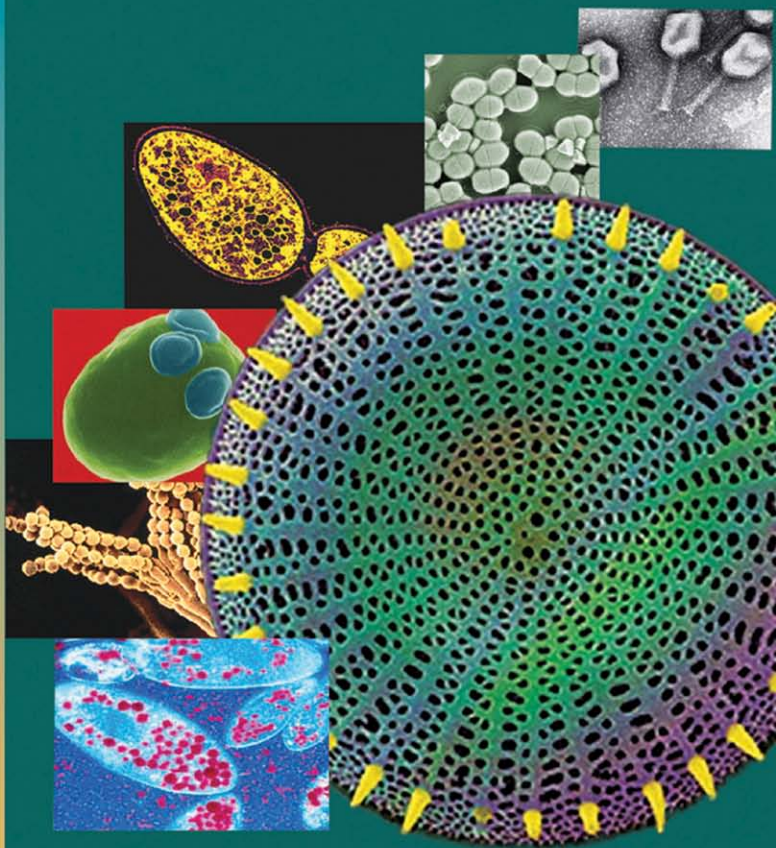


ВУЗ

студентам
учреждений
высшего
образования

Н.А. Белясова

Микробиология



Н.А. Белясова

Микробиология

*Утверждено
Министерством образования
Республики Беларусь
в качестве учебника для студентов
учреждений высшего образования
по специальностям
«Биотехнология», «Биоэкология»*



Минск
«Вышэйшая школа»
2012

УДК 579(075.8)
ББК 28.4я73
Б 44

Рецензенты: кафедра микробиологии Белорусского государственного университета (заведующий кафедрой доктор биологических наук, профессор *В.А. Прокулевич*); заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования» доктор медицинских наук, профессор *Н.Д. Коломиец*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или любой ее части не может быть осуществлено без разрешения издательства

Белясова, Н. А.
Б 44 Микробиология : учебник / Н. А. Белясова. – Минск :
Выш. шк., 2012. – 443 с: ил.
ISBN 978-985-06-2131-3.

Освещены вопросы классической микробиологии, включающие морфологию, систематику, физиологию, биохимию, экологию и эволюцию представителей разных таксономических групп микроорганизмов: прокариот, дрожжей и мицелиальных грибов, водорослей, протистов, вирусов, а также других неклеточных форм жизни.

Для студентов учреждений высшего образования по специальностям «Биотехнология», «Биоэкология».

Может быть полезен аспирантам и магистрантам, а также специалистам в области микробиологии.

УДК 579(075.8)
ББК 28.4я73

ISBN 978-985-06-2131-3

© Белясова Н.А., 2012
© Оформление. УП «Издательство
“Вышэйшая школа”», 2012

ПРЕДИСЛОВИЕ

Микроорганизмы известны человеку более трех веков и возраст науки микробиологии, их изучающей, столь же внушительен. Но много ли мы знаем о ее предмете? По оценкам специалистов, в настоящее время описано не более 6–7 % того разнообразия микроорганизмов, которые населяют нашу планету. Более того, даже наилучшим образом изученные микроорганизмы, как показала функциональная геномика, содержат до 40–50 % генов, чьи функции пока неизвестны. Иными словами, микроорганизмы оказались куда сложнее, чем представлялось, и полная расшифровка их биологических функций – задача будущего.

Микробиология сегодня переживает настоящий бум в описании новых видов *архебактерий*, *эубактерий*, *грибов*, *неклеточных форм жизни*, многие из которых обитают в экстремальных экологических нишах, ставших доступными для изучения совсем недавно. Столь же стремительными темпами развивается систематика микроорганизмов: каждый день организуется по несколько новых микробных таксонов. Генетика микроорганизмов достигла такого уровня, что в совокупности с данными в области биохимии и физиологии позволяет предсказывать *функции*, *поведение*, *метаболизм* микроорганизмов, для которых известны только последовательности нуклеотидов в ДНК. Важность подобной методологии тем более велика, что лабораторному культивированию поддается ничтожно малая часть распространенных в природе микроорганизмов, изучение остальных может быть основано только на анализе ДНК.

В создавшейся ситуации представляется актуальным обобщение нового материала, отсутствующего в русскоязычной учебной литературе по предмету.

Целью данной книги является систематизация современных знаний по основным разделам микробиологии, включая революционные изменения в классификации микроорганизмов, описание новых форм жизни.

Поскольку учебник предназначен для студентов двух инженерных специальностей – «Биотехнология» и «Биоэкология», в нем делается акцент на те аспекты жизнедеятельности микроорганизмов, которые наиболее важны для биотехнологических производств и защиты окружающей среды от загрязнений.

Значительное внимание в книге уделено способам использования в практической деятельности биотехнологами и биоэкологами теоретических знаний в области микробиологии.

Учебник состоит из пяти частей, каждая из которых посвящена одному из разделов микробиологии, причем структурные части связаны между собой. После знакомства с организацией и разнообразием микроорганизмов (часть I) студент переходит к изучению более сложных вопросов, связанных с особенностями физиологии (часть II) и обменом веществ у микроорганизмов (часть III). Часть IV посвящена роли микроорганизмов в экологическом равновесии в окружающей среде. Этот материал помогает осознать незаменимую роль микроорганизмов в поддержании жизни на Земле. В части V систематизированы наиболее сложные вопросы генетической изменчивости и эволюции микроорганизмов, которые для лучшего понимания изложены в несколько упрощенном виде.

Большое количество иллюстраций, содержащих *схемы процессов, классификаций, микрофотографии*, помогут студентам понять и запомнить особенности организации и функционирования микробных клеток, разобраться в сложных явлениях их жизнедеятельности.

Как и всякая наука, микробиология имеет свой арсенал терминов, многие из которых покажутся студентам инженерных специальностей новыми, непонятными. Значения этих слов приводятся в терминологическом словаре в конце книги. Перечень сокращений призван облегчить поиск нужных сведений.

