быть гомогенная или аморфная, мелко - и грубозернистая, волокнистая, однородная и неоднородная.

Культуральные признаки микроорганизмов по их подвижности. Признак подвижности имеет особое значение при дифференциации возбудителей бактериальных болезней. Для его определения рекомендованы следующие методы.

Небольшое количество исследуемой культуры переносят петлей в каплю стерильной воды на покровное стекло, которое затем кладут каплей вниз на предметное стекло со шлифованными лунками. Это способ - «наблюдение в висячей капле».

Из свежей культуры готовят простой препарат и рассматривают его при среднем увеличении (объектив x20 или x40) и хорошем освещении. При этом микроскоп фокусируют на край капли и передвигают препарат к его середине. Вблизи краевой зоны подвижность бактерий видна лучше всего, причем подвижными можно считать только те бактерии, которые совершают направленные или вращательные движения.

1.16. Морфология, строение, размножение, систематика и значение почвенных микромицетов

Грибы (Fungi) - группа растительных эукариотных гетеротрофных микроорганизмов, лишенных хлорофилла. В почве присутствует огромное количество грибов, так как они устойчивы к факторам внешней среды лучше, чем другие организмы. Они хорошо развива-

ются в условиях высокой кислотности почвы (рН 3-4), при которой бактерии прекращают свою жизнедеятельность. Численность их колеблется в зависимости от типа почвы. Наибольшее количество грибов наблюдается в верхних горизонтах почв и в лесных подстилках. С глубиной количество грибов резко уменьшается, так как почвенные грибы - аэробы и развиваются на поверхности субстрата. Они устойчивы к высыханию, но для развития предпочитают влажную среду.

Некоторые грибы - облигатные паразиты человека, животных и растений (патогенные и фитопатогенные). Они не способны расти и развиваться в почве, но находятся там, в виде покоящихся форм и спор. Наиболее многочисленны в почве сапрофитные грибы, которые играют существенную роль в почвообразовательных процессах.

Гетеротрофный тип питания обуславливает ими активное разложение растительных и животных остатков, благодаря чему они играют важную роль в образовании гумусовых веществ почвы. Участвуют грибы также и в превращениях азота, играют роль в структурообразовании почвы, агрегируя почвенные отдельности.

В процессе жизнедеятельности грибы выделяют в почву физиологически активные вещества - ферменты, витамины, стимуляторы роста растений, антибиотики, токсины, влияющие на жизнь микроорганизмов и высших растений.

Особенности строения грибов.

При всем многообразии отдельных представителей большинство почвенных грибов имеют общее строение. Их вегетативное тело организовано в виде мицелия или грибницы. Это тонкие ветвящиеся нити или гиф, пронизывающие субстрат. Такое строение увеличивает общую поверхность вегетативного тела, через которую осмотическим путем происходит поступление питательных веществ внутри клеток.

Клетки грибов размером 3- 10 мк в диаметре имеют:

прочную ригидную оболочку;

протоплазму, в которой полностью отсутствуют пластиды;

дифференцированное ядро одно или несколько;

ядрышки;

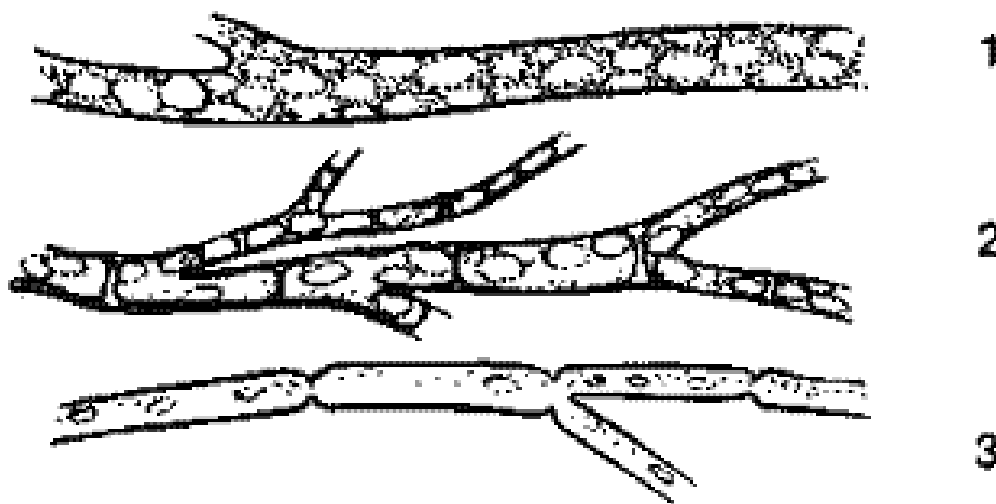
вакуоли;

различные включения (капельки жира, гликоген, волютин и др.).

По характеру строения мицелия грибы делятся на низшие и высшие.

Низшие - имеют мицелий, не разделенный регулярно встречающимися перегородками. Клеточные стенки этих грибов состоят в основном из целлюлозы.

У высших грибов гифы имеют на приблизительно равных расстояниях поперечные перегородки - септы. Перегородки образуются в виде периферических выростов клеточной стенки и обычно не срастаются в центре. В состав клеточных стенок этих грибов входит хитин.



*Рис. 51. Вегетативные гифы мицелия грибов:
1 – несептированные гифы (не имеют перегородок);
2 – септированные гифы (разделенные на клетки);
3 – гифы с неполными перегородками*

Грибы размножаются вегетативным, бесполом и половым путями. Однообразные по строению мицелия, они чрезвычайно разнообразны по строению органов размножения.

Вегетативное размножение происходит с помощью спор, образовавшихся путем распада мицелия на отдельные клетки. Это оидии или артроспоры (образуются при расчленении гиф поперечными стенками), и хпалидоспоры (покоящиеся клетки, окруженные толстой оболочкой, образуются из отдельных участков мицелия). Различное спороношение почвенных микромицетов представлено на рисунке 52.

Специальными органами бесполого размножения микромицетов являются спорангии с эндогенными (внутренними) спорами или конидиеносцы с конидиями - наружными экзоспорами.

Половое размножение осуществляется путем слияния двух ядер в одной клетке или слияния двух специальных половых клеток - гамет. В результате полового процесса образуется особая клетка - зигота, которая прорастает в аски (сумки) или базидии, где созревают споры. При образовании аско- или базидиоспор происходит редукционное деление ядра.

Отдел грибов (Fungi.) разделяется на пять классов. К классу простейших грибов (Archimycetes) относятся преимущественно паразитные формы.

К классу фикомицетов (Phycomycetes) относятся низшие грибы с нечленистым мицелием. Типичные представители - виды родов *Mucor* и *Rhizopus*. Сильно разветвленный мицелий этих грибов образует войлоковидный налет на питательной среде. На отдельных веточках мицелия образуются ножки - спорангиеносцы с шаровидными спорангиями наполненными эндоспорами. Когда оболочка спорангия лопается, споры высыпаются наружу.

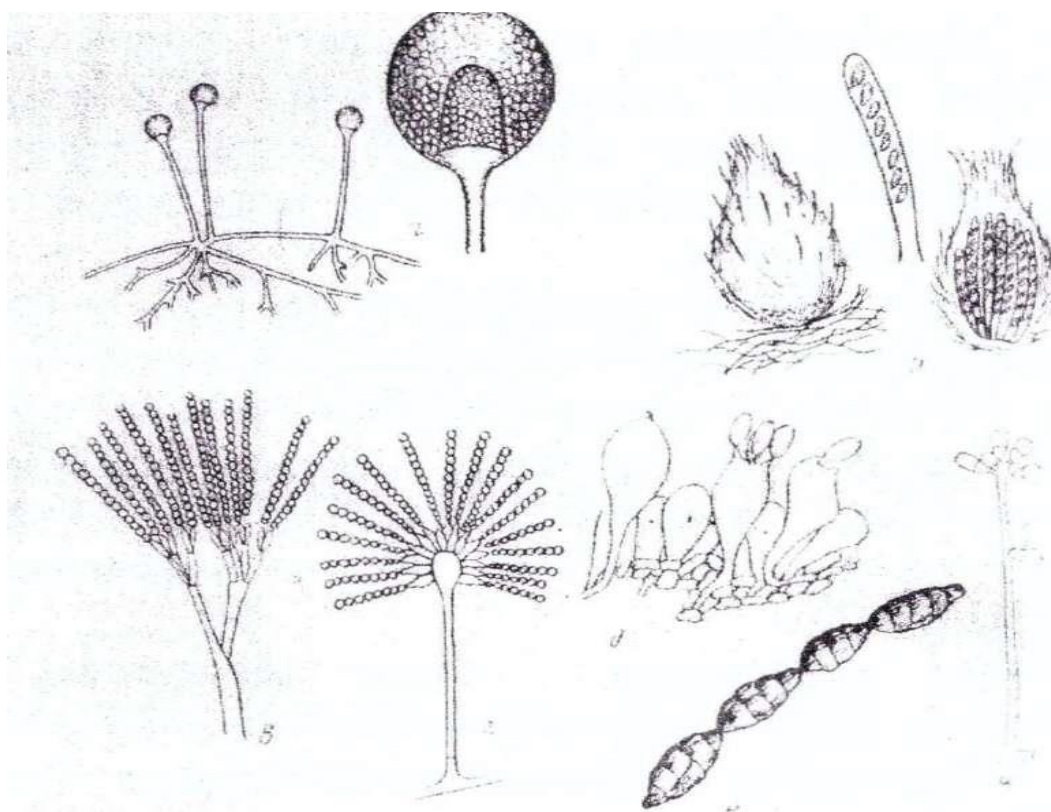


Рис. 52. Различное спороношение почвенных микромицетов:
 а – спорангии *Rhizopus nigricans*; б – плодовые тела и сумки *Sordaria*;
 в, г – конидиеносцы *Penicillium* и *Aspergillus*; д – базидии и базидиоспоры;
 е, ж – конидии *Alternaria* и *Trichothecium*

Класс сумчатых грибов (Ascomycetes) включает грибы, которые имеют многоклеточный мицелий. В результате полового процесса (слияния двух ядер) в одной клетке образуется сумка - аск со спорами. Органы бесполого размножения - экзогенные споры - конидии.

К сумчатым грибам относятся два важнейших рода почвенных грибов

Penicillium и *Aspergillus*, образующие преимущественно конидиальные спороношения. В этот класс входят и почвенные дрожжи.

У представителей рода *Aspergillus* на конидиеносцах образуются вздутия, на которых вырастают палочковидные клетки - стеригмы: на их концах развиваются цепочки конидий.

У грибов, относящихся к роду *Penicillium* (кистевик), конец конидиеносца двукратно вилкообразно ветвится, образуя стеригмы. свободные конусы, которые отшнуровывают конидии. Расположение стеригм различно у разных представителей этих родов грибов и служит систематическим признаком.

К классу базидиальных грибов (Basidiomycetes) относится огромное количество видов, среди которых встречаются сапрофитные и паразитные формы. Характерная особенность базидиальных грибов - экзогенное развитие спор на особых образованиях - базидиях. Сюда относятся шляпочные грибы - подстилочные сапрофиты, трутовики, растущие на деревьях и разрушающие их и многие паразиты растений (головневые и ржавчинные грибы).

Широко распространены в почвах представители класса несовершенных грибов, которые размножаются исключительно бесполым путем. Это размножающиеся конидиями представители родов *Alternaria* и *Trichothecium*.

1.17. Морфология, распространение и значение почвенных простейших

Простейшие (Protozoa) - многочисленная и повсеместно распространенная в почвах группа одноклеточных эукариотных микроорганизмов. Известно 25-30 тыс. видов простейших, в почве встречается около 300 видов. Размеры их 5-20 микрометров.

По форме простейшие бывают шаровидные,

сплюснутые,
овальные,
разветвленные.

Они легко меняют форму - пластичны.

Количество этих организмов в почве резко колеблется в зависимости от многих причин: увлажненности почв, степени их структурности, реакции почвенного раствора, концентрации солей. Большое содержание органического вещества создают благоприятные условия для развития простейших. Особенно их много в ризосфере растений.

Почвенные простейшие имеют ряд специфических особенностей, отличающих их от родственных форм, обитающих в воде.

они имеют малые размеры (в 5-10 раз меньше водных особей);
все почвенные простейшие аэробные, мезофильные организмы;
их жизнедеятельность может протекать в широких пределах рН, хотя оптимальные значения близки к нейтральным;

инцистирование - при наступлении неблагоприятных условий многие простейшие могут выделять вокруг своего тела особую оболочку и превращаться в покоящуюся цисту.

эксцистирование - сбрасывание оболочки и восстановление активного образа жизни простейшего.

Наиболее широко распространенным типом размножения простейших является деление клетки пополам. У большинства простейших имеется размножение половым путем, оно осуществляется периодически, после многократно повторяющегося простого деления.

Простейшие играют в почвах активную роль. Питаясь почвенными микроорганизмами (в основном бактериями), они влияют на их численность, поддерживая их в физиологически активном состоянии, способствуют минерализации органического вещества почвы. Они используются как индикаторы при поиске некоторых металлов.

Основные представители почвенных простейших.

Почвенные простейшие принадлежат к трем классам:

- 1) саркодовым (**Sarcodina**)
- 2) инфузориям (**Ciliata**)
- 3) жгутиконосцам (**Mastigophora**).

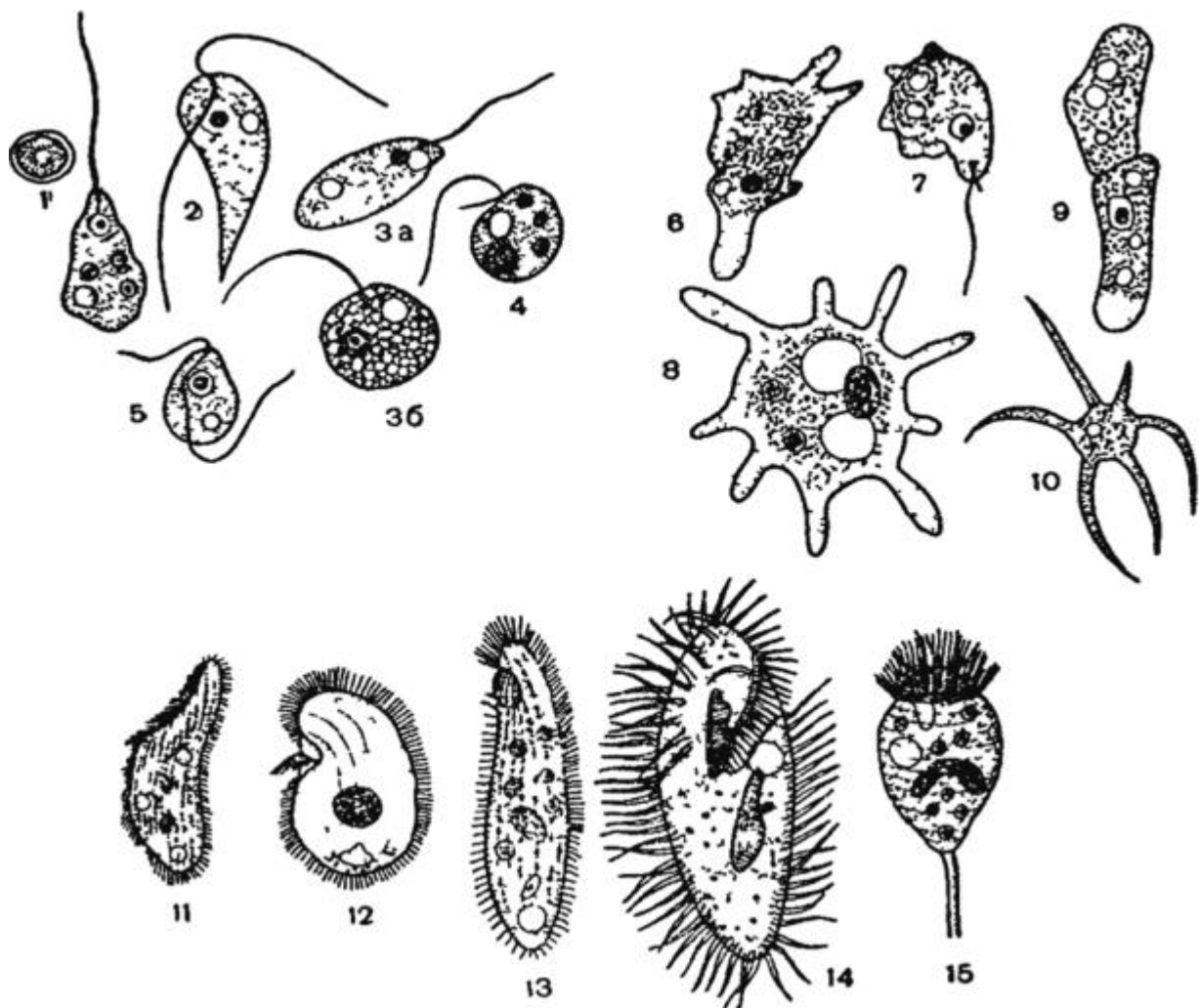


Рис. 53. Почвенные простейшие (по Ю. Г. Гельцеру, 1964):
 1 – *Mastigamoeba invertens* – почвенная форма с цистой; 2 – *Cercobodo crassicauda*; 3 – а, б – *Oicomonas terma* – разные формы; 4 – *Monas* sp.;
 5 – *Bodo lens*; 6 – *Vahlkampfia (Amoeba) albida*; 7 – *Naegleria bistadiales*;
 8 – *Amoeba gorgona*; 9 – *Amoeba Umax*; 10 – *Astramoeba radiosa*;
 11 – *Amphileptus* sp.; 12 – *Colpoda* sp.; 13 – *Balantiophorus elongates*;
 14 – *Gonostomium (Oxytricha) affine*; 15 – *Vorticella microstoma*

Класс саркодовых [Sarcodina] включает формы простейших, у которых органами движения и захвата пищи служат псевдоподии. В почве обитают корненожки - голые и раковинные амебы. Размеры от 20 до 65мкм. Характерная черта - непостоянная форма тела.