Автор

ВВЕДЕНИЕ

Предмет и задачи микробиологии

Мир скрытых от невооруженного глаза маленьких живых существ гораздо более разнообразен и удивителен, чем макромир. В нем властвуют свои законы и порядки, он хранит тайны, разгадать которые призвана наука *микробиология*. Этот увлекательный раздел биологии изучает *морфологию, физиологию, систематику, биохимию, генетику* и *экологию микроорганизмов*, т. е. *микроскопических существ*. Кого же называют микроорганизмами?

К микроорганизмам относятся: все *прокариоты* (зубактерии и архебактерии), *отдельные эукариоты* (грибы, слизевики, простейшие животные, микроводоросли), а также *организмы с неклеточной организацией* (вирусы, вириды, вируссоиды, прионы). В *таксономическом* плане – это весьма неоднородная группа, представители которой различаются по своей организации, морфологии, физиологическим особенностям, способам запасания энергии, типам питания. Однако всех их объединяет малая величина особей – мы не способны видеть большинство данных организмов невооруженным глазом.

На рис. В1 представлена современная система классификации живых существ, населяющих нашу планету, и определено положение основных групп микроорганизмов в ней.

Кроме малой величины, микроорганизмы характеризуются рядом других признаков, отличающих их от макромира. Это, в первую очередь, *простота организации*, которая в наибольшей мере присуща неклеточным формам и прокариотам. Благодаря данной особенности микроорганизмы чрезвычайно легко приспосабливаются к меняющимся условиям окружающей среды. Легкость к адаптации объясняется и другим отличительным признаком микроорганизмов – их *способностью обитать в природных экосистемах в виде многочисленных популяций*, концентрация которых может достигать 10^8 – 10^9 кл./мл, а для вирусных частиц – на 2–3 порядка больше. С увеличением численности популяции увеличивается вероятность закрепления в ней «полезных» мутаций и, следовательно, повышается скорость естественного отбора. Кроме этого, микроорганизмы отличаются гораздо более высокими соотношениями площади

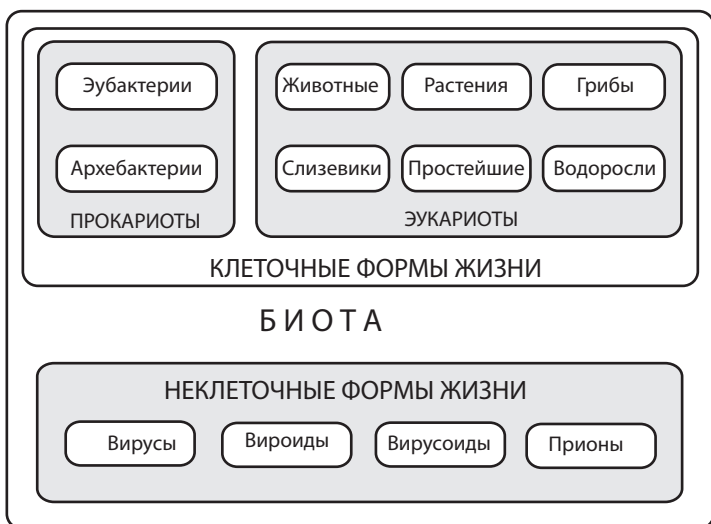


Рис. В1. Система классификации живых существ:

на заштрихованном поле – группы организмов, служащих объектами микробиологии

поверхности их клеток к объему, что способствует облегчению и ускорению процессов обмена с окружающей средой. Известно, что интенсивность метаболизма микробных клеток на несколько порядков выше, чем тканей растений и животных.

Для микроорганизмов характерны большее разнообразие ферментных систем и более мобильные способы регуляции обмена веществ, чем для макроорганизмов.

Все сказанное выше обуславливает наиболее высокую степень интенсивности и пластичности метаболизма, присущую микробным клеткам, обеспечивает им возможность выживать в самых неблагоприятных условиях окружающей среды, а также заселять экстремальные экологические ниши.

Важным свойством микроорганизмов является их *способность к быстрому размножению*. В идеальных условиях бактерии способны делиться каждые 20 мин, есть сведения, что некоторые почвенные бактерии удваиваются за 6–10 мин! Наконец, к числу отличительных свойств микроорганизмов следует отнести *отсутствие тканей*, что делает их непохожими на растения и животных.

Наиболее важные отличительные особенности представителей основных групп микроорганизмов приведены в табл. В1.

Таблица В1. Особенности организации микроорганизмов различных групп

Основные группы микроорганизмов	Особенности организации	Величина особей
Вирусы, вироиды, вирусониды, прионы	Неклеточные формы жизни, ультрапаразиты клеток, не обладают собственным метаболизмом	15–300 нм
Эубактерии, архебактерии	Прокариоты (греч. <i>pro</i> – до, <i>karion</i> – ядро): не содержат в клетках истинного ядра. Одноклеточные	0,1–10 мкм
Дрожжи, мицелиальные грибы, протисты	Эукариоты (греч. <i>eu</i> – истинный, <i>karion</i> – ядро): имеют в клетках настоящее ядро. Одноклеточные (дрожжи, многие протисты) и многоклеточные (мицелиальные грибы, некоторые протисты)	10–100 мкм

Роль микроорганизмов в природе. Жизнь макромира неразрывно связана с деятельностью микроорганизмов, более того, можно утверждать, что без биогеохимической активности микроорганизмов все формы жизни на Земле, включая человека, не могли бы существовать. Такое большое значение микроорганизмов для окружающей среды объясняется следующим.

Прежде всего, микроорганизмы осуществляют круговорот биогенных элементов, среди которых наибольшее значение для живых систем имеют *углерод* и *азот*. По некоторым оценкам, суммарное число клеток микроорганизмов на Земле составляет около $5 \cdot 10^{30}$, в них содержится столько же углерода, сколько во всех растениях, а азота и фосфора – в 10 раз больше, чем в общей растительной биомассе.

Микроорганизмы-редуценты, разлагая органику, осуществляют возврат в атмосферу углерода в форме CO_2 , который непрерывно потребляется в ходе темновых реакций фотосинтеза растениями. Кроме того, только микроорганизмы способны утилизировать отдельные, искусственно синтезированные человеком, органические вещества – отходы промышленных производств, пестициды, составляющие упаковочных материалов и т.п. Если бы не микробная деградация этих ксенобиотиков, они бы бесконечно накапливались в окружающей среде, загрязняя ее, а вместе с ними из биогеохимического оборота постоянно изымался бы углерод.

Содержание *азота* в почве, как известно, является лимитирующим фактором развития растений. При этом фиксация атмосферного азота (перевод его в доступную для растений форму) может осуществляться только представителями микроорганизмов – некоторыми *прокариотами*. Следует отметить и другой немаловажный этап круговорота азота – возвращение N_2 в атмосферу. Эту деятельность осуществляют *бактерии-денитрификаторы* в ходе анаэробного восстановления нитратов. Без их участия окисленные формы азота постоянно вымывались бы из почвы в моря и океаны, оставаясь там недоступными для растений. В процессе денитрификации образуются также оксиды азота, которые участвуют в поддержании озонового экрана планеты.

Микроорганизмы переводят в минеральную форму соединения *фосфора* и *серы*, способствуя также растворению их в воде, что делает данные элементы доступными для потребления растениями. Выделяя в ходе жизнедеятельности кислоты, многие почвенные микроорганизмы обуславливают растворение и других минералов. Совокупность перечисленных свойств дает основание относить микроорганизмы к факторам плодородия почвы.