Цитоплазма, как правило, дифференцирована на экто- и эндоплазму. В эндоплазме содержится ядра, пищеварительная и сократительные вакуоли различные включения. Обычно при неблагоприятных условиях эти организмы инцистируются, переходя в стадию покоя.

Раковинные амёбы (тестациды) преимущественно сапрофаги. Часть их тела заключена в панцирь, или раковину. Через отверстие (устье) псевдоподии (выросты) вытягиваются наружу, а раковина играет защитную роль. Классификация раковинных амёб основана на строении панциря, который имеет своеобразную форму. При делении часть цитоплазмы выдвигается и вновь покрывается новой раковиной. Туда же переходит и одно из ядер, образовавшихся при делении. Затем новая клетка отшнуровывается от материнской.

Самая высокая численность раковинных амёб отмечена в кислых лесных почвах под хвойными лесами. Её почве тестациды представлены главным образом видами рода *Plagiourixis*.

Инфузории (ресничные, *Ciliata*) - многочисленная и прогрессивно функционирующая группа простейших. Клетки их более крупные, чем у амёб и жгутиконосцев. Имеют многочисленные реснички, которые расположены по всей поверхности тела. Они сгруппированы в продольные или спиральные ряды. Клетка имеет сложное строение. Снаружи она одета тонкой оболочкой - пилликулой, которая позволяет сохранять постоянную форму. Цитоплазма дифференцирована на экто- и эндоплазму; есть два типа ядер - макро- и микронуклеус. Их может быть по несколько в одной клетке. Имеются пищеварительные и сократительные вакуоли, различные включения, пигментные зерна. У ползающих форм цилиат различаются спинная и брюшная сторона, а у прикрепленных радиальная симметрия.

Почвенные инфузории относятся к подклассам *Holotricha* (*Colpoda paramaecium*) с равномерным распределением ресничек по всей клетке. У *Spirotricha* со спиральными рядами ресничек от заднего конца клеток к ротовому отверстию (*Stylonichia*). У *Peritricha* ротовая ямка окружена двумя рядами редуцированных ресничек.

Специфична фауна цилиат (инфузорий), населяющих прибрежные пески. Все они имеют удлиненное червеобразное тело, часто плоское. Ресничный аппарат хорошо развит, реснички сосредоточены на той стороне, которой клетка прикрепляется к частичкам песка и удерживается от вымывания. Эти инфузории развиваются обильно там, где в поверхностных горизонтах много одноклеточных водорослей, которые служат им пищей.

Жгутиконосцы (*Mastigophora*, *Flagellata*) - характеризуются наличием жгутиков. Есть виды, содержащие хлорофилл и способные

к фотосинтезу. Это растительные жгутиконосцы, или фитомастигины. Они занимают промежуточное положение между растениями и животными. Типичный представитель - *Euglena viridis*, эвглена зеленая. В почвах встречаются также зеленые *Chlamydomonas*, бурые *Cryptomonas*. желтые *Ochromonas*. Представители эвгленовых могут менять тип питания на осмогрофный при потере хлорофилла. Они организмы со смешанным типом питания ~ миксотрофы.

Бесцветные жгутиконосцы - сапротрофы (питаются мертвым растительным материалом). Они широко распространены в почвах и представлены родами *Vodoo* и *Monas*, Есть формы и с голозойным типом питания (заглатывание оформленных частиц). Это представители родов *Monas*, *Vodoo*, *Cercomonas*. *Oicomonas*.

Глава 2. ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ

Экология почв или экологическое почвоведение — междисциплинарное научное направление, изучающее весь спектр участия различных факторов почвообразования в формировании, динамике и эволюции почв и всю совокупность экологических функций почв с ответным воздействием на почвообразователи и поддержанием их функционирования и развития. А также разрабатываемое на их основе учение о сохранении почв.

Понятие «экология почв» давно используется почвоведомы и другими специалистами. Он краток и ясен, что облегчает междисциплинарные контакты и взаимосвязи науки о почве. Долгое время оно ассоциировалось с учением о факторах почвообразования и освещалось в изданиях по географии почв и общему почвоведению, однако в последние десятилетия в связи с разработкой нового междисциплинарного направления — учения о экологических функциях почв, активно изменяющих сами почвообразующие факторы, — появилась необходимость в расширении понятия экологии почв и объединении под его эгидой обоих названий. В настоящее время термин экология почти всегда сопрягается с проблемами охраны окружающей среды как сложной планетарной системы. Таким образом, суммарно экология почв (интегральная экология почв) оказывается состоящей из трех взаимосвязанных блоков — учения о факторах почвообразования (факторная экология или собственно экология почв), учения о почвенных экофункциях и учения о сохранении почв как незаменимого компонента биосферы.

Экологические аспекты почвенной биологии включают проблемы взаимодействия между живой частью экосистемы и средой обитания между отдельными популяциями биотического сообщества. С экологических позиций почва является средой жизни, местообитанием почвенных микроорганизмов. Поэтому жизнедеятельность микроорганизмов не только напрямую зависит от таких свойств почвы как влажность, аэрация, реакция почвенного раствора, температура, наличие доступных форм элементов питания, но и микроорганизмы существенно влияют на формирование многих свойств почвы, которые представляют несомненный практический интерес для земледельца.

Прежде всего, следует отметить, что микроорганизмы разлагают соединения *углерода*, содержащиеся в растительном опаде, плазме отмерших микроорганизмов и в останках почвообитающих животных. Они участвуют в разложении крахмала, пектина растительной ткани, следствием чего является ее размягчение и распад на отдельные клетки. Почвенные микроорганизмы осуществляют также разложение целлюлозы, синтез и минерализацию гумусовых веществ, одним из главных компонентов которых является углерод.

При непосредственном участии микроорганизмов в почве происходят превращения соединений *азота*. Почвенные микроорганизмы осуществляют фиксацию молекулярного азота из воздуха и переводят его в сложные органические соединения. После их разложения этот азот становится доступным для питания растений. В симбиозе с бобовыми культурами в почве развиваются клубеньковые бактерии, которые в зависимости от условий их жизнедеятельности могут дополнительно накапливать от 30 до 250 кг/га азота в год. Микроорганизмам принадлежит ведущая роль в процессах аммонификации, нитрификации и денитрификации соединений азота.

Микроорганизмам принадлежит ведущая роль в превращениях в почве соединений *фосфора, серы, железа, марганца, алюминия и микроэлементов*. Микроорганизмы способны растворять фосфаты железа и алюминия, а также соли фитиновой кислоты (фитаты наиболее распространенные органофосфаты почв). Большое влияние фосфорное питание растений оказывают микоризные грибы - симбионты корневых систем.

Сера в почвах претерпевает разнообразные биологические и химические превращения, переходя из неорганических соединений в органические и обратно. При разложении растительных и животных остатков микроорганизмами освобождаются серосодержащие аминокислоты, тиоспирты, тиофенолы, тиоэфирсы и др.

Железо входит в состав живых клеток всех растений и животных, содержится в молекулах ферментов и участвует в кислородном обмене. Микроорганизмы участвуют в превращениях железа прямо (окисление) и косвенно (путем создания определенного окислительно-восстановительного потенциала и рН среды).

Соли марганца обладают высокой подвижностью (и, соответственно, доступностью растениям) только в кислых почвах. В сухих

степенях в условиях нейтральной или слабощелочной среды соли марганца становятся доступными для растений после их окисления бактериями, грибами и диатомовыми водорослями.

Алюминий в земной коре занимает третье место после кислорода и кремния, а среди металлов - первое. Его соединения подвижны в кислых почвах и малоподвижны в слабощелочной и нейтральной средах. В процессах мобилизации алюминия участвуют агрессивные продукты микробного синтеза, а также гумусовые кислоты. Образующиеся алюмоорганические соединения широко распространены в почвах.

Почвенные микроорганизмы участвуют в превращениях всех без исключения элементов, которые имеются в земной коре. В жизнедеятельности микроорганизмов важное место принадлежит микроэлементам. Так, молибден входит в состав ферментов азотного цикла - нитрогеназы и нитратредуктазы, медь - в состав ферментов оксидаз, кобальт - в витамин *B₁₂*. Бор влияет на азотфиксацию клубеньковых бактерий, азотбактерий, цианобактерий и стимулирует развитие многих грибов. Разложение соединений мышьяка, попавшего в почву в составе пестицидов, происходит только благодаря деятельности почвенных грибов и бактерий.

2.1. Классификация экологических функций почв



Рис. 54. Классификация функций почв

БИОГЕОЦЕНОТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ПОЧВЫ



Рис. 55. Функции почв как компонента биогеоценоза

- Функции почвы, обусловленные ее физическими свойствами.
- Функции почвы, обусловленные ее химическими и биохимическими свойствами.
- Функции почвы, обусловленные ее физико-химическими свойствами.
- Информационные и целостные биогеоценотические функции почв.
- Функции почвы, обусловленные ее физическими свойствами
- Функции почвы, обусловленные ее физическими свойствами, выделены в группу физических биогеоценотических экологических функций почвы. В данной группе выделяют следующие функции.
- Жизненное пространство (среда обитания).

- Жилище и убежище.
- Опорная функция (механическая опора).
- Функция сохранения и депо семян и других зачатков.

Почва является жизненным пространством для растений, микроорганизмов и животных. В почве проходит ранний цикл развития подавляющей части растений, а во взрослом состоянии с почвой непосредственно взаимодействуют их подземные органы. Органическое вещество корней составляет от 20-30 до 90 % по отношению к общей фитомассе. Однако следует учитывать, что в различных природных зонах абсолютное и относительное содержание корней отличается. Наиболее значительные запасы корней во влажных тропических лесах, наименьшие - в пустынях. А отношение корней к фитомассе растений по зонам изменяется по-другому. Больше всего корневых систем находится в почвах тундровой и степной зон.

Также наблюдаются различия в концентрации корней по профилю почвы и изменение глубины проникновения корневых систем с севера на юг. Глубина проникновения корневых систем в почву в значительной степени зависит от ее температуры (наличие мерзлоты), влажности, плотности и объемного веса.

Активно используют почву как среду обитания различные микроорганизмы. Наиболее многочисленны в почве бактерии, актиномицеты, грибы, в меньшей мере представлены водоросли. В состав почвенных микроорганизмов входят также неклеточные формы (бактериофаги, вирусы), а также некоторые микроскопические животные.

Каждому почвенному типу свойствен свой характерный микробный состав. Лимитирующим фактором распространения микроорганизмов в почвенном профиле с севера на юг является, прежде всего, температурный режим. Хотя некоторые бактерии, например *Bac. megaterium*, *Bac. mes-entericus*, *Azotobacter*, не проявляют адаптационной реакции к температурным условиям.

Микробное население почвы четко дифференцировано по профилю. Наибольшее количество микроорганизмов приурочено, как правило, к верхним гумусированным и хорошо прогреваемым горизонтам. Жизнедеятельность водорослей зависит от освещенности почв.

Сезонные колебания активности микроорганизмов обусловлены временной динамикой почвенно-климатических условий (температура, влажность).

Почва служит также жизненным пространством и для многих животных. Из беспозвоночных в почве живут простейшие, плоские и круглые, а также кольчатые черви, немертины, моллюски, тихоходки, первичнотрахейные, членистоногие. В тот или иной период жизни в почве обитает подавляющая часть насекомых - более 90 %. Позвоночные представлены амфибиями, рептилиями, млекопитающими.

Благодаря своему сложному строению почва выступает как разного типа среда для организмов различного размера. Физиологически наиболее мелкие животные почвы остаются водными организмами. Для них наибольшее значение имеют динамика водного, температурного и солевого режима почв и отчасти размеры полостей в разных горизонтах. При значительном увлажнении почвы они обитают в гравитационной воде, в засушливые периоды не прекращают активной жизни в пленочной воде.

Для немного более крупных организмов почва как среда представлена совокупностью ходов и полостей, передвижение по которым аналогично передвижению по поверхности твердого субстрата. Для этих животных, объединяемых в группу *Microarthropoda*, мелких клещей, ногохвосток, мелких жучков и их личинок и т. п. наибольшее значение имеет характер порозности среды, ее водный и температурный режим, распределение остатков организмов и гумуса.

Более крупные животные - дождевые черви, личинки ряда жуков, многоножки и др. - в целом в большей степени зависят от всей совокупности свойств почвы, т. к. средой обитания для них является вся почва в целом.

Сущность функции «жилище и убежище» заключается в том, что почва предохраняет многие живые организмы от переохлаждения и перегрева, защищает от хищников, обитающих на поверхности земли. Связано это, прежде всего, с тем, что температура и влажность воздуха в почве подвержены менее резким колебаниям, чем на поверхности. Особенно ясно эта особенность проявляется в экстремальных условиях - в тундре, пустыне и т. п.

Благодаря опорной функции почв растения могут сохранять вертикальное положение, быть устойчивыми к ветровалам и противо-

действовать силе тяжести. От этой функции зависит вертикальная ориентация растений, а в ряде случаев и структура фитоценоза.

Функция почвы «депо семян и других зачатков» играет важную роль во многих биоценологических процессах (заращение вырубок, пожарищ). В силу отсутствия резких перепадов температур и влажности в почве сохраняются в течение определенного времени цисты, споры многих организмов и яйца беспозвоночных. Благодаря этому в почвах могут существовать виды, имеющие древнее происхождение.

Одной из наиболее важных функций почвы является «почва - источник питательных элементов и соединений». Изучение этой функции в основном проводится в рамках агрохимических исследований.

Почва является источником таких минеральных веществ, как азот (аммонийные и нитратные ионы), фосфор (моно- и дифосфаты), калий, кальций, магний, сера, железо, марганец, медь, молибден, бор, цинк и др.

Количественный и качественный химический состав почв весьма разнообразен. Необходимо также учитывать то, что растения предъявляют вполне определенные требования к доступности для них вещевых ресурсов. В результате длительной эволюции произошла взаимная подгонка почв и поселяющихся на них фитоценозов. Как правило, в антропогенных ландшафтах эта гармония нарушается.

Важными факторами оптимального питания растений являются:

1. достаточное количество всех основных элементов питания;
2. доступность этих элементов;
3. благоприятные условия поступления (раствор, рН);
4. благоприятное соотношение доступных элементов.

Сущность функции почвы «депо влаги, элементов питания и энергии» состоит в том, что почва имеет резервы названных компонентов, которые могут использоваться организмами при израсходовании наиболее легкодоступных запасов. Почвенное депо образует соединения, законсервированные в аморфных, кристаллических формах и скоагулированных гумусовых кислотах, включает подвижные соединения и влагу в глубоких горизонтах и др. Наличие депо обеспечивает существование организмов, несмотря на периодически возникающие перерывы в поступлении этих компонентов. Это залог устой-

чивого почвенного плодородия и поддержания необходимых условий существования живых организмов.

Функция почвы как стимулятора и ингибитора биохимических и других процессов обусловлена тем, что в течение жизнедеятельности растений, микроорганизмов и животных, а также после их отмирания в почву поступают разнообразные продукты метаболизма - аминокислоты, белки, витамины, спирты, кислоты и др., которые могут стимулировать или угнетать жизнедеятельность живых организмов. Под действием внеклеточных ферментов, выделяемых корнями органических кислот (яблочной, щавелевой, янтарной и др.) происходит высвобождение элементов питания из нерастворимых органических веществ, их растворение и усвоение. При этом может происходить изменение значения рН почвенных растворов, от которого зачастую зависит оптимальное развитие многих живых организмов.

Данная функция тесно зависит не только от характера метаболитов живых организмов, поступающих в почву, но и от динамики других ее компонентов. Например, большое значение имеет изменчивость влажности почвы, существенно влияющей на динамику метаболитов, поступающих в нее.