Способность микроорганизмов быстро утилизировать органику в составе сточных вод, а также токсичные соединения (метан, оксид углерода, сероводород, аммиак, метанол, метилированные амины, многие ксенобиотики и др.) позволяет использовать их в системах биологической очистки. А в естественных экосистемах такие микроорганизмы выполняют функции «санитаров» планеты. Велика роль микроорганизмов в геохимических процессах: доказано их участие в формировании месторождений меди, марганца, серы, железа, нефти, фосфоритов.

Микроорганизмы на службе человека. Древние люди прежде осознали вред, который им могут причинять микроорганизмы, вызывая различные заболевания, а также порчу продуктов, поэтому развитие микробиологии стимулировалось вначале поиском способов борьбы с «вредными» микроорганизмами. Однако гораздо раньше человек интуитивно научился использовать деятельность микроорганизмов, даже не подозревая об этом. Так, известно, что уже в VI в. до н. э. в Вавилоне готовили пиво. С давних пор люди занимались хлебопечением, виноделием, получением кисломолочных продуктов и уксуса, росяной мочкой льна. Теперь известно, что все эти процессы обуслов-

ливают определенные микроорганизмы, всегда присутствующие на используемых субстратах.

Пожалуй, впервые роль микроорганизмов в хозяйственных процессах, в частности в спиртовом брожении, стала понятной, начиная с работ Луи Пастера (XIX в.). С тех пор с помощью микроорганизмов научились получать в промышленных масштабах *этанол, глицерин, метан, органические кислоты (молочную, лимонную, уксусную, глюконовую, итаконовую), органические растворители (ацетон, бутанол, пропанол, бутандиол), аминокислоты (лизин, глутаминовую кислоту, треонин, глутамин, пролин), ферменты (протеиназы, амилазы, реннины, трипсины, целлюлазы, изомеразы, липазы), антибиотики и стероиды, полисахариды (ксантаны, декстраны, альгинат, курдлан, пуллулан), поли- β -гидроксibuтират, гормоны (инсулин, соматостатин, интерферон, гормон роста человека), витамины (рибофлавин, B_{12}), средства защиты растений, стимуляторы роста растений, белок одноклеточных и множество иных продуктов.*

Производство всех перечисленных веществ относится к сфере *биотехнологии*. Кроме этого, к числу процессов, в которых активно используются микроорганизмы, можно причислить: *переработку отходов, биodeградацию ксенобиотиков, выщелачивание металлов из руд, многие отрасли пищевой промышленности, производство микроудобрений, ликвидацию последствий разливов нефтепродуктов на почве и в водоемах и многое другое.*

Этот перечень народно-хозяйственных отраслей, в которых задействованы микроорганизмы, позволяет оценить важность знаний в области микробиологии, поскольку ни один технологический процесс с участием микробных клеток не может быть осуществлен без понимания закономерностей роста, размножения, питания, метаболизма микроорганизмов, их отношения к факторам окружающей среды, типов взаимоотношений друг с другом и с макроорганизмами. Кроме того, рентабельность биотехнологических процессов напрямую зависит от активности штаммов-продуцентов, которые в последнее время чаще всего получают в процессе генно-инженерных манипуляций. Таким образом, грамотные биотехнологи обязаны знать основы генетики микроорганизмов. А для того чтобы можно было выделять из окружающей среды новые штаммы – объекты биотехнологических производств, следует разбираться в *экологических* аспектах микробиологии.

Неоценима роль микроорганизмов в *расшифровке закономерностей хранения и передачи наследственной информации, синтеза РНК и белка, регуляции метаболизма, структуры генетического кода, механизмов рекомбинации и репарации ДНК, в понимании основ мутагенеза и деятельности мобильных элементов, создании методологии генетической и белковой инженерии*. Можно утверждать, что разработка технологии рекомбинантных ДНК обязана, в первую очередь, открытиям, сделанным на микроорганизмах.

История развития науки

Первое опубликованное изображение микроорганизмов принадлежит английскому математику *Роберту Хуку*, который в совершенстве овладел техникой микрофотографирования и в 1665 г. издал знаменитую книгу «Микрография» с рисунками увиденных им микроорганизмов, в основном мицелиальных грибов.

Первооткрывателем бактерий считается *Антони ван Левенгук*. Этот преуспевающий голландский бизнесмен не получил университетского образования, он осваивал азы своей профессии будучи учеником в мануфактурной лавке. Возможно, именно там он научился пользоваться увеличительными стеклами, определяя качество выделки тканей. Чтобы добиться большего увеличения, Левенгук конструировал микроскопы, которые увеличивали объекты в 50–300 раз. С помощью этих микроскопов он рассматривал капли воды, биологические жидкости, налет с зубов и другие объекты, обнаруживая в них бесчисленное множество живых существ, не видимых никем до сих пор. Воодушевленный своим открытием, Левенгук стал описывать различные микроорганизмы, составляя научные отчеты, которые отправлял в Лондонское Королевское общество. Таким образом результаты исследований Левенгука получили известность. Естествоиспытатель открыл и описал представителей всех основных групп клеточных микроорганизмов: бактерий, дрожжей, микроводорослей, простейших, причем сделал это с высокой точностью. Его работы положили начало *описательному периоду* в истории микробиологии.

Существенно обогатили методологию микрофотографирования бактерий исследования *Пауля Эрлиха*, который предложил в 1881 г. метод прижизненной окраски бактерий метиленовым синим, а также работы *Ганса Христиана Грама*, разработавше-

го метод обнаружения различий между двумя основными типами клеточных стенок бактерий. Окраска по Граму и в настоящее время служит одним из основных этапов идентификации бактерий.

Описательный период в истории микробиологии длился слишком долго – не менее 150 лет. Новый период, который можно назвать *физиологическим*, начался с работ *Луи Пастера*. Согласно общепринятому мнению, его исследования по *физиологии и экологии микроорганизмов, описание возбудителей различных заболеваний человека и животных* положили начало микробиологии как истинной научной дисциплины.

Луи Пастер родился и жил во Франции, начав свою научную деятельность как химик. Однако вскоре он сделал выдающиеся открытия в области микробиологии: на примере развития микроорганизмов доказал невозможность самозарождения жизни; открыл анаэробноз – жизнь микроорганизмов в отсутствие молекулярного кислорода; пытаясь выявить причину скисания вина, доказал роль микроорганизмов в процессах брожения, изучил химизм спиртового, уксуснокислого, молочнокислого и маслянокислого брожения; нашел способ борьбы с контаминацией пищевых продуктов, в первую очередь пива и вина, – их кратковременный прогрев до температуры 50–60 °C (*пастеризация*); совместно с коллегами изобрел автоклав.

Неоценимый вклад внес Пастер в медицинскую микробиологию. Во многом благодаря своей научной интуиции, не зная основ наследственности (генетика еще не зародилась как наука), он научился получать ослабленные культуры патогенных микроорганизмов, которые использовал для вакцинации животных. Пастеру удалось получить эффективные вакцины против холеры кур, а позднее – против свирепствовавшей в то время в Европе сибирской язвы.

Эксперименты Пастера с кратковременным прогревом жидкостей не всегда оказывались успешными – в некоторых случаях и после нагревания до 100 °C в них развивались бактерии. Причину такого явления установил сторонник Пастера, английский физик *Джон Тиндаль*. Он первым предположил, а потом доказал существование у некоторых бактерий термостойчивых форм (эндоспор) и предложил оригинальный способ стерилизации жидкостей, содержащих спорообразующие бактерии – дробную стерилизацию (*тиндализацию*).

Принцип метода состоит в кратковременных прогревах жидкости, чередующихся с благоприятными для прорастания

эндоспор периодами, в результате чего погибают чувствительные к температуре вегетативные клетки, образующиеся из эндоспор.

Еще одна знаменитая школа микробиологов возникла во второй половине XIX в. в Германии. Ее возглавил немецкий ученый *Роберт Кох*. Этот исследователь и его ученики обогатили микробиологию следующими достижениями:

- ввели в практику плотные питательные среды, благодаря чему появилась возможность получать чистые культуры микроорганизмов в виде изолированных колоний на поверхности среды. *Фанни Хессе* – супруга одного из сотрудников Р. Коха – предложила использовать в качестве уплотнителя для сред агар-агар. Ассистент Р. Коха – *Юлиус Петри* – разработал стеклянные емкости для культивирования микроорганизмов на плотных средах, которые используются по сей день и называются *чашками Петри*;

- разработали методологию окраски бактерий анилиновыми красителями, что позволило обнаружить бактерии с гидрофобными клеточными стенками, которые не прокрашивались водными красителями;

- применили для улучшения разрешающей способности микроскопа иммерсионную систему, что дало возможность выявлять плохо различимые бактериальные формы;

- использовали микрофотографию;

- внедрили в микробиологическую практику способ химической стерилизации – дезинфекцию.

Все эти нововведения не были случайными, их упорно разрабатывал Р. Кох, стремившийся обнаружить возбудителя туберкулеза – «невидимку», которого никак не могли найти микробиологи. В то время от туберкулеза умирал каждый седьмой житель Европы, и Р. Кох был уверен в том, что данное заболевание вызывается микроорганизмами. Он сформулировал ряд подходов, необходимых для идентификации возбудителя заболевания, которые вошли в историю медицинской микробиологии как постулаты Коха. Такая непоколебимость мнений и плодотворная деятельность привели исследователя к успеху: в 1882 г. он доложил Берлинскому товариществу физиологов об открытии возбудителя туберкулеза, который с тех пор носит название «*палочка Коха*». Через два года в результате изучения эпидемии холеры в Египте и Индии Р. Коху удалось открыть возбудителя холеры. А в 1905 г. ученому присудили Нобелевскую премию по физиологии и медицине.

У истоков микробиологии в России стоял *Л. С. Ценковский* – ботаник и микробиолог, занимавшийся систематикой микроорганизмов. Ему принадлежит первая научно обоснованная классификация микроорганизмов, в которой он указал на близость бактерий и сине-зеленых водорослей. Ценковский описал много новых родов и видов микроорганизмов, внес вклад в разработку методов получения и сохранения вакцины против сибирской язвы.

В области медицинской микробиологии обрел знаменитость другой русский ученый – *И. И. Мечников*. Он был первым, кто описал явление фагоцитоза (1884), наблюдая под микроскопом, как подвижные клетки крови, которые он назвал *фагоцитами*, движутся к микробным клеткам, поглощают и переваривают их. Эти исследования определили роль клеток крови в разрушении болезнетворных микроорганизмов и послужили основой для развития *иммунологии*. В экспериментах на себе Мечников доказал роль холерного вибриона как возбудителя азиатской холеры. Им начаты исследования антагонистических отношений между микроорганизмами в инфекционном процессе, в частности он обнаружил антагонизм между молочнокислыми и гнилостными бактериями в желудочно-кишечном тракте человека и животных. В результате Мечников сформировал философское учение о продолжительности жизни и причинах старения, указав на особую роль рационального питания с содержанием в рационе большого количества кисломолочных продуктов. *И. И. Мечников* стал вторым русским ученым, удостоенным в 1908 г. Нобелевской премии за работы в области иммунологии.

Учеником, а впоследствии соратником Мечникова был советский микробиолог и эпидемиолог *Н. Ф. Гамалея*, который организовал в России первую бактериологическую станцию и впервые в стране осуществил вакцинацию людей против бешенства. Он создал противохолерную и оспенную вакцины, описал явление *бактериофагии* – разрушения бактериальных клеток под действием бактериофагов. Имя *Н. Ф. Гамалея* присвоено Институту эпидемиологии и микробиологии в Москве.

Первооткрывателем вирусов считается русский физиолог растений и микробиолог *Д. И. Ивановский*. Изучая болезни растений табака, он доказал заразность мозаичной болезни и обнаружил, что ее возбудитель способен проходить через поры фильтров, задерживающих самые мелкие бактериальные

клетки, а также диффундировать в агаровых гелях. Так был открыт новый тип инфекционных микроорганизмов, названных впоследствии *вирусами*.

Важнейшим событием XX в. считается открытие в 1928 г. *Александром Флемингом* первого антибиотика – пенициллина. В 1908 г. Флеминг стал лучшим студентом-медиком Лондонского университета и планировал стать хирургом, однако жизнь распорядилась иначе, и он стал бактериологом, сделав два замечательных открытия, практически случайно. В 1921 г. Флеминг заболел и обнаружил, что носовая жидкость «растворяет» бактерии на плотной среде. Так он открыл фермент *лизоцим*. В 1928 г., вернувшись из отпуска, Флеминг заметил на старых посевах стафилококков зоны лизиса вокруг колоний мицелиального гриба *Penicillium notatum*. Он изучил физико-химические и терапевтические свойства пенициллина и предложил его использование в качестве антисептика для обработки ран. Применение пенициллина для лечения ран и послеоперационных осложнений в годы Второй мировой войны было столь успешным, что, согласно мнению историков, в роли бактериолога Флеминг внес более весомый вклад в медицину, чем если бы он стал самым высококлассным хирургом.

Последняя четверть XIX в. в истории развития микробиологии ознаменована открытиями в области экологии микроорганизмов, осознанием важной роли микроорганизмов в происходящих в окружающей среде процессах, влияющих на поддержание жизни на Земле. Это, в первую очередь, независимые исследования русского микробиолога *С. Н. Виноградского* и голландского ботаника и микробиолога *Мартина Бейеринка*.

Виноградский открыл процесс хемосинтеза у микроорганизмов, выделив из почвы и изучив группу *нитрификаторов* – бактерий, способных извлекать энергию при окислении восстановленных неорганических соединений. Для этого ему пришлось разработать широко используемый сегодня *метод элективных культур*. Он показал особую роль этих бактерий в почве, состоящую в обеднении ее связанными формами азота, поскольку окисленные соединения азота легко вымываются из почвы с талыми водами и атмосферными осадками. Виноградский описал микробиологическое окисление соединений серы и железа, а также впервые выделил из почвы и охарактеризовал *анаэробные азотфиксирующие бактерии*. Этот ученый заложил основу современных представлений о роли микроорганизмов в круговороте веществ в природе.