Биохимические взаимовлияния касаются не только растений и микроорганизмов, о чем говорилось выше, но и почвообитающих животных. Выделяемые в среду продукты внешней секреции обладают различным действием: привлечение самцов или самок; роль ориентиров при добывании пищи; метка территории; сигнал тревоги, бегства, активной обороны; химические средства защиты от врагов, благодаря отталкивающему запаху, раздражающим и ядовитым свойствам.

Основной механизм первой функции почв - адсорбция коллоидами почвы газов, жидкостей, особенно воды, молекул и ионов веществ, поступающих в почву различными путями. Также здесь имеет место механическое удерживание в порах частиц суспензий и эмульсий и химическое поглощение их почвой при образовании нерастворимых соединений. Благодаря поглотительной способности почв элементы питания удерживаются в состоянии обменного поглощения и не вымываются из почвенного профиля. Эта способность почвы зависит от таких ее свойств, как механический состав (чем тяжелее, тем выше ПСП), состав почвенных коллоидов - соотношение органических и минеральных компонентов и природы глинистых минералов.

Отрицательные стороны сорбции:

- снижение эффективности удобрения из-за связывания элементов питания в менее подвижные формы;
- формирование мертвого запаса влаги;
- удержание загрязняющих веществ.

Для большинства растений, возделываемых на территории России, физиологически оптимальное соотношение поглощенных катионов выглядит так: количество обменного кальция должно составлять 60-70 % от емкости поглощения, обменного магния - 10-15 %, калия - 3-5 %. Черноземы, пойменные луговые и лугово-дерновые почвы содержат до 70-80 % обменного Са.

Благодаря сорбции почвой микроорганизмов последние защищены от выноса за пределы почвенного профиля с нисходящими токами влаги. Наблюдается отчетливая зависимость процесса сорбции от свойств микроорганизмов и особенностей сорбента. Например: сорбция зависит от минерального состава, генетических особенностей почв (гранулометрического состава, емкости поглощения, содержания гумуса, рН). Установлена также зависимость сорбции микроорганизмов от степени их подвижности. Подвижные микроорганизмы слабо сорбируются.

Процесс сорбции микроорганизмов меняет интенсивность и направленность физиолого-биохимических процессов, скорость размножения, размеры и формы клеток.

Функция сигнала контролируется периодически изменяющимися параметрами почвы - ее тепловым, водным, пищевым, солевым режимами. Например, в центральных и северных районах европейской части России ведущим фактором пробуждения растительности является температура почвы, в южных регионах таким фактором является влажность. Примером влияния годовой динамики пищевого режима почв на сезонные изменения в развитии биоценозов могут служить колебания численности микроорганизмов почв в зависимости от поступления в нее растительного опада. Например, многими исследователями отмечается осенняя вспышка численности микробов благодаря поступлению свежего органического материала. Однако температура почвы служит не только сигналом начала или прекращения сезонных циклов жизнедеятельности организмов, но и определяет течение ряда физиологических процессов. Например, отмечено, что при

понижении температуры почвы происходит снижение интенсивности транспирации, а при повышении - ее усиление.

Вышеперечисленные параметры определяются основными свойствами почв. Например, в зависимости от гранулометрического состава теплоемкость почвы может различаться в 5 раз, а в зависимости от влажности - в 15 раз.

Несмотря на важность данной функции, она изучена еще недостаточно.

Одна из форм проявления функции «регуляция численности, состава и структуры биоценозов» - это воздействие почвенных факторов на формирование конкретной структуры биоценозов. Из массы семян прорастает лишь небольшая часть и определенного типа. В пределах любого типа биоценоза с корнями каждого вида растений связаны специфические комплексы почвообитающих организмов.

Пусковой механизм некоторых сукцессий проявляется, например, при засолении, заболачивании почв, деятельности некоторых вредителей и болезней растений. В результате изменения биоценозов по каким-либо причинам происходит стадийное преобразование почвы как среды обитания, порождающее соответствующие сукцессии. Так, например, при заболачивании местности может наблюдаться следующий сукцессионный ряд: ельник кисличник - ельник черничник - ельник долгомошник - ельник долгомош- но-сфагновый - сосняк сфагновый - сфагновое болото с карликовой сосной.

Функцию «памяти» стали выделять относительно недавно - с середины 70-х гг. прошлого столетия. Так, Д.Л. Арманд считал, что почва является памятью ландшафта. Д.И. Берманд и С.С. Трофимов рассматривали почву как память, в которой зафиксирована программа возможностей функционирования связанных с почвой биоценозов. Согласно концепции В.О. Таргульяна и И. А. Соколова, почвенное тело состоит из почвы-памяти и почвы-момента. Почва-память - это комплекс устойчивых свойств и признаков, возникших в ходе всей истории развития. Почва-момент - совокупность наиболее изменчивых процессов и свойств почвы в момент наблюдения. Следует отметить, что приобретение почвой новой информации нередко сопровождается потерей уже имеющейся.

К целостным биогеоценотическим функциям почвы относятся: аккумуляция и трансформация веществ и энергии, находящихся в биогеоценозе или поступающих в него;

санитарная функция;

буферный и защитный биогеоценотический экран.

Суть трансформационной функции заключается в преобразовании почвообразовательным процессом материнских пород и продуктов, поступающих с пылью, атмосферными осадками, поверхностными и грунтовыми водами, растительными остатками. В результате этого преобразования почвы приобретают благоприятные свойства для биоценозов. Так, в корнеобитаемых горизонтах наблюдается не только накопление элементов питания растений в доступных формах, но и определенное изменение соотношения целого ряда элементов по сравнению с тем, которое имелось в исходной породе.

Важный результат трансформации - освобождение в ходе разложения органических остатков, энергии, аккумулированной при фотосинтезе. При этом энергия может высвобождаться как в тепловой, так и химической форме. Благодаря этому процессу почвы живут как весьма динамичные системы, богатые свободной энергией.

При рассмотрении санитарной функции можно выделить 3 основных аспекта. Первый аспект связан с участием почвенных организмов в деструкции поступающих на поверхность органических остатков. Без этого на поверхности земли накапливалось бы огромное количество гниющего материала, что привело бы к исчезновению жизни.

Другой важный аспект санитарной функции почвы связан с ее антисептическими свойствами, лимитирующими развитие в ней болезнетворных микроорганизмов.

Существует еще одна важная форма проявления санитарной функции почв, которая заключается в разрушении почвенными микробами продуктов обмена живых организмов.

Значительная устойчивость сформировавшихся в ходе длительной эволюции зональных типов биогеоценозов оказывается возможной благодаря наличию в них буферных и регулирующих механизмов обратной связи. Данная способность весьма важна, поскольку она обеспечивает поддержание сложившегося функционирования биогеоценозов Земли, что является залогом благополучия биосферы.

Выделяют следующие формы проявления буферной функции почв.

- Способность почвы нивелировать резкие колебания входных потоков вещества и энергии (влажность, температура).
- Защита от механических разрушений под действием воды, ветра, силы тяжести.
- Восстановление нарушенных биоценозов за счет запаса семян и т. д.

2.2. Глобальные функции почв



Рис. 56. Глобальные функции почв (по Г. В. Добровольскому и Е. Д. Никитину)

2.2.1. Литосферные функции почв

Наиболее древние почвы образовались почти одновременно с поселением на суше первых представителей живого. Произошло это около 2 млрд лет назад.

Формирование развитого почвенного покрова, эволюционировавшего в современный, начинается с силурийского периода - около 400 млн лет назад. В этот период наблюдается массовый выход расте-

ний из воды на сушу. Под пологом наземной растительности развивались первые полнопрофильные почвы - прототипы некоторых современных почв. С этой поры почвы участвуют в процессе создания развитой биосферы земли.

В ходе создания биосферы и почвенного покрова планеты происходило существенное изменение всех оболочек Земли, и в первую очередь литосферы. При рассмотрении взаимодействий почвенной оболочки и литосферы можно выделить несколько форм участия почв в эволюции поверхностных слоев Земли и происходящих в них процессах.

К литосферным функциям почвы относятся:

- защита литосферы от чрезмерной эрозии;
- биохимическое преобразование верхнего слоя литосферы;
- почва как источник вещества для образования минералов, пород, полезных ископаемых;
- передача аккумулятивной солнечной энергии и вещества атмосферы в глубокие части литосферы.

Важность функции почва как защитный барьер литосферы от чрезмерной эрозии несомненна. Ослабление ее сопровождается усилением общей денудации и размыва поверхности литосферы. В настоящее время это происходит в основном в результате антропогенных причин (вырубка лесов, распашка и т. д.). Так, например, вырубка лесов на Мадагаскаре для производства древесного угля привела к почти полному исчезновению почвенного покрова. На больших территориях раскинулась овражнобалочная сеть. Происходит загрязнение смываемым материалом водных объектов, вследствие чего наблюдается гибель животных, птиц и рыб.

Для развития литосферы ускоренная эрозия имеет ряд отрицательных последствий:

- активизация механического разрушения, что упрощает или исключает многие процессы;
- ослабление дифференциации вещества изверженных пород;
- затухание процессов образования вторичных минералов и т. д.

В данном процессе почва принимает участие как косвенно, так и непосредственно. Косвенная роль заключается в том, что без почвы, являющейся основной средой обитания организмов суши, активное биохимическое изменение литосферы было бы невозможным.

Непосредственное участие почвы многопланово. Во-первых, почва является поставщиком органических кислот специфической и неспецифической природы, образующихся в результате процесса гумусообразования, а литосфера сложена преимущественно основаниями (исключением является кремнекислота).

Состав и свойства кислот и их соединений с основаниями материнских пород в разных природных условиях различны. Но полярность данных компонентов сохраняется в целом для большей части поверхности Земли.

Для доказательства активного изменения горных пород почвенными кислотами были поставлены следующие эксперименты. Например, в эксперименте В.В. Пономаревой (1964 г.), в котором выяснилось взаимодействие фульвокислот с минералами в течение 100 дней, были получены следующие данные: для всех взятых минералов отмечалась заметная потеря в весе. Так, для нефелина - 15,3 %, роговой обманки - 5,7 %, апатита - 3,2 %, микроклина - 2,3 %.

Сравнительное изменение в течение 6 месяцев растворяющего действия 4 растворителей на первичные и глинистые минералы (вода дистиллированная, 0,005н лимонная кислота, 0,005н соляная кислота, 0,005н фульво-кислота) показало, что наибольшим растворяющим действием на минералы характеризовалась фульвокислота.

Растворяющее действие гуминовых кислот также было доказано экспериментально. Одним из первых данные такого рода приводит в своих работах К.Д. Глинка. По своему действию на минералы гуминовые и фульво-кислоты весьма схожи, но есть и принципиальные отличия. Это объясняется химическим различием этих кислот. Так, гуминовые кислоты обладают исключительной способностью осаждать кальций, а фульвокислоты - алюминий.

Кроме кислот, важным агентом разрушения и изменения минералов литосферы являются продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Процесс микробиологической деструкции минералов материнских пород наглядно проявляется на ранних стадиях почвообразования, когда в исходном субстрате еще не накопились зольные вещества.

Преобразование поверхностного слоя литосферы под действием микроорганизмов почвы включает 2 противоположно направленных процесса: разрушение минералов и новообразование минералов.

Разрушение осуществляется с помощью ферментов, микробной слизи, минеральных и органических кислот, биогенных щелочей и других продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Новообразование минералов можно рассматривать на примере кремнезема, который может выпадать из раствора в виде желеобразных масс или в форме хлопьев различных размеров. Свежие гели кремнезема в определенных условиях постепенно кристаллизуются по следующей схеме: опал - халцедон - кварц.

Почва как источник вещества для образования минералов, пород и полезных ископаемых - осуществляется благодаря тому, что процесс образования осадочных пород и ряда полезных ископаемых включает в качестве одного из звеньев мобилизацию веществ выветривания материнских пород. Само же выветривание в значительной степени зависит от почвообразования и определяется им. Особенно в тесной связи с процессом почвообразования находится химическое выветривание, которое в значительной мере определяет формирование конкретных типов континентальных осадочных пород.

В тесной связи с почвообразованием находится также формирование многих полезных ископаемых, для которых подвижные продукты, мобилизованные в ходе почвообразования, часто оказываются исходным материалом. Полезные ископаемые могут образовываться путем погружения органогенной породы в более глубокие части литосферы с образованием различного рода угля; путем высвобождения в результате разрушения породы самородных металлов и устойчивых минералов (так образуются золото, платина, серебро, гранат, алмаз); путем накопления вторичных образований; выпадения из насыщенных растворов путем метасоматоза, карстовых явлений и т. д.

Согласно доминирующим гипотезам и теориям образования органогенных полезных ископаемых (торфов, углей, нефти), огромное значение имеет процесс исходного накопления органогенного материала (гумус, торф) на поверхности Земли с последующей его трансформацией в более глубоких слоях. Влияние почвообразовательных процессов на торфонакопление может проявляться в форме стимуляции процесса заболачивания самой почвой вследствие такого изменения ее свойств, при котором создаются предпосылки для накопления избыточных запасов влаги, достаточных для начала заболачивания. Данный тип заболачивания получил название автохтонного.

Исследования Н.В. Белова и В.И. Лебедева показали, что атомная структура минералов зоны гипергенеза по сравнению с минералами изверженных пород характеризуется повышенными запасами энергии, т. к. образуется в процессе почвообразования при эндотермических реакциях с поглощением солнечной энергии. Эти минералы составляют основную массу осадочных пород, которые при опускании земной коры попадают в глубокие части литосферы. Там при высоких температурах и давлении происходит перестройка в атомные системы с меньшей энергоемкостью. Выделяемая при этом тепловая энергия является важной составной частью в энергетике общего процесса развития Земли наряду с другими видами энергии, в частности теплом, выделяемым при распаде радиоактивных элементов.

Почва участвует и в таком процессе, как передача вещества атмосферы в недра Земли. Суть этой функции заключается в том, что в ходе почвообразования происходит поглощение газов, в том числе кислорода, за счет формирования оксидов железа, марганца, серы, которые в составе почвенных соединений поступают в осадочные породы. Немаловажная роль почвенного покрова в фиксации атмосферного азота и связывании почвеннорастительным покровом диоксида углерода. Аккумуляция CO_2 атмосферы при формировании органического осадочного вещества Земли и карбонатных осадочных пород имеет принципиальное значение для поддержания геологической активности планеты и постоянного выделения из недр диоксида углерода и других газов в воздушную оболочку.

А.В. Ронов сформулировал геохимический принцип сохранения жизни: «Жизнь на Земле и других планетах, при прочих равных условиях, возможна лишь до тех пор, пока эти планеты активны и происходит обмен энергией и веществом между их недрами и поверхностью. С энергетической смертью планет неизбежно должна прекратиться и жизнь».

2.2.2. Гидросферные функции почв

- Трансформация почвой атмосферных осадков в почвенные и грунтовые воды.
- Участие почвы в формировании речного стока.
- Почва как фактор биопродуктивности водоемов.

- Почвенный сорбционный, защищающий от загрязнений барьер акваторий.

- Трансформация почвой атмосферных осадков в почвенные и грунтовые воды.

- Участие почвы в формировании речного стока.

- Почва как фактор биопродуктивности водоемов за счет приносимых почвенных соединений.

- Почвенный сорбционный, защищающий от загрязнений барьер акваторий.

- Трансформация почвой атмосферных осадков в почвенные и грунтовые воды

В образовании грунтовых вод принимают участие как конденсационные воды, так и атмосферные осадки благодаря их инфильтрации в глубину грунта. Инфильтрация осадков во многом определяется свойствами почвы (гранулометрическим составом, температурой и т. д.), поэтому можно утверждать, что почвы контролируют механизмы образования грунтовых вод.

Необходимо также обратить внимание на изменение химического состава атмосферных осадков при прохождении их через почвенный профиль. Например, при фильтрации воды через бедные солями торфянистотундровые почвы происходит обогащение ее большим количеством органических веществ и в очень малой мере - солями. Схожую картину дают подзолистые и супесчаные почвы. В большей мере обогащаются солями воды, фильтрующиеся через профиль черноземных и каштановых почв, не говоря уже о солонцеватых.

Изменение газового состава атмосферных осадков при прохождении их через почву связано, прежде всего, с тем, что в ней идут процессы окисления органических веществ, вызывающих расход кислорода и выделение углекислого газа, содержание которого в почвенном воздухе может достигать нескольких процентов. В связи с этим при фильтрации через почву воды в ней отмечается резкое снижение количества кислорода и сильное возрастание содержания углекислоты, что существенно для обогащения растворов карбонатами из подстилающих пород.

Участие почвы в формировании речного стока - влияние почвы на соотношение грунтового и поверхностного питания рек. Именно от

почвы зависит, какая часть атмосферных осадков поступит с водоразделов в реки в виде поверхностного стока, а какая - в виде грунтового.