Мартин Бейеринк выделил из почвы чистые культуры симбиотических и свободноживущих азотфиксирующих бактерий, в том числе анаэробных, и описал явление фиксации атмосферного азота. Решая данную задачу, он независимо от Виноградского разработал метод элективных культур. Кроме этого Бейеринк выделил чистые культуры сульфатредуцирующих бактерий, которые составляют важное звено в круговороте серы. Через 5 лет после Ивановского сформулировал вывод о небактериальном происхождении возбудителя табачной мозаики.

В 1941 г. американские исследователи *Джордж Бидл* и *Эдвард Тейтем*, изучая проявление индуцированных мутаций у грибов *Neurospora*, сумели приблизиться к пониманию функций генов и сформулировали свой знаменитый постулат «один ген – один фермент». Это достижение совпало во времени с серией открытий в области генетики микроорганизмов и его можно считать началом «генетического» периода в истории развития микробиологии.

В начале XX ст. биологи активно искали ответ на вопрос – какое вещество в клетке является носителем наследственной информации? Эксперименты по выяснению структуры этого вещества проводились на микроорганизмах как наименее сложно организованных и быстро воспроизводящихся биологических объектах. В 1944 г. американские ученые *Освальд Эйвери*, *К. Мак-Леод* и *М. Мак-Картни* опубликовали научное сообщение о роли ДНК в хранении и передаче наследственной информации, выполнив эксперименты по генетической трансформации бактерий.

В период с 1946 по 1952 г. *Дж. Ледерберг* (американский генетик) с сотрудниками обнаружили половые различия у бактерий, которые связаны с наследованием плазмид. Им удалось выявить и изучить два способа обмена генетической информацией у бактерий – *конъюгацию* и *трансдукцию*, а также закономерности рекомбинации генетического материала у этих микроорганизмов.

Наиболее значимым событием данного периода стала расшифровка структуры и функций ДНК. В 1953 г. американские ученые *Джеймс Уотсон* и *Фрэнсис Крик* предложили модель молекулы ДНК в виде двойной спирали, положив начало изучению механизмов передачи наследственной информации. Ученые – лауреаты Нобелевской премии (1962) – изучили структуру и функции бактериальных рибосом, на примере бактерий

определили роль РНК в процессе белкового синтеза, а также раскрыли механизм репликации ДНК. Вместе с коллегами в экспериментах на бактериофагах впервые установили основные принципы организации генетического кода.

Этот, далеко не полный перечень открытий и достижений генетического периода в микробиологии демонстрирует важность микроорганизмов как объектов, с помощью которых оформились такие новые научные направления, как *молекулярная биология, генетическая инженерия, молекулярная биотехнология, белковая инженерия* и др. Иными словами, микроорганизмы и их отдельные структуры стали инструментами, с помощью которых человек не только приблизился к пониманию тайн наследственности, но и научился перестраивать геномы, формировать новые организмы, лечить наследственные заболевания, т. е. управлять наследственностью.

Вопросы и задания для самоподготовки

1. Что изучает микробиология?
2. Что является предметом микробиологии? В чем его особенности?
3. Кто такие микроорганизмы? В чем их отличие от макроорганизмов?
4. Насколько однородны микроорганизмы как группа живых существ?
5. Чье разнообразие шире – макро- или микроорганизмов?
6. Кто лучше приспособлен к меняющимся факторам окружающей среды – макро- или микроорганизмы? За счет чего?
7. Могла бы природа обойтись без микроорганизмов? Аргументируйте ответ.
8. Мог бы человек обойтись без микроорганизмов? Аргументируйте ответ.
9. В чем состоят *случайность* и *закономерность* в истории развития микробиологии?

Часть I. МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Глава 1. ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК

Большинство организмов, населяющих нашу планету, имеет клеточное строение (см. рис. В1, табл. В1). Для всех клеток характерна общность организации:

- элементарные единицы живого, неделимые далее в функциональном отношении;
- клетки могут существовать как обособленные самостоятельные организмы или являться структурными частями многоклеточных организмов;
- через клетку производится поглощение веществ и выведение продуктов метаболизма;
- в клетке осуществляется превращение, запасание и использование вещества и энергии;
- в клетке хранится, воспроизводится и реализуется наследственная информация;
- клетки способны к самовоспроизведению и росту.

Любая клетка имеет в основе *протопласт* – содержимое клетки, окруженное плазматической мембраной.

Плазматическая мембрана, ограничивающая цитоплазму и формирующая протопласт, служит полупроницаемым барьером, не позволяющим содержимому клетки смешиваться с окружающей средой. В основе структуры плазматической мембраны лежит двойной слой полярных липидов (*бислои*), формирующих с помощью своих жирнокислотных остатков гидрофобную внутреннюю область, не проницаемую для большинства веществ. В липидный бислой вкраплены молекулы белков, которые участвуют в селективном транспорте веществ через мембрану, а также выполняют каталитическую и рецепторную (восприятие сигналов из окружающей среды) функции. Плазматическая мембрана – это эластичное образование, не способное служить механической защитой для протопласта.

Содержимое клетки называют *цитоплазмой*, и она состоит из бесформенного геля – цитозоля, в который погружены разнообразные органеллы и включения. *Цитозоль* – это концен-

трированный водный раствор аминокислот, сахаров, белков, липидов, низкомолекулярных органических соединений, ионов металлов, различных анионов и других веществ, имеющий вязкую консистенцию. Реакция среды цитозоля обычно нейтральная или слабощелочная (7,0–7,2).

Многие клетки снаружи плазматической мембраны имеют *клеточную стенку*. Чаще всего клеточные стенки микроорганизмов состоят из полисахаридов и являются довольно прочными. Их основная функция – защитная. Они, в частности, предохраняют клетки от физических повреждений.

В соответствии со структурой наследственного аппарата и некоторыми другими признаками, клетки делят на два типа: *эукариотические* (имеют истинное ядро) и *прокариотические* (не содержат истинного ядра). Эти типы клеток существенно различаются по организации и будут рассмотрены отдельно.

1.1. Структура эукариотической клетки

Типичной особенностью эукариотических клеток является *компарментализация*: многочисленные органеллы, расположенные в цитозоле, создают в клетке отдельные отсеки – *компартменты* (рис. 1.1), в каждом из которых осуществляются специфические процессы. Кроме этого в цитозоле, а иногда и в отдельных органеллах, могут содержаться включения, которые представляют собой запасные вещества. В эукариотической клетке насчитывается не менее восьми типов различных клеточных органелл, каждая из которых характеризуется специфической структурой и выполняет определенную функцию (рис. 1.1). Согласованное функционирование органелл и составляет основу жизнедеятельности клетки.

Ядро (рис. 1.2). Является самой крупной органеллой эукариотической клетки и достигает в диаметре 3–10 мкм. Содержимое ядра отделено от цитоплазмы ядерной оболочкой, которая, в свою очередь, состоит из двух слоев мембран, структура которых подобна структуре плазматической мембраны. В оболочке ядра имеются крупные поры, необходимые для транспорта молекул РНК в цитоплазму.

Гелеобразное содержимое ядра носит название *нуклеоплазма*, в нее погружены *хромосомы* – структурно оформленные с помощью белков-*гистонов* линейные молекулы ДНК. Для каждого вида организмов характерен свой уникальный набор,

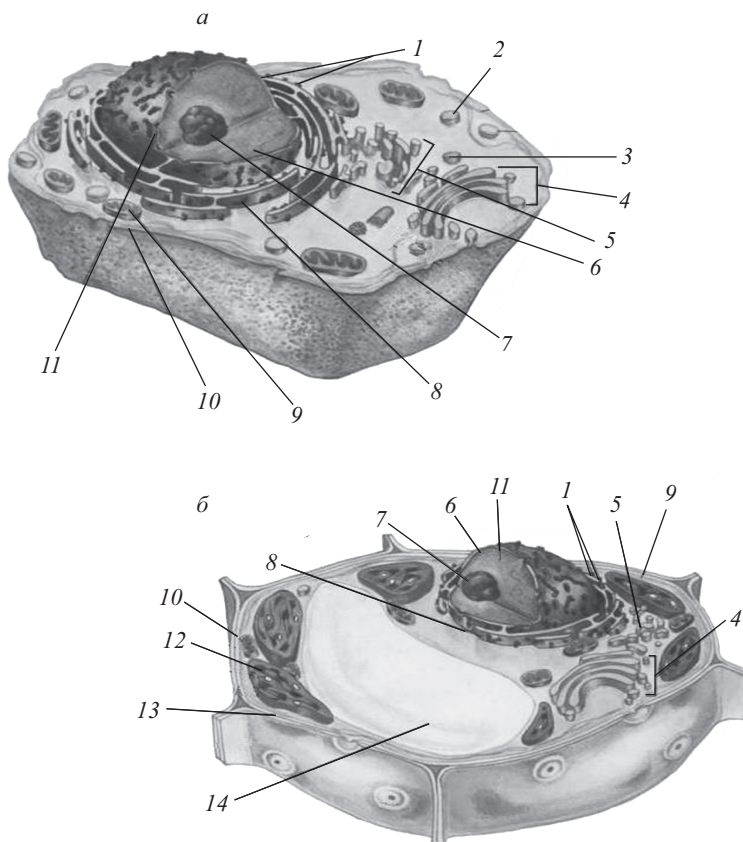


Рис. 1.1. Строение эукариотических клеток:

а – животной; *б* – растительной; 1 – рибосомы; 2 – пероксисома; 3 – лизосома; 4 – аппарат Гольджи; 5 – гладкий эндоплазматический ретикулум; 6 – ядро; 7 – ядрышко; 8 – шероховатый эндоплазматический ретикулум; 9 – митохондрии; 10 – плазматическая мембрана; 11 – ядерная мембрана; 12 – хлоропласт; 13 – клеточная стенка; 14 – вакуоль

в котором хромосомы различаются по структуре, форме, числу. В ядре, а именно в составе ядерной ДНК, хранится основная наследственная информация клетки. Ядра эукариотических клеток делятся с помощью *митоза* или *мейоза*.

При микроскопировании в ядре различают более уплотненный материал – *ядрышко*. Здесь содержатся молекулы ДНК, определяющие структуру рибосомальных РНК (рРНК), а также осуществляется синтез рРНК.

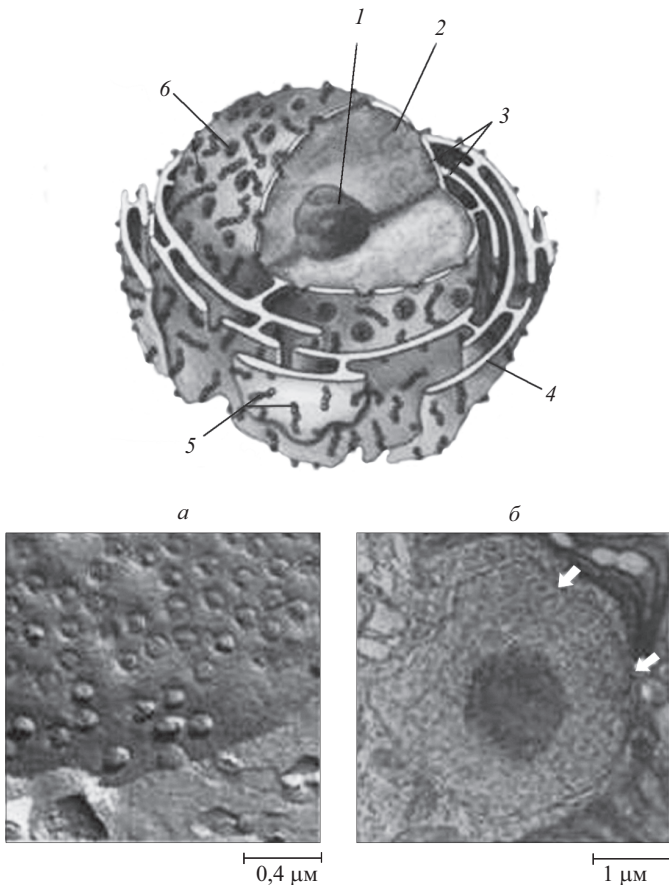


Рис. 1.2. Ядро эукариотической клетки:

a и *б* – электронные микрофотографии ядерной мембраны с порами при разном увеличении; 1 – ядрышко; 2 – хроматин (комплекс ДНК с белками-гистонами); 3 – двуслойная ядерная мембрана; 4 – шероховатый эндоплазматический ретикулум; 5 – рибосомы; 6 – поры в ядерной мембране

Ядра эукариот служат важнейшими, но не единственными носителями наследственной информации клетки. Аналогичную функцию выполняют элементы так называемой *внеядерной наследственности*. У эукариот внеядерная наследственность может быть представлена *плазмидами* (автономно реплицирующимися молекулами ДНК, чьи свойства более подробно описаны в § 1.3), *ДНК митохондрий* и *ДНК хлоропластов*.

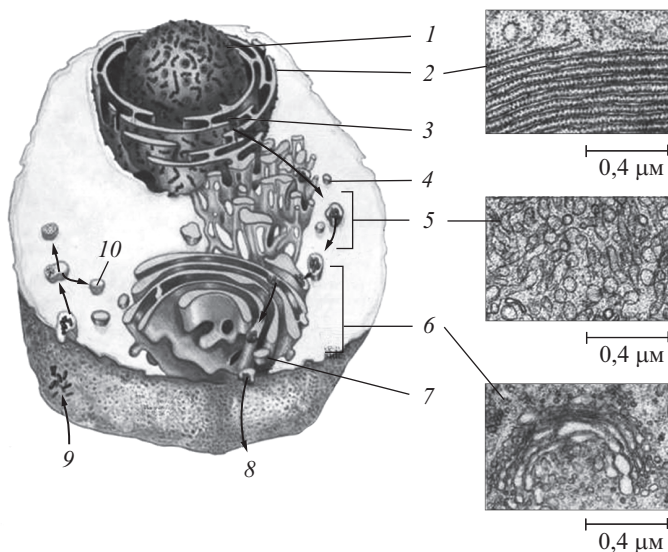


Рис. 1.3. Органеллы, относящиеся к сети цитомембран:

слева – схематическое представление; справа – электронные микрофотографии; 1 – ядро; 2 – шероховатый эндоплазматический ретикулум; 3 – синтезируемые на рибосомах секреторные белки; 4 – транспортные везикулы; 5 – гладкий эндоплазматический ретикулум; 6 – аппарат Гольджи; 7 – секреторные везикулы; 8 – экзоцитоз; 9 – эндоцитоз; 10 – лизосома

Особенностью эукариотических клеток является наличие в них сложнейшей сети *цитомембран*, которые имеют сходное с плазматической мембраной строение, связаны с нею и соединяют друг с другом различные клеточные органеллы (рис. 1.3). В результате создается разветвленная внутренняя мембранная система, участвующая, с одной стороны, в разграничении клеточных функций, а с другой, – в координации действий связанных мембранами органелл.