Так, при малых значениях фильтрационных и водоудерживающих показателей основная масса осадков расходуется на поверхностный сток; питание подземных вод очень слабое, а испарение с поверхности почв отсутствует или незначительно. В таких случаях полный речной сток почти равен величине атмосферных осадков, но состоит главным образом из поверхностных вод. В период между паводками наблюдается пересыхание рек, т. к. питание за счет подземных вод оказывается незначительным. При больших значениях фильтрационных и водоудерживающих показателей почв величины и соотношения элементов водного баланса сильно изменяются. Поверхностный сток уменьшается; увеличивается испарение за счет образовавшихся ресурсов почвенной влаги. Питание рек подземными водами возрастает, но достигает своего минимума не при наибольших значениях инфильтрационной и водоудерживающей способности почвы, а при оптимальных их значениях. Однако при больших значениях фильтрационных показателей почв и при малых значениях водоудерживающих поверхностный сток резко уменьшается, а подземный, напротив, сильно возрастает. Испарение достигает максимума при средних (оптимальных) значениях водно-физических свойств почв и мало при крайних их значениях. Полный речной сток при этом снижается до минимума при средних значениях водно-физических свойств почв и возрастает при крайних их значениях.

Но характер стока зависит не только от свойств почвы, но и от режима ее промерзания, характера произрастающей растительности и т. д. Так, например, структура стока в лесу и на поле различается очень сильно. В лесу в отличие от поля поверхностный сток мал. Это связано, прежде всего, с тем, что инфильтрация влаги в лесных почвах благодаря их благоприятным физическим свойствам в 2-3 раза выше, чем на полях. Поэтому снеговые и дождевые воды хорошо усваиваются почвой в лесу.

Химический состав атмосферных осадков претерпевает ряд изменений при прохождении их через почвенный профиль. Как следствие, изменяется состав грунтовых вод, питающих реки, а через них другие акватории, в том числе моря и океаны. В результате привноса почвенных соединений водоемы получают впечатляющие количества

биофильных макро- и микроэлементов, а также гумуса. Соединения, поступившие с континентов в конечные водоемы стока, активно вовлекаются в продукционный процесс водных экосистем и в биохимические циклы. По примерным подсчетам 95 % кальция, 50 % магния и 30 % калия, мобилизованных на водоразделах, извлекаются из растворов при их попадании в моря и океаны. Активно извлекаются также кремний, фосфор и другие элементы. Большая масса морских животных строят из углекислого кальция свои скелеты, раковины и панцири. Большое количество питательных элементов в водах, прошедших на ранних стадиях через почвенную толщу, вызывают увеличение биопродуктивности водоемов.

Однако в последнее время соединения, поступающие в водоемы из почв, в первую очередь освоенных, стали весьма часто негативно воздействовать на биологическую продуктивность гидросферы. Главная причина этого - загрязнение водоемов вследствие техногенного и сельскохозяйственного загрязнения почв. Последствия данного процесса различные. Среди наиболее негативных последствий - упрощение структуры биологической продукции и снижение видового состава обитателей водоемов при их значительном загрязнении агрохимикатами, вынесенными из почвы.

Почва благодаря своей огромной активной поверхности в состоянии поглощать и удерживать многие вредные соединения на пути их миграции в водные экосистемы, а также снижать избыточное поступление биофильных элементов, которые могут привести к эвтрофикации водоемов. Однако возможности сорбционной функции почв небеспредельные. В настоящее время нередко встречается нарушение данной функции.

Пребывание в почве сорбированных ею элементов измеряется десятилетиями и более продолжительными отрезками времени. Так, почвы Хиросимы и Нагасаки до сих пор содержат повышенное количество продуктов радиоактивного распада.

Почва защищает от загрязнения и подземные воды. Известны случаи, когда при фильтрации сточных вод и детергентов (очистителей) до 95 % загрязнителей задерживалось в верхнем 15-30-сантиметровом слое почвы, отличающейся значительной величиной удельной поверхности. Степень защиты грунтовых вод зависит от свойств почв и прилегающей к ней грунтовой толщи. Степень защи-

ценности подземных вод определяется действием следующих факторов:

- почвой и нижележащими горизонтами зоны аэрации;
- первым от поверхности региональным водоупором;
- гидродинамической изолированностью основного водоносного горизонта;
- растительным покровом;
- составом подземных вод, обуславливающим характер взаимодействия между водой и загрязнителем;
- фильтрационными свойствами пород;
- локальными особенностями интенсивной фильтрации.

Необходимо также учесть климатические (гидротермические) особенности территории, а также длительность, интенсивность и характер ее загрязнения.

2.2.3. Атмосферные функции почв

Влияние почвы на состав и динамику атмосферы является весьма актуальным вопросом современного исследования. Можно привести немало примеров зависимости воздушной оболочки от почвенной оболочки Земли.

Среди конкретных форм воздействия почвы на атмосферу можно назвать следующие:

- поглощение и отражение почвой солнечной радиации;
- участие почвы в формировании и регулировании влагооборота атмосферы;
- почва как источник твердого вещества и микроорганизмов, поступающих в атмосферу;
- регулирование газового режима атмосферы.

От процессов поглощения и отражения солнечной радиации во многом зависит динамика тепла и влаги в прилегающих слоях атмосферы, т. е. ее энергетический режим и влагооборот.

Поглощение и отражение солнечных лучей почвой и материнскими породами отличаются. Так, исходные бурые суглинки отражают 18-19 % солнечной радиации, а свежеспаханные черноземы на тех же породах лишь 5-7 %. Распаханные подзолы отражают до 30 %,

солончаки - до 35 % (А.В. Щербаков, 1979). Отражательная способность почвенного покрова, как видно из примера, дифференцирована и зависит от конкретных свойств почв. Пестрота отражательной способности почвенного покрова особенно ощутимо сказывается на динамике энергетических показателей атмосферы в связи с широкой распашкой земель, обнажающей поверхность самих почв.

С данной функцией тесно связано участие почвы в формировании и регулировании влагооборота атмосферы.

Участие почвы в формировании и регулировании влагооборота атмосферы заключается в том, что благодаря задержанию почвой на поверхности суши выпадающих атмосферных осадков оказывается возможным испарение значительной части и повторное выпадение осадков.

Многokратный влагооборот водяного пара долгое время считался решающим фактором обеспечения суши влагой. Осадки местного испарения могут существенно ослаблять отрицательное влияние засухи.

Роль почв в формировании влагооборота в целом достаточно велика. Во-первых, почва способствует увеличению общего количества водяного пара, поступающего в атмосферу, о чем речь шла выше. Во-вторых, почва выравнивает процесс водообеспечения ландшафтов посредством местного круговорота. Так, по данным М.И. Будыко, на Европейской территории России осадки, выпадающие за счет использования пара местного испарения, составляют около 12 %. Это имеет огромную роль в неустойчивых экосистемах, примером которых могут служить реликтовые леса в засушливых районах, которые после вырубки не восстанавливаются (Беловежская пуца, реликтовые можжевелово-фисташковые леса под Анапой практически полностью к настоящему времени уничтожены, уникальные реликтовые леса на территории Казахстана и т. д.).

Уничтожение лесов, распашка земель, активизировавшая поверхностный сток, привели к общему снижению влагозадержания на суше и уменьшению буферной водорегулирующей способности почвенного покрова Земли, что явилось причиной аридизации многих участков суши, учащения резких колебаний климата. Возросла частота засух и сопутствующих им пыльных бурь, ливней и наводнений и т. д.

Наиболее яркой формой проявления этой функции является попадание в различные слои атмосферы частиц почвенного мелкозема в результате его дефляции, а также солей с поверхности солончаков под действием эолового фактора. О масштабах воздушного переноса вещества в историческом аспекте свидетельствуют также многометровые толщи эоловых отложений, широко распространенных в различных районах земного шара. Перенос вещества может осуществляться на сотни и тысячи километров. Известен случай выпадения «красного дождя» в Шотландии в 1977 г. Пылеватый материал был принесен из Сахары.

Попадающие в атмосферу частицы оказывают разнообразные воздействия на процессы, происходящие в ней. Во-первых, пылеватый материал способствует выпадению дождей. Во-вторых, запыленность воздуха сильно снижает приток солнечной радиации. Этот факт может быть, как положительным, так и отрицательным (засыпание песком поселений, водоемов, почв и растительности; ухудшение качества воздуха).

Особый интерес представляет проблема поступления в атмосферу микроорганизмов почвы. В 1 м воздуха содержится до нескольких тысяч бактерий и микроскопических плесневых грибов, количество которых изменчиво и зависит от особенностей местности, сезона года и других факторов. Источником большей части бактерий, присутствующих в атмосфере, служит почва.

Характерной особенностью воздушного распространения микроорганизмов является не только подъем на значительную высоту, но и возможность переноса на большие расстояния.

Благодаря воздушному переносу возможно освоение организмами новых территорий; распространение возбудителей некоторых заболеваний растений, животных и человека.

Содержание кислорода за последний миллиард лет в атмосфере выросло с 1 до 21 %. При этом резко снизилось содержание в атмосфере Земли углекислого газа - до 0,3 %. Ученые выяснили, что современный состав атмосферы Земли создан и поддерживается живыми организмами.

Если на Земле не будет жизни, то состояние ее атмосферы довольно скоро, буквально за несколько сотен или тысяч лет, вернется к своему бескислородному состоянию.

Почва - важнейшее условие осуществления фотосинтеза с образованием свободного кислорода на суше, а косвенно, через снабжение акваторий элементами питания, мобилизованными при почвообразовании и выветривании, - и в океане.

Прямое участие почвы в преобразовании состава атмосферы и регулировании ее газового режима определяется, прежде всего, деятельностью почвенных микроорганизмов. В результате их жизнедеятельности поступают различные газообразные продукты и поглощаются в свою очередь иные компоненты.

Это происходит из-за постоянного газообмена между почвой и нижними слоями атмосферы. Так, потребление кислорода почвой - обязательное условие успешного ее функционирования. Оно составляет 1000-4000 л/га за 1 ч. Примерно в таком же количестве выделяется из почвы углекислый газ.

Особое значение имеет участие почвы в круговороте углерода. Ранее уже рассмотрено, что формирование многих углеродсодержащих ископаемых тесно связано с почвообразованием, поэтому нет необходимости доказывать важную роль почвы в удалении части углерода из атмосферы. Часть углерода фиксируется в гумусовой оболочке Земли.

Однако одновременно идет процесс возврата углерода в атмосферу. Он осуществляется в ходе разложения органического вещества. Таким образом, осуществляется планетарный круговорот данного элемента, от которого зависят развитие и функционирование ряда основных оболочек Земли.

Большое значение имеет фиксация атмосферного азота при участии почвенных микроорганизмов. Благодаря этому образуются природные соединения азота с кислородом, к которым относятся запасы нитратов и нитритов почв, залежи натриевой и калиевой селитры.

Почва активно поглощает и диоксид серы, и сероводород, причем исследования показали, что данный процесс происходит быстрее, чем поглощение оксида углерода. По оценкам Эриксона, глобальное усвоение диоксида серы составляет не менее $25 \cdot 10^9$ кг серы. В поглощении серы участвуют как микробиологические, так и химические агенты.

Также идут процессы окисления и удержания в почвах водорода и газообразных углеводородов.

Процессы удержания почвой газообразных элементов, поступающих из глубины Земли, и возврата их в недра планеты, несомненно, имеют огромное значение для ее нормального развития.

Известно, что Земля постоянно отдает в космос значительное количество вещества планетарного происхождения. Особенно значительным может быть уход легких газов. Так, например, удержание почвой водорода имеет большое значение. Данная функция почвы предохраняет планету от разрушения. Эта функция весьма важная, но малоизученная на данный момент.

2.2.4. Биосферные функции почв

Почва является экологическим фактором наземно-воздушной среды обитания и в то же время представляет собой самостоятельную среду обитания. С почвой связано существование большинства видов живых организмов и образование основной массы живого вещества планеты. Масса живого вещества континентов многократно превышает биомассу океана ($2,42 \cdot 10$ и $0,0032 \cdot 10$ соответственно). Объясняется это большой плотностью жизни в наземных биогеоценозах, в том числе в почве. Постоянные обитатели почвы называются эдафобионтами.

Особенности действия экологических факторов в почве следующие:

- достаточно высокое и стабильное содержание воды и разнообразных газов (промежуточное между водной и наземно-воздушной средой);
- высокая концентрация органических и неорганических веществ;
- стабильный температурный режим;
- низкая освещенность (за исключением самых поверхностных слоев) - лимитирующий фактор для фотосинтезирующих организмов;
- неоднородность почвы по вертикали и горизонтали создает условия для формирования множества экологических ниш.

Почва является важнейшим условием фотосинтетической деятельности растений. Этим путем аккумулируется на Земле колоссальное количество энергии. В.А. Ковда приводит такие данные. В форме топлива, пищи, кормов ежегодно на земном шаре расходуется при-

мерно $7 \cdot 10$ кВт/ч этой энергии, еще $16,2 \cdot 10$ кВт/ч человечество сжигает в виде ископаемого топлива (угля, нефти, газа, торфа), созданного в прошлые геологические эпохи, по-видимому, растениями. Другие источники энергии (реки, ветер, ядерное топливо) дают неизмеримо меньше энергии. В настоящее время и, вероятно, еще долго в будущем именно система почва - растения - животные будет главным поставщиком трансформированной энергии Солнца человечеству. После отмирания организмов происходит их минерализация и частично гумификация. Гумус - это источник вещества и энергии.

По данным М.М. Кононовой, в почвенной оболочке Земли сосредоточено примерно 2500 млрд т гумуса. Распределены запасы гумуса по зонам неравномерно. Ежегодное образование гумусовых веществ в пересчете на углерод составляет 1-2 млрд т.

В настоящее время происходит сокращение запасов гумуса на 1,2 - 1,4 млрд т в год. Таким образом, возникает проблема разумного использования и охраны гумусного слоя Земли.

Еще одна общебиосферная функция почвы - обеспечение постоянного взаимодействия большого геологического и малого биологического круговоротов веществ, т. к. биогеохимические циклы элементов, в том числе таких важнейших биофилов, как углерод, азот, кислород, осуществляются через почву.

Большой геологический круговорот веществ - это круговорот веществ в системе: геохимический поток суши - гидрографическая сеть - океан - воздушные массы - аэрозоли - геохимический поток суши.

Биологический круговорот веществ, или малый, - поступление веществ из почвы и атмосферы в живые организмы с соответствующим изменением их химической формы, возвращение их в почву и атмосферу в процессе жизнедеятельности организмов и с посмертными остатками и повторное поступление в живые организмы после процессов деструкции и минерализации с помощью микроорганизмов.

Различия круговоротов:

- темпы и сроки завершения полного цикла;
- противоречивость их взаимодействия.

Биологический круговорот в целом направлен на аккумуляцию и удержание элементов на водоразделах. Геологический - на вынос.

Почвенный покров - важный регулятор взаимодействия биологического и геологического круговоротов. Почва - основное звено взаимодействия между живым веществом и неживой природой. В ней протекают разнообразные геохимические и биологические процессы.

При нарушении почвенной оболочки Земли неизбежно возникают глубокие изменения в геологических потоках биосферы.

Почва является важным компонентом биосферы, неотъемлемой частью любого наземного биоценоза. В почве сохраняются влага и питательные вещества, надежно закрепляются корни растений. Это среда обитания для многих живых организмов. Почва выполняет также санитарные и защитные функции: многие болезнетворные бактерии в почве быстро погибают, а загрязняющие вещества, задерживаясь в земле, не попадают в грунтовые и поверхностные воды, тем самым ограничивая их попадание в трофические цепи биосферы. Устойчивое к разложению органическое вещество почв является аккумулятором энергии Солнца. Почвенно-растительный покров сохраняет поверхность суши от разрушения и эрозии, регулирует водный режим и состав атмосферы. Все это предохраняет биосферу от разрушения, т. е. почва - необходимое условие существования всего живого. Однако возможности почвы как защитного экрана и стабилизатора жизни не безграничны. Почва может задерживать в себе загрязняющие вещества, предотвращая их попадание в гидрографическую сеть. Но емкость поглощения почвой элементов ограничена. К тому же поглощенные загрязнители не закрепляются в почве навечно. С течением времени элементы-загрязнители могут поступать в растения или передвигаться по профилю почвы. Например, ядохимикаты, применение которых было прекращено на полях Ордовикского плато 15 лет назад, в настоящее время проникли в грунтовые воды. Следует отметить, что опасность для лесов и водоемов представляет вынос с сельскохозяйственных полей не только токсичных соединений, но и элементов минерального питания. Дополнительное поступление биогенных элементов (азота, фосфора и др.) в водоемы нарушает сложившееся в них равновесие. Начинается ускоренное развитие планктона, снижается содержание кислорода в воде, исчезают многие виды рыб, изменяется состав водной растительности.