К числу органелл с выраженной цитомембранной структурой относятся, в первую очередь, эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи.

Эндоплазматический ретикулум (ЭР). Представляет собой обширную мембранную сеть, состоящую из уплощенных мешочков и цистерн. Часть мембран ЭР участвует в формировании наружной мембраны ядерной оболочки (см. рис. 1.3), другая часть связана со впячиваниями плазматической мембраны.

Различают два морфологических типа ЭР, которые выявляются при электронной микроскопии, – гладкий и шероховатый. У этих типов ЭР разные функции: в *гладком ЭР* локализуются многие ферменты, участвующие в обезвреживании токсичных веществ, на его поверхности осуществляется синтез липидов, а также расщепление гликогена. Мембраны *шероховатого ЭР* усеяны рибосомами, на которых протекает синтез белка (это, в основном, те белки, которые подлежат секреции из клетки или включению в плазматическую мембрану), здесь же формируется мембранный материал, необходимый клетке для увеличения числа органелл в процессе деления. Мембраны ЭР непосредственно связаны с наружной ядерной мембраной и аппаратом Гольджи.

Аппарат Гольджи (комплекс Гольджи). Это разветвленная сеть мембранных структур, по форме напоминающих стопки дисковидных мембран и связанных с ними многочисленных пузырьков (*везикул*). Расположен аппарат Гольджи в клетке обычно между ЭР и плазматической мембраной (см. рис. 1.3), что не случайно: продукты из ЭР направляются в аппарат Гольджи, где сортируются на секреторные (например, гормоны, литические ферменты) и те, которые будут функционировать в клетке. Здесь также происходит модификация белков, транспортирующихся с помощью секреторных везикул аппарата Гольджи к плазматической мембране и в ходе экзоцитоза выводящихся на ее поверхность. Созревание белков в аппарате Гольджи представляет собой их связывание с липидами или полисахаридами, в результате чего формируются, соответственно, липопротеины и гликопротеины. Эти вещества обычно включаются в состав клеточных стенок эукариот. С помощью везикул аппарата Гольджи эукариотические клетки осуществляют также секрецию внеклеточных ферментов.

Лизосомы. Представляют собой специализированные мембранные пузырьки (см. рис. 1.3), сформированные липидами и белками, происходящими из мембран комплекса Гольджи и плазматической мембраны. Лизосомы содержат разнообразные пищеварительные ферменты. В этих органеллах у эукариот осуществляются некоторые процессы расщепления сложных молекул или частиц. Одной из функций лизосом является расщепление прокариотических клеток, которые захватываются в ходе фагоцитоза. Низкомолекулярные продукты расщепления поступают в цитозоль и используются клеткой в качестве питательных веществ. Мембраны лизосом непроницаемы для литических

ферментов и устойчивы к их воздействию. Такая компартментализация процессов пищеварения позволяет защитить другие клеточные структуры от активности литических ферментов.

Микротельца. Это меньшие по размерам, чем лизосомы, но сходные с ними по функциям мембранные везикулы эукариот. В этих органеллах изолированно от содержимого клетки протекают метаболические реакции, в которых участвует пероксид водорода. Микротельца содержат *каталазу* – фермент, расщепляющий пероксид водорода на кислород и воду. Одним из типов подобных органелл являются *пероксисомы* (см. рис. 1.1). В них осуществляется окисление отдельных аминокислот с образованием пероксида водорода, который здесь же нейтрализуется. Если бы этого не происходило и пероксиды попадали в цитоплазму, они вызывали бы губительные для клетки необратимые реакции окисления важных клеточных метаболитов.

Вакуоли. Еще один тип эукариотических мембранных органелл, которые представляют собой относительно крупные резервуары изменчивой формы (см. рис. 1.1), выполняющие разнообразные функции. Одни типы вакуолей могут использоваться для хранения запасных веществ. Например, дрожжи запасают в вакуолях полифосфаты, аминокислоты, мочевую кислоту, у некоторых микроорганизмов в вакуолях могут накапливаться источники углерода, азота, фосфора. Другие типы вакуолей часто применяются клетками для вывода ненужных продуктов, в этом случае вакуоли могут связываться с плазматической мембраной в ходе цитозов. Иногда вакуоли используются как пищеварительные органеллы: в них осуществляется расщепление питательных веществ, а также ненужных собственных органелл.

Перечисленные выше мембранные органеллы и структуры (плазматическая мембрана, наружная ядерная мембрана, ЭР, аппарат Гольджи, лизосомы и микротельца, вакуоли) представляют собой систему взаимосвязанных клеточных мембран. Кроме них в эукариотической клетке функционируют обособленные органеллы с двойными мембранными оболочками (митохондрии и хлоропласты), а также структуры с немембранной организацией (цитоскелет, рибосомы).

Митохондрии. Представляют собой крупные органеллы, окруженные двойной мембраной, по форме и размерам часто напоминающие палочковидные бактерии (рис. 1.4). Между внутренней и внешней митохондриальными мембранами есть *межмембранное пространство*, заполненное жидкостью.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ВВЕДЕНИЕ	7
Предмет и задачи микробиологии	7
История развития науки	12
Часть I. МОРФОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ	
Глава 1. ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК	19
1.1. Структура эукариотической клетки	20
1.2. Различия в организации клеток прокариот и эукариот	30
1.3. Структура прокариотической клетки	32
Глава 2. ОСНОВЫ СИСТЕМАТИКИ МИКРООРГАНИЗМОВ	55
2.1. Принципы систематики	55
2.2. Генетические критерии систематики	57
2.3. Филогенетические критерии систематики	58
2.4. Фенотипические критерии систематики	60
2.5. Серологические критерии систематики	62
2.6. Иерархическая структура систем классификации	63
2.7. Филогения микроорганизмов	64
2.8. Современная классификация клеточных организмов и положение микроорганизмов в ней	65
Глава 3. МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ОСОБЕННОСТИ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОКАРИОТ	69
3.1. Морфология клеток прокариот	69
3.2. Характеристика способов размножения прокариот	73
3.3. Особенности классификации прокариот	75