Следы жизни обнаружены в самых древних горных породах, которые сформировались около 3 млрд лет назад. В те времена организ-

мы были примитивными, одноклеточными или колониальными, не имели скелета и размножались простым делением клеток надвое, в клетках их не было сформированного ядра. Эволюция живых организмов вначале привела к появлению живых существ с обособленным клеточным ядром и внутриклеточными органоидами - рибосомами, митохондриями и др. Для них уже было характерно бесполое и половое размножение.

Доказано, что миллиард лет назад такие организмы на нашей планете населяли океан. Примерно 600-700 млн лет назад появились первые позвоночные животные - рыбы. Царство растений тогда было представлено многочисленными водорослями, как одноклеточными, так и многоклеточными, образующими, как и теперь, настоящие подводные леса на мелководьях.

Выход живых существ на сушу сдерживался тем, что в атмосфере Земли, вплоть до кембрийского периода, было очень мало кислорода. Из-за этого у планеты отсутствовал озоновый слой, который поглощает жесткое космическое излучение. Слой воды толщиной 2-3 м может поглощать кванты жесткого излучения не хуже озонового слоя, поэтому на первых этапах эволюции жизнь была только в морях и океанах. В процессе поглощения электромагнитного излучения и фотосинтеза водорослей в гидросфере и атмосфере постепенно накапливался свободный кислород. Примерно 500 млн лет назад живые организмы появились и на суше. Из животных сушу сначала завоевали членистоногие. Из позвоночных животных первыми на сушу выбрались двоякодышащие рыбы, от которых произошли земноводные. Земноводные в свою очередь дали начало пресмыкающимся, от которых произошли птицы и в меловом периоде - около 70 млн лет назад - млекопитающие.

Почва является промежуточной средой между водой (температурный режим, низкое содержание кислорода, насыщенность водяными парами, наличие воды и солей в ней) и воздухом. Воздух в почве, как правило, насыщен парами воды. Даже в пустыне в жаркий сухой период года в песке на глубине нескольких сантиметров воздух в почве близок к насыщению парами воды (более 90 %). Отсутствие угрозы гибели от высыхания в почве создает условия для перехода к обитанию в ней водных форм животных с развитой способностью к кожному дыханию, широко распространенной у многих обитателей

водоемов. Для многих членистоногих почва была средой, через которую они смогли перейти от водного к наземному образу жизни.

Другой особенностью почвенной среды, способствовавшей переходу водных организмов к обитанию в почве, явилось обилие здесь органического вещества.

В процессе освоения суши почва выполняла роль переходной среды, как для беспозвоночных, так и для многих позвоночных животных.

2.2.5. Этносферные функции почв

Человеческое общество представляет собой часть природы. Ведь в организме каждого человека протекают природные химические, биологические и другие процессы.

Органическая связь человека и природы заставляет в полной мере учитывать природные факторы в развитии общества. На решающую роль природы в развитии общества указывали античный мыслитель Геродот и мыслители Нового времени Ш. Монтескье, А. Тюрго и др. Последние развивали взгляды, получившие название географического детерминизма. Его суть заключается в утверждении, что природа, которая истолковывается как географическая среда жизни общества, выступает в качестве основной причины происходящих в обществе явлений. Она определяет не только направление хозяйственной жизни людей, но также их психический склад, темперамент, характер, обычаи и нравы, эстетические взгляды и даже формы государственного правления и законодательства, словом, всю их общественную и личную жизнь.

Так, Ш. Монтескье утверждал, что климат, почвы и географическое положение страны являются причиной существования различных форм государственной власти и законодательства, влияют на психологию людей и склад их характера. По его мнению, климат и географическая среда определяют «характер ума и страсти сердца», что неизбежно сказывается на психологии людей, характере их искусства, нравов и законов.

Но рассмотрим также историю воздействия общества на природу. Сначала люди просто пользовались окружающей их природой. На этой основе развивались охота, рыболовство, приручение животных,

простые формы скотоводства и земледелия. Постепенно их влияние на природу углублялось и расширялось. Материал природы подвергался все более основательному воздействию в их производственной деятельности. Применялись более сложные способы обработки почвы, вводились севообороты, промышленные способы обработки шкур животных, более развитые формы рыболовства. Выводились новые виды растений и породы животных. Развивались деревообрабатывающее производство, судостроение, производство одежды и других изделий из льна, шелка, хлопка и кожи, а также строительство дорог, зданий, всевозможных сооружений. Словом, по мере развития производительных сил - орудий труда, технологии различных производств, знаний и навыков людей - все более возрастало их господство над окружающей природой, за счет которой удовлетворялось все большее количество человеческих потребностей.

Однако, увеличивая свою власть над природой, люди попадали во все большую зависимость от нее. Эта зависимость особенно усилилась с развитием промышленного производства. Перейдя к массовому применению паровых машин и двигателей внутреннего сгорания, люди попали в прямую зависимость от наличия в их странах полезных ископаемых, прежде всего угля и нефти. В дальнейшем все большее потребление электроэнергии в промышленных, бытовых и иных целях многократно увеличило зависимость людей от наличия так называемых энергоносителей - угля, нефти, газа, водных и других источников энергии.

В этом и заключается диалектико-противоречивая взаимозависимость общества и природы: постепенно увеличивая власть над природой, общество в то же время попадает во все большую зависимость от нее как источника удовлетворения потребностей людей и самого производства. Речь идет о материальном обеспечении развития общества и его культуры.

Однако деятельность человечества не проходит бесследно. Сущность современной экологической проблемы заключается в глобальном изменении природной среды существования человечества, в быстром уменьшении ее ресурсов, в ослаблении восстановительных процессов в природе, что ставит под вопрос будущее человеческого общества.

В резолюции Конференции ООН, посвященной проблеме взаимоотношений человеческого общества и биосферы (Стокгольм, 1972 г.), провозглашено, что люди являются самой значительной ценностью и каждый человек имеет право на необходимый уровень жизни и здоровую среду обитания. В соответствии с этим каждый человек несет ответственность за охрану и улучшение окружающей среды. Особо подчеркивается, что природные ресурсы Земли должны обеспечить улучшение качества жизни и возможность развития будущих поколений. Все эти положения сохраняют свою актуальность в наши дни.

Почвенный покров Земли, будучи глобальной природной системой, взаимосвязан своими функциями с историей и современной жизнью человечества. Эти связи исключительно разнообразны и начали проявляться еще на заре жизни древнего человека. Достаточно четко они проявились в эпоху зарождения земледелия и формирования древних цивилизаций. Наиболее ранние цивилизации возникли на территориях с плодородными почвами. И в настоящее время экономическое благополучие современных стран неразрывно связано с наличием плодородных земель. Итак, среди этносферных функций можно назвать:

- роль почвы как одного из важных факторов существования и динамики этносферы;
- участие почвы в формировании полезных ископаемых и энергетических ресурсов, используемых этносами Земли;
- почва как место для поселений, размещения промышленных и дорожных объектов;
- сохранение почвой информации о развитии природной среды и общества.

Почва - основное средство сельскохозяйственного производства, относящееся к категории невозобновимых природных ресурсов. В среднем на каждого жителя планеты приходится сегодня 1 га земли, однако эта величина снижается в связи с ростом народонаселения и с тем, что часть земли выпадает из сельскохозяйственного оборота, поскольку используется на нужды промышленности, строительства и т. д. Это вызывает тревогу. Международные декларации и соглашения по проблемам природопользования («Всемирная стратегия охраны природы», «Всемирная почвенная хартия», «Основы мировой поч-

венной политики») утверждают значение почвы как всеобщего достояния человечества, рационально использовать и охранять которое должны все люди Земли. Поэтому вопросы землепользования затрагивают комплекс сложных проблем социально-экономического характера: вопросы земельной собственности, земельного законодательства, земельного права, экономической оценки земель и т. д.

По отношению к окружающей среде и человеку почва выполняет еще одну важную роль - протекторную. Обладая способностью поглощать и удерживать в себе различные загрязняющие вещества, в том числе и радионуклиды, связывая их химическим и физическим путем, почва тем самым служит своеобразным фильтром, предотвращающим поступление этих соединений в природные воды, растения и далее по пищевым цепям в животные организмы и человека. Однако возможности почвы в этом отношении небезграничны, а уровень техногенного прессинга все возрастает, поэтому все чаще наблюдаются случаи опасного загрязнения почв и последующего отравления людей.

Здоровье человека в значительной степени определяется той средой, в которой он вынужден жить, и почве в этом вопросе принадлежит немаловажная роль. Некоторые заболевания, причины которых ранее были неизвестны, связаны с определенными почвенными условиями: избытком или недостатком химических элементов, нарушением их соотношения. Наиболее широко известными примерами из этой области являются заболевания щитовидной железы (зоб и базедова болезнь), поражения зубной эмали (кариес и флюороз), но их список очень велик и продолжает расширяться. Так, имеются сведения о связи с особенностями почвенного покрова и онкологических заболеваний. Изучение онкологами географического распространения рака желудка показало, что в Тунисе, Египте, Афганистане заболеваемость раком желудка значительно ниже, чем в Англии, Франции, США. Клинические исследования позволили предположить повышенный риск этого заболевания с недостаточным содержанием магния в пище (как следствие его нехватки в воде и почвах), а также с нарушением соотношения в почвенном растворе между ионами Ca, Mg, Mn. Эта закономерность была подтверждена на примере Ростовской области в совместной работе почвоведов (В.В. Акимцев) и онкологов (З.М. Митлин).

Такие заболевания, по предложению А.П. Виноградова, были названы эндемическими, а территории с аномальным содержанием химических элементов - эндемическими провинциями. В.В. Ковальский составил карту биогеохимических зон и провинций СССР. На ней он выделил районы распространения ряда заболеваний человека и животных, обусловленных биогеохимическими свойствами почв и вод. Разгадка возникновения эндемических болезней позволила выработать меры нейтрализации этих явлений.

Почвы заселены миллиардами микроорганизмов. Некоторые из них выделены из почв и используются для изготовления ценных лечебных препаратов - антибиотиков. В составе почвенной микрофлоры содержатся и патогенные формы, вызывающие тяжелые заболевания, например возбудители столбняка (*b. tetani*), сибирской язвы (*b. anthracis*), злокачественного отека (*b. oedematis maligni*) и др. Некоторые болезни человека и животных связаны с животными, живущими только в определенных почвенных условиях. Например, грызуны и насекомые, живущие в песчаных и супесчаных почвах полупустынь и сухих степей, переносят такие болезни, как туляремия, чума.

Таким образом, многие важные вопросы медицины и ветеринарии не могут быть решены без учета особенностей почвенного покрова. Именно поэтому в 1986 г. была организована рабочая группа «Почвы и геомедицина» в рамках Международного общества почвоведов. Это создало предпосылки для выделения особого раздела в почвоведении - медицинского.

Есть еще одна область деятельности человека, где учет свойств почв и почвенного покрова в целом совершенно необходим. Почвы обладают различными инженерно-геологическими свойствами. Долговечность деревянных, металлических и бетонных конструкций, фундаментов зданий и их стен зависит от химического состава почвенно-грунтовых вод и взаимодействия между материалами сооружений и почвой. Строительство дорог, аэродромов также опирается на научные положения почвоведения, т. к. свойства почв определяют долговечность покрытий этих сооружений.

Этносферные функции почв нуждаются в обстоятельном изучении.

Все более возрастающая антропогенная деградация биосферы и почвенного покрова чревата неизбежными этническими напряжениями и катаклизмами.

Глава 3. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

Лабораторная работа № 1

Тема: ПРИГОТОВЛЕНИЕ КАРТОФЕЛЬНОГО АГАРА

Цель: Научиться готовить питательные среды на примере картофельного агара.

Оборудование и материалы: 300 г картофеля, колба коническая на 200 мл, водяная баня или кастрюля, электроплитка, сухой агар, водопроводная вода, бумажные фильтры или вата, спиртовки, чашки Петри, пробирки, лакмусовые бумажки, 20%-й раствор соды.

Задание:

1. Приготовить картофельный агар по рецепту, приведенному в методических указаниях.

2. Довести реакцию среды до нейтральной или слабощелочной, добавляя 20%-й раствор пищевой соды. Реакцию среды определить с помощью универсальной индикаторной бумаги.

3. Разлить среду в чашки Петри (по 10 мл) и пробирки на 1/3 объема, соблюдая все правила антисептики и использованием горелки. При разливе среды в пробирки следить, чтобы не отбить края. Закрывать пробирки и уложить наклонно для получения, скошенного агара.

4. Сделать вывод о проделанной работе.

Приготовление картофельного агара

а) Нарезают ломтиками 200 г очищенного и промытого водой картофеля, заливают 1 л водопроводной воды;

б) варят 30 мин.;

в) отвар фильтруют через вату и добавляют воду до первоначального объема.

г) к полученной жидкости прибавляют 2% агар-агар;

д) кипятят до его растворения и устанавливают нейтральную реакцию среды (рН 7);

е) среду стерилизуют при 1 атм. в автоклаве.

В настоящее время большое количество питательных сред готовят по специальным рецептам на биофабриках и выпускают в виде порошков или жидких концентратов.

Лабораторная работа № 2

Тема: ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКА БАКТЕРИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ МЕТОДОМ РАЗДАВЛЕННОЙ КАПЛИ

Цель: Научиться готовить мазок бактериальных культур методом раздавленной капли.

Оборудование и материалы: культуры микроорганизмов, колбы, пробирки, бактериологические иглы и петли, спиртовка, предметные и покровные стекла, красители, фильтровальная бумага, микроскоп.

Задание.

1.11. Приготовить мазки бактериальной культуры методом раздавленной капли.

1.12. Приготовить фиксированные мазки бактериальной культуры, окрасить их методом простого окрашивания.

1.13. Приготовить фиксированный препарат и провести окрашивание по методу Грама.

1.14. Микроскопировать на сухом и иммерсионном объективе, зарисовать в тетрадь.

1.15. Сделать вывод о проделанной работе.

Лабораторная работа № 3

Тема: ПОСЕВ ПОЧВЕННОЙ СУСПЕНЗИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Цель: Научиться делать посев почвенных суспензий на питательные среды.

Оборудование и материалы: навески почвы различных типов почвы (подзолистая, дерново-подзолистая, серая лесная, чернозем) по 10 г, колбы с 90 мл стерильной воды, стерильные чашки Петри с питательной средой, пробирки с 9 мл стерильной воды, пипетки, термостат.

Задание.

1. Приготовить разведение и провести посев почвенной суспензии на твердую питательную среду МПА для определения общего количества микробов.
2. Провести подсчет колоний и пересчитать на 1г абсолютно сухой почвы.
3. Провести визуальную идентификацию микроорганизмов, выросших на питательной среде.
4. Сделать вывод о проделанной работе.

Лабораторная работа № 4

**Тема: ПОСЕВ ПОЧВЕННОЙ СУСПЕНЗИИ
НА ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ**

Цель: Изучить морфологию колоний визуально и при малом увеличении микроскопа.

Оборудование и материалы: микроскоп, предметные стекла, спиртовка, чашки Петри с колониями микроорганизмов, фильтровальная бумага, бактериологические петли, метиленовый синий, фуксин Циля.

Задание:

1. Описать культуральные и морфологические признаки доминирующих микроорганизмов на чашке.
2. Изучить морфологию колоний визуально и при малом увеличении микроскопа.
3. Все наблюдения и рисунки отразить в таблице 3.
4. Определить подвижность бактерий.
5. Фиксировать и окрасить бактериальный мазок.
6. Составить заключение о качественном составе микроорганизмов в анализируемой почве.
7. Сделать вывод о проделанной работе.

*Культурально-морфологические признаки доминирующих
микроорганизмов*

Культуральные признаки	Морфологические признаки	Предполагаемый возможный род (или группа), к которому можно отнести описываемый объект
Форма колонии	<i>Рисунок клеток</i>	
Размер (мм)		
Цвет		
Блеск		
Поверхность	<i>Форма клетки</i>	
Край	<i>Характер расположения клеток</i>	
Структура	<i>Способность к спорообразованию</i>	
Консистенция		

Лабораторная работа № 5

Тема: ПОСЕВ ПОЧВЕННОЙ СУСПЕНЗИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Цель: Приготовление живых культур с целью изучения одноклеточного и многоклеточного мицелия.

Оборудование и материалы: микроскоп, предметные стекла, бактериологическая петля, препаровальные иглы, физиологический рас гвор в пробирке, метиленовый синий или фуксин, чистые культуры микромицетов в чашках Петри: *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium* и дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* в живой культуре.

Задание:

1. Приготовить живые культуры, изучить строение одноклеточного и многоклеточного мицелия и органы бесполого размножения у грибов *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*.

2. Приготовить мазок из культуры дрожжей, окрасить его простым методом и просмотреть под иммерсией.

3. Микроскопическую картину всех препаратов зарисовать в альбом.

4. Заполнить таблицу 4 «Низшие и высшие грибы».

5. Сделать вывод о проделанной работе.

Таблица 4

Низшие и высшие грибы

Структура, функции	Низшие грибы	Высшие грибы
Характер мицелия		
Споры вегетативного размножения		
Споры бесполого размножения		
Споры полового размножения		

Для изготовления препарата поступают следующим образом:

а) На середину чистого предметного стекла наносят каплю дистиллированной воды или физиологического раствора;

б) Стерильной бактериальной петлей или препаровальной иглой снимают воздушный мицелий гриба с поверхности питательной среды:

в) Переносят захваченный мицелий на предметное стекло в каплю воды:

г) Препаровальными иглами разрывают мицелий на отдельные кусочки;

д) Препарат накрывают покровным стеклом и просматривают под микроскопом;

е) Для лучшей видимости строения мицелия в каплю под покровное стекло можно добавить одну каплю фуксина.

ж) Для изучения морфологии дрожжей каждый студент готовит мазок из культуры хлебных дрожжей, выращенных на 10% - м растворе сахара. Мазок фиксируют над пламенем и окрашивают фуксином или метиленовым синим, просматривают под иммерсией.

з) При изучении мазков следует обратить внимание на форму дрожжевых клеток, наличие в их протоплазме включений, отыскать делящиеся клетки с почками.

Лабораторная работа № 6

Тема: МОРФОЛОГИЯ ПРОСТЕЙШИХ

Цель: Изучить почвенных простейших.

Оборудование и материалы: Жидкая культура простейших, чашки Петри с «голодным агаром», засеянные почвой, микроскоп, предметные и покровные стекла, бактериологические петли.

Задание:

1. Изучить морфологию простейших.
2. Поставить опыты по выявлению простейших в почве методом проращивания почвенной пыли.
3. Приготовить жидкую культуру почвенных простейших засеваем почvy в сенной настoй в смеси с почвенной вытяжкой (1:1).
4. На следующем занятии просмотреть под микроскопом обрабатывание почвенных частичек простейшими и промикроскопировать жидкие культуры простейших.
5. Приготовить из жидкой культуры простейших препарат и просмотреть под микроскопом. Отметить появление клеток амeб, инфузорий.
6. Зарисовать различные типы простейших.
7. Сделать вывод о проделанной работе.

Методические указания по изучению почвенных простейших

Чтобы наблюдать за почвенными простейшими можно использовать следующие методы:

Метод проращивания почвенной пыли по Новоградскому. Почвенный мелкозем высевают на пластинки 1,5-2 %- «голодного» агара (агар + вода). Через 2-3 дня вокруг почвенных частичек вместе с бактериями, актиномицетами и грибами начинают развиваться разнообразные представители простейших.

Метод жидких культур простейших. Для получения жидких культур почвенных простейших используют чистую воду, 1 % сенной отвар или сенной настoй в смеси с почвенной вытяжкой в отношении 1:1. Через 3-4 дня из жидкой культуры берут каплю смеси и готовят препарат «раздавленная капля». Просматривают под микроскопом.

Лабораторная работа № 7
Тема: ПРИГОТОВЛЕНИЕ ФИКСИРОВАННЫХ
ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Цель: Приобрести навыки приготовления фиксированных окрашенных препаратов микроорганизмов.

Оборудование и материалы: микроскоп, предметные стекла, бактериологическая петля, фильтровальная бумага, капельница с водой, капельницы с растворами красителей, иммерсионное масло, стерильные пипетки на 1 мл, спиртовки.

Задание:

1. Рассмотреть под микроскопом и зарисовать в тетради форму и сочетание микробных клеток.
2. Сделать вывод о проделанной работе.

Методика выполнения работы.

Для изучения морфологии бактерий приготовить окрашенные фиксированные препараты из кефира, йогурта и мясопродуктов.

При приготовлении мазки из кефира и йогурта материал прокаленной петлей нанести на середину предметного стекла. К капле придвинуть под углом 45° другое предметное стекло. Тотчас же, плотно прижимая это стекло в том же положении под углом, продвинуть его налево по предметному стеклу с исследуемым материалом. Получается равномерно распределенный по поверхности стекла мазок. Мазок высушить на воздухе. Затем зафиксировать в пламени спиртовки. Препарат захватить пинцетом и три - четыре раза медленно провести нижней стороной над пламенем (на границе светлой и темной его части). Окраску препарата провести с помощью метиленового синего. Количество краски должно покрыть всю поверхность мазка. Окраска проводится в течение 3 - 5 минут. По истечении срока окрашивания лишнюю краску слить с препарата и промыть его легкой струей водопроводной воды. Оставшуюся на стекле воду осторожно удалить фильтровальной бумагой. Окрашенный мазок должен быть абсолютно сухим.

При приготовлении препарата из мясопродуктов кусочек мяса, колбасы, печени осторожно захватить стерильным пинцетом и слегка надавить им на чистое предметное стекло, стараясь не сдвинуть в сторону (препарат «отпечаток»). Мазок высушить на воздухе и зафиксировать.

ровать в пламени спиртовки также, как и в предыдущем случае. Окраску препарата провести с помощью фуксина. Количество краски должно покрыть всю поверхность мазка. Окраска проводится в течение 1 - 2 минут. По истечении срока окрашивания лишнюю краску слить и промыть препарат легкой струей водопроводной воды. Оставшуюся на стекле воду осторожно удалить фильтровальной бумагой.

Приготовленные препараты поместить на предметный столик микроскопа и, пользуясь объективом х8, установить свет. Затем в центр препарата на мазок нанести каплю иммерсионного масла и заменить сухую систему иммерсионной (объектив х90). С помощью микрометрического винта опустить тубус микроскопа до погружения объектива в масло. Пользуясь микрометрическим винтом, поднять тубус и, наблюдая в окуляр, найти появление изображения. Если изображение нерезкое, тусклое или плывет, что-то сделано неправильно: загрязнена фронтальная линза объектива, мешают пузырьки воздуха в масле, случайно закрыта диафрагма, сдвинуто зеркало. Причину некачественного изображения необходимо устранить.

По окончании микроскопирования поднять тубус, снять препарат и осторожно протереть фронтальную линзу объектива сухой хлопчатобумажной салфеткой. Загрязнение фронтальной линзы объектива можно устранить протерев ее салфеткой смоченной очищенным бензином или ксилолом.

Погружать в иммерсионную жидкость можно только иммерсионные объективы (не сухие)!

Изучение морфологии микроорганизмов в окрашенном состоянии является наиболее распространенным в микробиологии методом. Этот метод позволяет изучить морфологические особенности клеток микроорганизмов и дает возможность найти различия между ними, а иногда - точно определить изучаемый микроорганизм. Кроме того, этот метод удобен в практической работе и легко доступен благодаря простоте техники окрашивания.

Приготовление окрашенного препарата включает приготовление мазка, фиксацию мазка и окрашивание препарата.

Приготовление мазка. Мазок должен быть тонким, так как при этом условии он удобен для изучения микробов. Мазок можно приготовить различными способами. На чистое обезжиренное предметное

стекло, например, наносят каплю водопроводной воды и помещают в нее исследуемый материал с помощью прокаленной бактериологической петли. Исследуемый материал слегка растирают в капле воды, а остаток культуры в петле сжигают в пламени горелки. Остудив петлю, приступают к изготовлению мазка: сначала краем петли культуру равномерно размешивают в капле, а затем круговыми равномерными движениями распределяют каплю на площади, составляющей примерно 1/3 предметного стекла. Затем мазок сушат на воздухе при комнатной температуре или слабо нагревании, держа препарат высоко над пламенем горелки. Сильное нагревание препарата при сушке не рекомендуется, так как белки коагулируют, искажая структуру и форму клеток. Высушенный препарат фиксируют.

Фиксация мазка. Под фиксацией подразумевают такую обработку живого объекта, которая дает возможность быстро прервать течение жизненных процессов в нем, сохранив тонкую структуру. В результате фиксации клетки прочно прикрепляются к стеклу и лучше прокрашиваются. Фиксация нужна в случае работы с патогенными микроорганизмами для безопасности.

Существует несколько способов фиксации. Наиболее простым и самым распространенным в микробиологии является фиксация над пламенем горелки. В ряде случаев фиксация жаром оказывается слишком грубой. Тогда прибегают к фиксации препарата при помощи химических соединений. При этом фиксатор наливают на мазок или препарат погружают в сосуд с фиксирующей жидкостью на определенное время, а затем высушивают. Используют следующие фиксирующие жидкости метиловый спирт (2-3 минуты), этиловый спирт (10-15 минут), ацетон (5 минут), смесь равных объемов этилового спирта и эфира - по Никифорову (15 минут). Можно применять для фиксации также хромовые соединения, формалин, пары осмиевой кислоты (несколько секунд).

Окрашивание препарата. При окрашивании мазка препарат помещают на препаратодержатель. На мазок наносят несколько капель красителя. В зависимости от вида красителя и цели исследования продолжительность окрашивания меняется от 1 до 5 минут, в отдельных случаях до 3 минут и дольше. По окончании окрашивания препарат промывают водой, фильтровальной бумагой удаляют воду, подсушивают на воздухе и микроскопируют. Окрашивание препара-

тов микробов не является механическим процессом проникновения краски в микробную клетку. Механизм окраски следует рассматривать как процесс физико-химический. Соединение протопласта микробной клетки с красителем является в большинстве случаев весьма прочным, не поддается разрушению или простому вымыванию водой. В ряде случаев различные составные части клетки избирательно окрашиваются различными красящими растворами.

Для окрашивания микроорганизмов применяют кислые и основные красители. Первые вступают в реакцию с веществами основной, вторые - кислотной природы. Поскольку в белках есть основные группы (NH_2^-) и кислотные (COOH^-) радикалы, клеточные структуры хорошо окрашиваются и теми и другими красителями.

Из основных красителей наиболее часто в микробиологии применяют: красные - нейтральный красный, сафранин, фуксин, синие - метиленовая синь, фиолетовые - генциан фиолетовый, кристаллический фиолетовый, зеленые - метиленовый зеленый, малахитовый зеленый, коричневые - везувин, хризоидин, черные - индулин. Кислые красители могут быть следующие: красные и розовые - кислый фуксин, эритрозин, черные - нигрозин, желтые - конго, флуоресцин.

Существуют простые и дифференцированные способы окраски фиксированных препаратов микроорганизмов. При простой окраске используется какой-либо один краситель, например, метиленовый синий, фуксин, генциан фиолетовый в щелочных или карболовых растворах. Прокрашивается вся клетка.

Лабораторная работа № 8

ТЕМА: ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЕТ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВЕ

Цель: Научиться находить и производить количественный учет микроорганизмов в почве.

Оборудование и материалы: питательная среда (МПБ + 3% пептона), цилиндры на 100 мл, колбы Эрленмейера на 100 – 150 мл, почва, полоски красной лакмусовой и фильтровальной бумаги, раствор ацетата свинца, вата для пробок, белые фарфоровые пластинки с лунками (или фарфоровые чашки), реактив Несслера, микроскопы и

все необходимое для приготовления окрашенных препаратов, пипетки, покровные стекла.

Задание:

1. Приготовить питательные среды.
2. Согласно теории поставить опыт.
3. Сделать вывод о проделанной работе.

Аммонификация - это превращение органических форм азота в аммиачный азот. Ее вызывают различные микроорганизмы (бактерии, актиномицеты и грибы). Микроорганизмы, осуществляющие аммонификацию белковых веществ, выделяют в окружающую среду протеолитические ферменты (протеазы и пептидазы), под действием которых белки гидролизуются до аминокислот. В свою очередь, аминокислоты, поступая в клетку, дезаминируются с образованием аммиака (NH_3), органических кислот и других продуктов. В белках $\text{C}:\text{N} = 3,5 : 1$. При разложении белков в анаэробных условиях выделяются также H_2S , меркаптаны, скатол и индол, имеющие неприятный запах. В аэробных условиях конечными продуктами являются NH_3 , CO_2 , H_2O , сульфаты.

Постановка опыта. Для изучения аммонификации белковых веществ питательной средой может служить мясной бульон с добавлением 3% пептона.

По 30 мл среды разливают в 4 - 5 колб Эрленмейера на 100 мл и добавляют по % чайной ложки почвы. Колбы закрывают ватными пробками. Над средой подвешивают две бумажки - красную лакмусовую, или универсальную индикаторную бумагу, смоченную дистиллированной водой, для обнаружения выделяющегося аммиака и фильтровальную, смоченную щелочным раствором ацетата свинца, для выявления сероводорода и меркаптана. Закрепляют их между пробкой и стенками горлышка колбы. Бумажки не должны касаться среды. Сверху колбы прикрывают пергаментной бумагой.

На 3 - 5-е сут инкубации при 28 - 30 С опыт заканчивают и содержимое колбы анализируют. Определяют возбудителей процесса аммонификации белка и продукты их жизнедеятельности.

Микроскопирование. Для обнаружения возбудителей гнилостного распада белковых веществ готовят препарат живых бактерий в раздавленной капле, а также фиксированный и окрашенный препарат.

Чаще других на препарате встречаются подвижные клетки *Proteus vulgaris* (от греч. *Proteus*- в древнегреческой мифологии морское божество, способное менять свой облик; от лат. *vulgarts*- обыкновенный, простой) преобладающие на первых стадиях распада белков. Это неспорообразующие, неодинаковой длины палочки. Кроме того, на препарате много спорообразующих клеток (*Bacillus mycoides* и *Clostridium putrificus*).

Bac. Mycoides вызывает аммонификацию белковых веществ в аэробных условиях, а *C. Putrificus* - в анаэробных, но может также развиваться и в аэробных условиях, если в среде находятся аэробные микроорганизмы, поглощающие кислород.

Качественные реакции на продукты гнилостного распада белка. Выделяющийся в атмосферу NH_3 окрашивает подвешенную полоску красной лакмусовой бумаги в синий цвет.

Накопление **аммиака** в культуральной жидкости устанавливают при помощи реактива Несслера. Реакция капельная. На фарфоровые пластинки с лунками или в чашки помещают каплю культуральной жидкости, затем - каплю реактива. При большом количестве аммиака образуется коричневый или буроватый осадок, при небольшом - появляется оранжевая или желтая окраска.

Сероводород обнаруживают с помощью подвешенной полоски фильтровальной бумаги, смоченной ацетатом свинца $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$. Бумага чернеет под действием сероводорода. Если она покрывается серебристым налетом, значит, наряду с H_2S выделяются еще и меркаптаны (например, метилмеркаптан CH_3SH).

Для выявления **индола** пользуются реакцией Сальковского: к 10 мл субстрата добавляют 1 мл 0,2%-ного раствора KNO_2 и несколько капель концентрированной серной кислоты. При взаимодействии этих веществ с индолом получается красно-фиолетовое окрашивание.

Приготовление реактивов. *Ацетат свинца* обрабатывают раствором **NaOH** до тех пор, пока осадок не растворится (0,25 М).

Реактив Несслера готовят следующим образом: 20 г KI растворяют в 50 мл воды и к раствору добавляют до насыщения (около 32 г) небольшими порциями HgI_2 . После этого приливают 460 мл воды и вносят 134 г **KOH**.

Отстоявшуюся жидкость сливают в темную склянку.

Лабораторная работа № 9

Тема: АММОНИФИКАЦИЯ МОЧЕВИНЫ

Цель: Изучить процесс аммонификации на питательных средах.

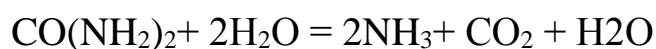
Оборудование и материалы: Среда для воспроизведения процесса аммонификации мочевины, цилиндры на 100 мл, колбы Эрленмейера на 100 мл, почва, алюминиевые ложки, полоски красной лакмусовой бумаги, вата, белые фарфоровые пластинки с лунками, реактив Несслера, пипетки, микроскопы и все необходимое для приготовления препаратов и просмотра их под микроскопом.

Задание:

1. Приготовить питательную среду.
2. Согласно теоретической части поставить опыт.
3. Сделать вывод о проделанной работе.

Мочевина - конечный продукт превращения соединений азота в организме человека и животных.

Бактерии, вызывающие аммонификацию мочевины, вырабатывают экзофермент уреазу, который гидролизует мочевины до аммиака:



В качестве источника углерода они используют некоторые углеводы и соли органических кислот.

Для наблюдения за процессом аммонификации мочевины можно использовать питательную среду следующего состава (г/л дистиллированной воды): тартрат К или Na(виннокислые, можно соли яблочной кислоты) - 5,0; мочевины - 50,0; K_2HPO_4 - 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2.

Среду разливают по 30 мл в колбы Эрленмейера на 100 мл, заражают почвой (или навозом) и ставят в термостат при 25 - 30 С. Для обнаружения аммиака, выделяющегося в атмосферу, под ватную пробку подвешивают полоску красной лакмусовой бумаги, смоченную дистиллированной водой.