Глава 4. ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ДОМЕНА BACTERIA	76
4.1. Протеобактерии	78
4.2. Грамотрицательные эубактерии других филогенетических ветвей	94
4.3. Грамположительные эубактерии	100
Глава 5. ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ДОМЕНА ARCHAEA	110
5.1. Физиолого-биохимические особенности архебактерий	112
5.2. Euryarchaeota	112
5.3. Crenarchaeota	116
5.4. Способы адаптации архебактерий к высокой температуре	118
Глава 6. ФИЛОГЕНИЯ ДОМЕНА EUKARYA	120
Глава 7. МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, КЛАССИФИКАЦИЯ ГРИБОВ	124
7.1. Особенности организации и филогения грибов	124
7.2. Физиология грибов	127
7.3. Хитридиомицеты (Chytridiomycetes)	133
7.4. Зигомицеты (Zygomycetes)	135
7.5. Гломеромицеты (Glomeromycetes)	137
7.5. Аскомицеты (Ascomycetes)	138
7.6. Базидиомицеты (Basidiomycetes)	140
7.7. Особенности морфологии и физиологии дрожжей	142
Глава 8. МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОСТЕЙШИХ И ВОДОРΟΣЛЕЙ	149
8.1. Дипломонады (Diplomonas) и парабазалии (Parabasalids)	151
8.2. Эвгленозои (Euglenozoans)	152
8.3. Альвеоляты (Alveolates)	155
8.4. Страменофилы (Stramenopiles)	159
8.5. Церкозои и радиолярии (Cercozoans, Radiolarians)	162
8.6. Амебозои (Amoebozoa)	163
8.7. Красные и зеленые водоросли	165

Глава 9. НЕКЛЕТОЧНЫЕ ФОРМЫ ЖИЗНИ	168
9.1. Вирусы	169
9.2. Вироиды	185
9.3. Сателлиты	186
9.4. Прионы	188

Часть II. ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глава 10. ПИТАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ	191
10.1. Химический состав микробной клетки	191
10.2. Источники биогенных элементов для микроорганизмов.	194
10.3. Факторы роста.	198
10.4. Типы питания микроорганизмов.	200
10.5. Способы поступления питательных веществ в клетку	203
10.6. Питательные среды.	207
Глава 11. ЗАКОНОМЕРНОСТИ МИКРОБНОГО РОСТА.	212
11.1. Рост микробной клетки	212
11.2. Рост микробной популяции	214
11.3. Параметры роста клеточной популяции.	219
Глава 12. ВЛИЯНИЕ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ	223
12.1. Физические факторы	224
12.2. Химические факторы	237
12.3. Методы стерилизации.	242
Глава 13. ОСНОВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ	247
13.1. Элективные методы культивирования	247
13.2. Получение чистых и смешанных культур	250
13.3. Методы периодического и непрерывного культивирования.	252
13.4. Синхронизация клеточных культур.	254
13.5. Культивирование в аэробных и анаэробных условиях	256
13.6. Способы хранения микроорганизмов.	258

Часть III. МЕТАБОЛИЗМ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ

Глава 14. СПОСОБЫ ЗАПАСАНИЯ ЭНЕРГИИ МИКРООРГАНИЗМАМИ.	261
14.1. Закономерности дыхания	263
14.2. Закономерности брожения	267
14.3. Закономерности фотосинтеза	269
Глава 15. ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ: ХЕМОСИНТЕЗ	271
15.1. Окисление водорода. Водородные бактерии	272
15.2. Окисление аммиака и нитрита. Нитрифицирующие бактерии	274
15.3. Окисление соединений серы. Тионовые бактерии	277
15.4. Окисление ионов металлов. Железобактерии	280
Глава 16. ПРОЦЕССЫ АНАЭРОБНОГО ДЫХАНИЯ.	282
16.1. «Нитратное дыхание». Нитратредуцирующие бактерии	283
16.2. «Сульфатное дыхание». Сульфатредуцирующие бактерии	285
16.3. «Серное дыхание».	288
16.4. «Карбонатное дыхание». Метаногенные архебактерии	289
16.5. «Карбонатное дыхание». Ацетогенные бактерии	291
16.6. Фумарат и другие органические акцепторы электронов.	292
16.7. Транспорт в клетку и восстановление ионов железа.	294
16.8. Другие неорганические ионы в качестве акцепторов электронов	295
Глава 17. ПРОЦЕССЫ БРОЖЕНИЯ	297
17.1. Спиртовое брожение.	298
17.2. Молочнокислое брожение	301
17.3. Пропионовокислое брожение	306
17.4. Брожение смешанного типа (муравьинокислое)	308
17.5. Маслянокислое и ацетонобутиловое брожение	310
17.6. Сбраживание аминокислот	314
17.7. Другие типы брожения	316

Часть IV. ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глава 18. МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА... 318

- 18.1. Водные экосистемы319
- 18.2. Почвенные экосистемы325
- 18.3. Экстремальные места обитания микроорганизмов...329
- 18.4. Микробиота воздуха.....332

Глава 19. РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

В БИОГЕОХИМИЧЕСКИХ ЦИКЛАХ334

- 19.1. Круговорот углерода.....334
- 19.2. Круговорот азота.....337
- 19.3. Круговорот серы.....340
- 19.4. Круговорот других элементов.....342

Глава 20. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ345

20.1. Типы популяционных взаимодействий.

Взаимодействие микроорганизмов346

20.2. Взаимодействие микроорганизмов с растениями ...353

20.3. Взаимодействие микроорганизмов

с животными и человеком.....359

20.4. Защитные механизмы человека. Иммуитет368

Глава 21. РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОЧИСТКЕ

ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ ОТ ЗАГРЯЗНЕНИЙ374

21.1. Оценка степени загрязнения и очистка воды.....375

21.2. Утилизация твердых отходов.....384

21.3. Биодеградация ксенобиотиков и других

поллютантов387

Часть V. ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Глава 22. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ ...394

22.1. Структура и функции наследственного аппарата ...394

22.2. Мутации, их вклад в изменчивость микроорганизмов...397

22.3. Горизонтальный перенос генов

и рекомбинация401

22.4. Достижения технологии рекомбинантных ДНК	405
Глава 23. ЭВОЛЮЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ	407
23.1. Эволюция прокариот	408
23.2. Эволюция эукариот	410
23.3. Происхождение вирусов	413
ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ	415
ЛИТЕРАТУРА	436

Учебное издание

Белясова Наталья Александровна

МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебник

Редактор *А.В. Новикова*

Художественный редактор *Т.В. Шабунько*

Технический редактор *Н.А. Лебедевич*

Корректоры *Т.К. Хваль, Н.Г. Баранова, О.В. Ракицкая*

Компьютерная верстка *И.В. Войцехович*

Подписано в печать 24.09.2012. Формат 84×108/32. Бумага офсетная.

Гарнитура «Times New Roman». Офсетная печать. Усл. печ. л. 23,52.

Уч.-изд. л. 29,2. Тираж 700 экз. Заказ 2178.

Республиканское унитарное предприятие «Издательство “Вышэйшая школа”».

ЛИ № 02330/0494062 от 03.02.2009. Пр. Победителей, 11, 220048, Минск.

e-mail: market@vshph.com <http://vshph.com>

Филиал № 1 открытого акционерного общества «Красная звезда».

ЛП № 0233/0494160 от 03.04.2009.

Ул. Советская, 80, 225409, Барановичи