Через 3 – 5 сут культуру подвергают анализу. Устанавливают выделение аммиака по посинению красной лакмусовой бумажки, а накопление его - капельной реакцией с реактивом Несслера. К капле культуральной жидкости на фарфоровой пластинке добавляют каплю этого реактива. Образуется буроватый осадок.

Для изучения возбудителей аммонификации мочевины из едва заметной пленки на поверхности среды готовят препарат и окрашивают его фуксином. Чаще всего под микроскопом наблюдают клетки *Urobacitluspasteurii*, реже - *Planosarctna ureae*.

Лабораторная работа № 10

Тема: МИКРООРГАНИЗМЫ – НИТРИФИКАТОРЫ

Цель: Изучить нитрифицирующих бактерий на плотных средах.

Оборудование и материалы: Гелевые пластины, пропитанные соответствующей питательной средой, свежая почва, часовые стекла, палочки с оттянутым концом и трафарет, необходимые жидкие среды, колбы Эрленмейера, почва, алюминиевые ложки, реактив Несслера и цинк-иод-крахмал, 20%-ный раствор H_2SO_4 (или реактив Грисса), микроскопы и все необходимое для приготовления препаратов и микроскопирования, фарфоровые пластинки с лунками, дифениламин, растворенный в концентрированной серной кислоте.

Задание:

1. Согласно теоретической части приготовить необходимые реактивы и питательные среды.
2. Изучить фазы нитрификации.
3. На питательных средах выявить нитрифицирующие бактерии.
4. Сделать вывод о проделанной работе.

Под *нитрификацией* понимают процессы окисления аммиака до нитрита и нитрата. Эти превращения идут в две фазы. Вызывают их нитрифицирующие бактерии главным образом двух родов: *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*.

Энергию, выделяющуюся при окислении аммиака и нитрита, нитрификаторы используют для ассимиляции диоксида углерода. Бактерии, осуществляющие данный процесс, относятся к хемолитоавтотрофам и представляют собой облигатных аэробов.

Выявление нитрифицирующих бактерий на плотных средах

Первая фаза нитрификации. Для выявления бактерий первой фазы нитрификации (аммиак - нитриты) и определения относительного количества их в почве используют метод Виноградского на гелевых пластинах.

Промытые и прокипяченные пластины кремнекислого геля (в чашках Петри) пропитывают 3 - 5 мл среды Виноградского. Минеральная основа среды имеет следующий состав (г/200 мл дистиллированной воды): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 2,0; K_2HPO_4 - 1,0; MgSO_4 - 0,5; NaCl - 0,4; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 4; MgCO_3 или CaCO_3 - 5,0. Источник азота NH_4^+SC^- - 2 г. Лучшие результаты получают при замене $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ на фосфорно-аммонийномагниевою соль - $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot \text{MgCO}_3$; кроме того, важно растереть CaCO_3 перед приготовлением среды пестиком в стерильной ступке.

Питательную среду в чашках упаривают при $40^\circ - 50^\circ \text{C}$ до образования белой блестящей эмалевой поверхности, возникающей за счет равномерного распределения слоя $\text{MgCO}_3 > 3$ или CaCO_3 . Слой любого из этих веществ служит индикатором процесса нитрификации, так как в тех местах на геле, где развиваются нитрифицирующие бактерии, появляются зоны растворения карбонатов, в которых эти микроорганизмы и обнаруживаются.

По эмалевой поверхности пластин раскладывают определенное число комочков свежей почвы, для чего берут два стерильных часовых стекла. Затем в одно часовое стекло помещают почву, а в другое наливают дистиллированную воду. Палочкой с оттянутым концом, предварительно слегка проведя ее над огнем и смочив водой, захватывают комочки почвы диаметром 1-2 мм) и по трафарету раскладывают их по поверхности эмалевых пластин.

Чашки помещают во влажную камеру и ставят в термостат при $28-30^\circ \text{C}$. Через некоторое время (спустя 7, 14, 21 сут), в зависимости от активности нитрифицирующих бактерий, вокруг отдельных комочков почвы появляются зоны растворения мела, свидетельствующие об обрастании комочков почвы нитрифицирующими бактериями.

Чашки вынимают и подвергают анализу: определяют степень обрастания комочков почвы нитрифицирующими бактериями (в %), изучают морфологию их представителей и продукты жизнедеятельности.

Степень обрастания комочков почвы определяют следующим образом. Общее число комочков почвы, разложенных на чашке, принимают за 100%. Затем подсчитывают число комочков почвы, давших зоны растворения мела, и устанавливают, какой процент они составляют от общего числа комочков почвы. Полученная величина не дает представления об абсолютном количестве нитрифицирующих бактерий в почве. Однако если сопоставить степени обрастания ими комочков разных почв, то этот показатель позволит судить о том, в какой почве содержится больше нитрифицирующих бактерий.

Чтобы определить продукты жизнедеятельности бактерий первой фазы нитрификации, чистым ланцетом вырезают по 3 кусочка геля из зон растворения мела и с мест, в которых мел не растворился, помещают их изолированно в лунки белой фарфоровой пластины или в фарфоровые чашки. Сначала делают пробы с кусочками геля контрольных участков, где мел не растворился. Пробу на аммиак выполняют с реактивом Несслера: гель приобретает желтовато-оранжевую окраску, что свидетельствует о присутствии аммиака. Затем проводят пробу на нитрит с реактивом Грисса или цинк-иод-крахмалом, добавляя каплю 10%-ной серной кислоты: гель остается без изменений, что указывает на отсутствие нитрита.

Аналогичные пробы делают с кусочками геля, взятыми из зон растворения мела (или $MgCO_3$). В этом случае реакция на аммиак с реактивом Несслера отрицательная, т. е. гель не окрашивается. Реактив Грисса окрашивает гель в красный цвет, а цинк-иод-крахмал в кислой среде - в темно-синий, что свидетельствует о появлении азотистой кислоты.

Для знакомства с возбудителями первой фазы нитрификации из зон растворения мела берут иглой немного материала и готовят окрашенный препарат. При его микроскопировании можно обнару-

жить овальные клетки, похожие на ноль, - *Nitrosomonasi Nitrospira*. Первые встречаются в старопахотных почвах, вторые - в целинных.

Вторая фазанитрификации. Бактерии, вызывающие вторую фазу нитрификации (аммиак - нитриты), можно наблюдать на чашках с культурой первой фазы при более длительном их выдерживании в термостате. После исчезновения аммиака образовавшийся нитрит может окисляться до нитрата. В этом легко убедиться по исчезновению в среде нитрита и появлению нитрата. Для этого вырезают чистым ланцетом два кусочка геля, помещают их в фарфоровые лунки и об исчезновении нитрита судят по отрицательной реакции с реактивом Грисса или цинк - иод-крахмалом в кислой среде. С другим кусочком геля проводят пробу на нитрат с дифениламином в растворе концентрированной серной кислоты. В присутствии азотной кислоты гель приобретает темно-синий цвет (реакцию на нитрат с дифениламином делают только в отсутствие нитрита).

В препарате, приготовленном из мест растворения мела, взятого с поверхности чашки, в этот период можно обнаружить возбудителей второй фазы нитрификации - мелкие, слегка искривленные и угловатые клетки *Nitrobacter*.

В связи с тем, что коэффициент полезного действия хемосинтеза у нитрифицирующих бактерий очень низкий, рост их клеточной массы незначителен и на препаратах, приготовленных обычным способом, они обнаруживаются не всегда или с трудом.

Приготовление реактивов. Реактив Грисса состоит из двух растворов: первый - 0,5 г сульфаниловой кислоты в 150 мл разбавленной уксусной кислоты; второй - 0,1 г а-нафтиламина в 20 мл воды с добавлением 150 мл разбавленной уксусной кислоты.

Цинк-иод-крахмал: размешивают 4 г крахмала с небольшим количеством холодной воды, затем при постоянном помешивании прибавляют к кипящему раствору хлорид цинка (20 г в 100 мл воды). Смесь кипятят до растворения крахмала, добавляют 2 г сухого иодида цинка и доливают водой до 1 л. Раствор хранят в темном месте.

Методы измерения интенсивности «дыхания» почвы

Почвенный воздух имеет большое значение для почвенных процессов и роста растений. Он участвует в химических и биохимических процессах, протекающих в почве, оказывает влияние на окислительно-восстановительные условия в почве, ее реакцию и растворимость химических компонентов. Почвенный воздух важен для углеродного питания растений (более половины углекислого газа, идущего на формирование урожая сельскохозяйственных культур, потребляется растениями из почвы). Его состав изменяется во времени и по профилю почвы, зависит от внесения органических и минеральных удобрений, вида растений, биологической деятельности почвы, гидротермических условий и т. д.

В результате биологических процессов в почве поглощается кислород и выделяется углекислый газ, который идет на образование безазотистых органических веществ - углеводов:



Выделение углекислого газа из почвы в атмосферу в процессе диффузии зависит от продуцирования CO_2 почвой, ее физических и химических свойств, гидротермических условий. Решающая роль в продуцировании углекислого газа почвой принадлежит биологическим факторам, поэтому выделение CO_2 из почвы может характеризовать интенсивность биологических процессов в ней.

Газовый режим почвы складывается из следующих показателей: содержания воздуха в почве, его состава, аэрации и интенсивности выделения газов (CO_2 , N_2O , NO_2 , NH_3). Определения проводят каждые 15 дней или приурочивают к фазам развития растений. Одновременно ведут наблюдения за давлением и температурой воздуха и почвы.

Все методы определения дыхания почвы можно разделить на 3 группы:

1. Методы обогащения CO_2 в изолирующем устройстве (колоколе и др.): определяют начальная и конечная концентрации CO_2 в воздухе изолятора, установленного на поверхности почвы (Макаров, 1957).

2. Методы проветривания: ток воздуха протягивается через изолятор (колокол, цилиндр), поставленный на поверхность почвы, и углекислый газ непрерывно поглощается.

3. Методы абсорбции: под изолятор над почвой помещается сосуд со щелочью, которая непрерывно адсорбирует CO_2 (Штатнов, 1952).

Упрощенные методы определения интенсивности дыхания почвы основаны на учете количественных изменений углекислого газа в окружающем воздухе с помощью широкогорлых конических колб (Маштаков и др., 1954; Макаров и др., 1957).

Лабораторная работа № 11
Тема: ТОКСИЧНОСТЬ ПОЧВЫ КАК СЛЕДСТВИЕ
АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Цель: Изучить влияние загрязненности почвы около дорог на всхожесть и урожайность зеленой массы растений.

Оборудование и материалы: Пластиковые стаканчики 15 – 20 шт.; совок или лопата; семена кресс-салата, фасоли пятнистой (коэффициент всхожести не менее 95 %); чашки Петри, марля и водопроводная вода для замачивания семян.

Задание:

1. Набрать земли (гумусовый слой) у проезжей части дороги (на расстоянии 2 и 250 - 300 м от проезжей части). Для чистоты эксперимента важно, чтобы характер почвы и растительный покров были одинаковыми.

2. Замочить по 5 семян каждого вида растения (обложить влажной марлей) и посеять через неделю на глубину 1 – 2 см в приготовленную для опыта почву в пластиковых стаканчиках. Прodelать аналогичные действия с контрольным образцом почвы.

3. Через 2 – 3 дня определить коэффициент всхожести K как отношение числа всходов к общему числу семян. Чем больше коэффициент всхожести, тем жизнеспособность растения выше.

4. Через 2 недели проростки каждого вида растения измерить. Результаты занести в таблицу 5.

5. Сделать вывод о проделанной работе.

Таблица 5

*Влияние загрязнённости почв на всхожесть и длину проростков
зерновых растений*

№ п/п	Вид растения	Опыт		Контроль	
		К	Длина стебля, см	К	Длина стебля, см

Лабораторная работа № 12

Тема: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАСОЛЕННОСТИ ПОЧВ ГОРОДСКИХ УЛИЦ ПО СУХОМУ ОСТАТКУ ПОЧВЕННОЙ ВЫТЯЖКИ

Цель: Определить содержание водорастворимых солей в почве.

Оборудование и материалы: Весы теххимические, колбы на 500 мл; воронки; стеклянные палочки; ступки; сито с ячейкой 1 мм; выпаривательные чашки; водяная баня; фильтры; сушильный шкаф; дистиллированная вода, не содержащая CO₂.

Для борьбы с гололедом на городских улицах очень часто применяют поваренную соль (NaCl). Под действием соли лед тает, делается пористым и скользким. Однако образующийся рассол разъедает обувь пешеходов, высаливаясь на коже белой полосой, разъедает металлические части автомашин, портит шины. В самой же почве увеличивается концентрация почвенного раствора (особенно у почв с хорошим поглощающим комплексом: черноземов, глинистых почв), что приводит к дефициту доступной для растений влаги, нарушает их водный режим. Особенно ярко это проявляется у лип, растущих вдоль дорог. Хлорозы и некрозы листовой пластинки у лип под действием солей наблюдаются чаще всего во второй половине лета и начинаются с края листа, постепенно распространяясь на всю листовую пластинку. Живая ткань постепенно отмирает, и листья преждевременно опадают. Однако это явление неспецифично и может наблюдаться и под влиянием других факторов (газового загрязнения воздуха, ухудшения водного режима почв и растений).

Задание:

1. Приготовить почвенную вытяжку.
2. Определить сухой остаток.

3. Сделать вывод о проделанной работе.

Определяют сначала гигроскопическую влагу почвы и берут воздушно-сухую навеску с учетом этого показателя. Например, в почве содержится 4,56 % гигроскопической влаги. Соответственно навеска берется 104,56 или 52,28 г воздушно-сухой почвы (из расчета 100 и 50 г) абсолютно сухого образца.

Навеску почвы помещают в сухую колбу вместимостью 500 - 750 мл и приливают 5-кратное количество дистиллированной воды, не содержащей углекислоты (250 – 500 г). Колбу с навеской закрывают резиновой пробкой и взбалтывают 5 мин, после чего вытяжку фильтруют через складчатый фильтр. Фильтр помещают в воронку диаметром 15 – 20 см так, чтобы он лежал на 0,5 – 1 см ниже края воронки. Нельзя допускать, чтобы фильтр был выше воронки, так как в этом случае по краю фильтра образуются «выцветы» солей, и концентрация их в фильтрате снижается.

Перед тем как вылить вытяжку в фильтр, содержимое колбы встряхивают, чтобы взмутить навеску, и на фильтр стараются перенести по возможности всю почву. Это необходимо для того, чтобы частички почвы закольматировали поры фильтра, что способствует увеличению прозрачности фильтрата. При выливании суспензии струю направляют на боковую стенку фильтра, чтобы он не порвался. Вытяжку профильтровывают до тех пор, пока фильтрат не станет прозрачным. Анализ водной вытяжки начинают после того, как она полностью отфильтруется. Ее количество измеряют мерным цилиндром.

Водные вытяжки анализируют сразу же после их получения, так как под влиянием микробиологической деятельности может изменяться их состав (щелочность, окисляемость). Хранят вытяжку в колбе, закрытой пробкой.

Сухой остаток водной вытяжки дает представление об общем содержании в почве растворимых в воде органических и минеральных соединений. По величине сухого остатка определяют степень засоленности почв. 50 – 100 мл водной вытяжки помещают в фарфоровую выпари-вательную чашку диаметром 7 – 10 см (предварительно высушенную и взвешенную). Выпаривают, постепенно добавляя новые порции вытяжки.

По окончании выпаривания чашку с сухим остатком вытирают снаружи фильтровальной бумагой и высушивают в сушильном шкафу

при 105° С в течение 3 ч, охлаждают, взвешивают. Можно высушивание провести на слабо нагретой электроплитке, избегая только прокаливания остатка. Содержание растворимых веществ характеризуется величиной сухого остатка, выраженной в процентах:

$$\text{Сухой остаток, \%} = A \cdot 100/P,$$

где А - масса остатка, г; Р - навеска почвы, соответствующая взятому объему вытяжки, г.

Для того чтобы удалить из сухого остатка растворимые органические вещества, пробы в чашках прокаливают в муфеле при 600 ° С до белого цвета: 10 – 15 мин с момента достижения указанной температуры. Если озоление не произошло, то чашку охлаждают. Добавляют несколько капель дистиллированной воды и снова прокаливают.

Содержание водорастворимых солей в большинстве почв колеблется от сотых до десятых долей процента. Засоленными считаются почвы с содержанием солей более 0,2 %. Если в почвах содержание солей превышает 1 %, их относят к солончакам.

Лабораторная работа № 13

Тема: КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ

Цель: Освоить качественную реакцию определения нитратов дифениламином, сравнить содержание нитратов в различных частях овощей.

Оборудование и материалы: Свежие и лежалые овощи: свекла, морковь, картофель, огурцы, выращенные в парнике и открытом грунте, цветочная почка (кочан) капусты. Также можно использовать овощи, выращенные с применением удобрений. Инструменты: скальпель (ножницы), пипетка или шприц. Химические реактивы: дифениламин (кристалл), серная кислота (концентрированная).

Задание:

1. Приготовить срезы овощей у основания, сердцевины и периферийной части. У капусты срезы делают у внешних и внутренних глубоко лежащих листьев. В каждом случае выбирают контрольный и опытный образцы.

2. На свежий срез нанести 3 – 5 кристаллов дифениламина, через 2 мин капнуть на них 1 – 2 капли серной кислоты. Стойкое яркое посинение говорит о высоком содержании нитратов.

3. В столбцах «опыт» и «контроль» тщательно отмечается часть плода, который изучается на содержание нитратов, проставляют плюсы или минусы. Если окраска слабая и исчезает, то напротив соответствующего образца выставляют минус, если окраска слабо розовая, выставляют два плюса, если образуется сине-фиолетовое окрашивание – три плюса. Если окрашивание отсутствует, выставляют один минус. При неопределенных, сомнительных результатах проставляют минус /плюс.

4. Объяснить результаты, используя таблицу.

5. Сделать вывод о проделанной работе.

Таблица 6

Качество определения нитратов

№	Опыт	Контроль

Лабораторная работа № 14

Тема: ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Цель: Приобретение навыков микробиологического исследования пищевых продуктов.

Оборудование и материалы: микроскоп, набор красителей, иммерсионное масло, среда Эндо, молочно-солевой агар (к 100 мл МПА, содержащего 6,5% поваренной соли, перед употреблением 10 мл снятого стерильного молока, рН 7,4).

Употребление в пищу продуктов, обсемененных микробами или зараженных токсинами микроорганизмов может привести к пищевым отравлениям.

Пищевые токсикоинфекции вызываются:

- чаще всего представителями паратифозных бактерий из группы *Salmonella*; палочками *Breslau*, *Gartneri* и некоторыми другими.

- группой так называемых патогенных микроорганизмов (*Escherichiacoli*, *Bacteriumproteus* и другие).

- анаэробной палочкой *Clostridiumbotulinum*.

Чтобы не допустить пищевых отравлений на предприятиях пищевой промышленности проводят микробиологический контроль пищевых продуктов.

Объектами исследования могут быть различные пищевые продукты и приготовленные из них блюда (мясо, рыба, колбаса, консервы, молочные изделия, холодные блюда и другие).

Для исследования продуктов твердой консистенции берут пробы с поверхности и из глубины.

Задание:

1. С поверхности пищевого продукта (мясо, колбаса) сделать соскоб стерильным скальпелем с разных мест.

2. При взятии проб из глубины кусок пищевого сырья (5 - 10 г) обжечь или погрузить на 5 минут в кипящую воду. Затем разрезать его пополам, взять из центральной части небольшой кусочек (1 - 3 г) и сделать препараты отпечатки на стерильном предметном стекле, провести окраску по Грамму.

3. Произвести посевы на среде Эндо путем прикосновения поверхностью кусочка.

Если при микроскопировании препаратов-отпечатков обнаруживается много микроорганизмов, то перед посевом исследуемый кусочек растереть в ступке и из полученной кашицы сделать посев штрихом или шпателем в чашках со средой Эндо.

Продукты жидкой консистенции забирают для посева стерильными пипетками.

При исследовании консервов произвести тщательную стерилизацию поверхности банки. Перед посевом обжечь в пламени одну из сторон банки, где сделать затем стерильным ножом отверстие, через которое стерильной пипеткой взять материал для исследования. При исследовании жидкостей посевы произвести как непосредственно из жидкости, так и из осадка в ней после центрифугирования.

Для обнаружения стафилококка проводят микроскопию мазков и посев материала (крем кондитерских изделий и молочные продукты) на молочно-солевой агар.

4. Зарисовать в тетради форму клеток микроорганизмов.

5. Сделать вывод о проделанной работе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как биокосное тело – почва, представляет собой не только субстрат, на котором укрепляются растения, но и среду обитания почвенных микроорганизмов и животных, эволюционно сложившихся к настоящему времени на Земле. Вместе с тем сама почва преобразуется под влиянием этих живых организмов. Конечным результатом такого взаимодействия являются отмершие органические вещества, поступающие в почву, которые, разлагаясь, дают минеральные (газообразные, а также твердые) и гумусовые вещества. Последние представляют собой основной атрибут почвы. Все продукты разложения участвуют в малом биологическом круговороте, в котором растения обеспечиваются питательными веществами (азотом, фосфором, серой, кальцием и другими макро-, а также микроэлементами) и углекислотой для фотосинтеза. Таким образом, почва через органическое вещество является источником жизни, т.е. обеспечивает функционирование биосферы. Экологические функции почвы весьма многообразны.

В учебном пособии дается представление о всех основных группах организмов, составляющих почвенную биоту: почвенных животных, грибах, лишайниках, бактериях, вирусах и фагах. Подробно рассматривается участие почвенных организмов в круговороте веществ в потоках энергии, а также в почвообразовательных процессах. Особое внимание уделено микроорганизмам как наиболее важному звену почвенной биоты.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Акимцев В. В. Что такое микроудобрения и как они применяются в сельском хозяйстве / В. В. Акимцев. - 2-е изд., доп. - Ростов н/Д. : Изд-во Ростовского ун-та, 1961. - 25 с.
2. Арманд Д. Л. Наука о ландшафте / Д. Л. Арманд. - М.: Мысль, 1975. - 287 с.
3. Белов Н. В. Источники энергии геохимических процессов / Н. В. Белов, В. И. Лебедев // Природа. - 1957. - № 5. - С. 11-20.
4. Берманд Д. И. К определению понятий о почве и ее плодородии / Д. И. Берманд, С. С. Трофимов // Проблемы рекультивации земель в СССР. - Новосибирск: Наука, 1974. - С. 25-30.
5. Бигон М. Экология. Особи, популяции и сообщества / М. Бигон, Дж. Л. Харпер, Т. Р. Колин; пер. с англ. под ред. А.М. Гилярова. - М.: Мир, 1989. - 1144 с.
6. Биологические и биохимические основы плодородия почв: краткий курс лекций для аспирантов направления подготовки 35.01.06 Сельское хозяйство / Сост.: Е.А.Нарушева // ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». - Саратов, 2014. - с.
7. Биологические основы плодородия почвы (под. ред. гл. корр. ВАСХНИЛ д.б.н. О. А. Берестецкого). М., Колос, 1984. - 287 с.
8. Будыко М. И. Глобальная экология / М. И. Будыко. - М.: Мысль, 1977. - 328 с.
9. Вальков В. Ф. Экология почв: учебное пособие для студентов вузов: в 3 т. / В. Ф. Вальков, К. Ш. Казеев, С.И. Колесников. - Ростов н./Д: УПЛ РГУ, 2004. - 496 с.
10. Волобуев В. Р. Экология почв / В. Волобуев. - Баку, 1963. - 260 с.
11. Всемирная хартия почв // Почвоведение. - 1903. - № 7.
12. Добровольский Г. В. Влияние человека на почву как компонент биосферы / Г. В. Добровольский [и др.] // Почвоведение. - 1985. - № 12. - С. 55-65.
13. Добровольский Г. В. Основные проблемы охраны и рационального использования почв, земельных и биологических ресурсов суши / Г. В. Добровольский // Проблемы окружающей среды и природных ресурсов: бюллетень ВИНТИ, № 1. - М., 1979. - С. 30-36.

14. Добровольский Г. В. Почвенно-географическое районирование / Г. В. Добровольский, И. С. Урусевская // Почвенно-географические условия Нечерноземья. – М. : Изд-во МГУ, 1984. – 430 с.

15. Добровольский Г. В. Сохранение почв как незаменимого компонента биосферы: функционально-экологический подход / Г.В. Добровольский, Е. Д. Никитин ; Рос. акад. наук [и др.]. - М.: Наука, 2000. - 184 с.

16. Добровольский Г. В. Функции почв в биосфере и экосистемах / Г.В. Добровольский, Е.Д. Никитин. - М.: Наука, 1990. - 270 с.

17. Добровольский Г. В. Функционально-экологическая география почв / Г.В. Добровольский, Е.Д. Никитин // Почвоведение. - 1996. - № 1. - С. 16-23.

18. Добровольский Г. В. Экологические функции почв / Г.В. Добровольский, Е.Д. Никитин. - М.: Изд-во МГУ, 1986. - 137 с.

19. Добровольский Г. В. Экология почв: учение об экологических функциях почв: учебник по дисциплинам специализаций для студ. вузов, обуч. по специальности и направлению подгот. высш. проф. образования 013000 (020701) и 510700 (020700) «Почвоведение» / Г.В. Добровольский, Е.Д. Никитин; Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова. - М.: Наука, 2006. - 362 с.

20. Докучаев В. В. Сочинения: в 6 т. Т. 6: Преобразование природы степей: работы по исследованию почв и оценке земель, учение о зональности и классификация почв. 1888-1900 / В.В. Докучаев; под ред. Л.И. Прасолова, И.В. Тюрина. - М.; Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1951. - 596 с.

21. Дорст Ж. До того как умрет природа / Ж. Дорст; пер. с фр. М.А. Богуславской, Н. Б. Кобриной. - М., 1968. - 415 с.

22. Емцов В. Т., Мишустин Е. Н. Микробиология.- М. Колос, 1993.-383 с.

23. Жвирблянская А. Ю., Бакушинская О. А. Микробиология в пищевой промышленности. – М. : Пищевая промышленность, 1975. – 501 с.

24. Имитационное моделирование и экология = Simulation modeling and ecology: материалы подготовительного семинара СКОПЕ по проекту № 5 «Имитационное моделирование», Москва, 15-16 ноября, 1974 г. / АН СССР, Ин-т агрохимии и почвоведения, Науч. ком. Меж-

дунар. совета науч. союзов по проблемам окружающей среды, Сов. ком. СКОПЕ; [гл. ред. В. А. Ковда]. - М.: Наука, 1975. - 76 с.

25. Карпачевский Л.О. Лес и лесные почвы / Л.О. Карпачевский. - М.: Лесн. пром-сть, 1981. - 264 с.

26. Карягина Л. А. Микробиологические основы повышения плодородия почв. Минск, Наука и техника, 1983. с. 79-100.

27. Ковда В. А. Биогеохимия почвенного покрова / В. А. Ковда; АН СССР, Ин-т почвоведения и фотосинтеза; отв. ред. С. В. Зонн. - М.: Наука, 1982. - 263 с.

28. Ковда В. А. Основы учения о почвах: общая теория почвообразовательного процесса. Кн. 1 / В.А. Ковда; [отв. ред. Г.В. Добровольский]. - М.: Наука, 1973. - 447 с.

29. Ковда В. А. Роль и функции почвенного покрова в биосфере Земли / В.А. Ковда // Докл. на VII Делегатском съезде Всесоюз. о-ва почвоведов 9-13 сент. 1985 г., г. Ташкент. - Пушино, 1985. - 10 с.

30. Ковриго В. П., Кауричев И. С., Бурлакова Л. М. Почвоведение с основами геологии. М., Колос, 2000. - 416 с.

31. Кононова М. М. Органическое вещество почвы: его природа, свойства и методы изучения / М.М. Кононова; АН СССР. Почвенный ин-т им. В.В. Докучаева. - М.: Изд-во АН СССР, 1963. - 314 с.

32. Кравков С. П. Биохимия и агрохимия почвенных процессов. Л., Наука, 1978. - 291 с.

33. Лебедев В. И. Основы энергетического анализа геохимических процессов / В. И. Лебедев; Ленинградский гос. ун-т им. А. А. Жданова. - Л.: Изд-во Ленинградского ун-та, 1957. - 341 с.

34. Львович М. И. Вода и жизнь / М.И. Львович. - М.: Мысль, 1986. - 254 с.

35. Мармузова Л. В. Основы микробиологии, санитарии и гигиены в пищевой промышленности. - М. ИРПО, изд. центр «Академия», 2000. -136 с.

36. Минеев В. Г., Ремпе Е. Х. Агрохимия, биология и экология почвы. М., Росагропромиздат, 1990. - 206 с.

37. Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Микробиология. М., Колос, 1988. - 194 с.

38. Никитин Е. Д. О биогеоценологических функциях почв / Е.Д. Никитин // Вестн. Моск. ун-та. Серия: Почвоведение. - 1977. - № 4. - С. 3-8.

39. Никитин Е. Д. Роль почв в жизни природы / Е.Д. Никитин. - М.: Знание, 1982. - 47 с.

40. Общая экология: учебник для студ. вузов по экол. специальностям / авт.-сост. А.С. Степановских. - М. : ЮНИТИ-ДАНА, 2002. - 509,] с.

41. Одум Ю. Основы экологии: пер. с англ. / Ю. Одум; под ред. и с предисл. Н. П. Наумова. - М.: Мир, 1975. - 740 с.

42. Органическое вещество целинных и освоенных почв: экспериментальные данные и методы исследования / [отв. ред. М.М. Кононова]. - М.: Наука, 1972. - 278 с.

43. Орлов Д. С. Микроэлементы в почвах и живых организмах / Д.С. Орлов // Соросовский образовательный журнал. - 1998. - № 1. - С. 61-68.

44. Память почв. Почва как память биосферно-геосферно - антропоферных взаимодействий / Рос. акад. наук, Ин-т географии; отв. ред. В. О. Таргульян, С. В. Горячкин. - М.: ЛКИ, 2008. - 687 с.

45. Плотников В. В. На перекрестках экологии / В. В. Плотников. - М.: Мысль, 1985. - 208 с.

46. Пономарева В. В. Гумус и почвообразование / В. В. Пономарева, Т.А. Плотникова. - Л.: Наука, 1980. - 24 с.

47. Пономарева И. Н. Общая экология : [учебное пособие для студ. вузов, обуч. по направлению 050100 - Естественно-научное образование] / И.Н. Пономарева, В.П. Соломин, О. А. Корнилова ; под ред. И.Н. Пономаревой. - Ростов н/Д: Феникс, 2009. - 538 с.

48. Почвы и земельные ресурсы // Государственный доклад о состоянии окружающей природной среды Российской Федерации в 2000 году. - С. 25. - Официальный сайт Министерства природных ресурсов Российской Федерации. URL: <http://www.mnr.gov.ru> (дата обращения: 12.01.2012).

49. Практикум по экологии для бакалавров направления 050100 / С. Г. Баранов, С. Ю. Морев, Т. С. Бибик; Владим. гос. ун-т имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых. – Владимир: Изд-во ВлГУ, 2013. - 188 с.

50. Радкевич В. А. Экология: учебник для студ. биол. специальностей вузов / В.А. Радкевич. - 4-е изд., стер. - Минск: Вышэйшая школа, 1998. - 158,] с.

51. Ронов А. В. Осадочная оболочка Земли / А. В. Ронов. - М.: Наука, 1980. - 79 с.

52. Руководство к практическим занятиям по микробиологии.- М. МГУ, 1983.-221 с.

53. Соколов И. А. Пространственно-временная организация педосферы и ее эволюционно-экологическая обусловленность / И.А. Соколов // Почвоведение. - 1985. - № 7. - С. 12-22.

54. Соколов И. А. Взаимодействие почвы и среды: почва-память и почва-момент / И. А. Соколов, В.О. Таргульян // Сборник трудов по изданию и освоению природной среды. - М., 1976. - С. 150-164.

55. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере / гл. ред. Г.В. Добровольский. - М.: Наука, 2003. - 365 с.

56. Теппер Е. З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. - М. Колос, 1993.-175 с.

57. Тимофеев П. П. Проблемы энергетики осадочного процесса / П.П. Тимофеев, А.В. Щербаков // Литол. и полезн. ископ. - 1979. - № 1. - С. 3-22.

58. Шилов И. А. Экология : учебник для студ. биол. и мед. специальностей вузов / И.А. Шилов. - 4-е изд., стер. - М. : Высш. шк., 2003. - 511,] с.

59. Щербакова Т. А. Почвенные ферменты, их выделение, свойства и связь с компонентами почвы. // Почвоведение, 1980, № 5, с. 102-113.

60. Экологические функции литосферы / В. Т. Трофимов [и др.]; под ред. В.Т. Трофимова. - М.: Изд-во МРУ, 2000. - 432 с.

61. Яхонтов А. А. Зоология для учителя: в 2 т. / А. А. Яхонтов. - М.: Просвещение, 1968. - Т. 1. - 320 с.

Учебное электронное издание

ШЕНТЕРОВА Екатерина Михайловна
МАЗИРОВ Михаил Арнольдович
ГАФУРОВА Лазиза Акрамовна
и др.

БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ

Учебное пособие

Издается в авторской редакции

Системные требования: Intel от 1,3 ГГц; Windows XP/7/8/10; Adobe Reader;
дисковод CD-ROM.

Тираж 25 экз.

Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых
Изд-во ВлГУ
rio.vlgu@yandex.ru