

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА L-ТРАНСФОРМАЦИИ В ПОПУЛЯЦИИ САЛЬМОНЕЛЛ МЕТОДАМИ ЭЛЕКТРОННОЙ И ЛАЗЕРНОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ

А.Ю. АРСЕНЮК¹, И.Б. ПАВЛОВА¹, П.С. ИГНАТЬЕВ²

Существование бактерий в отсутствие клеточной стенки — весьма своеобразное и широко распространенное явление, к которому неприменимы принципы классической микробиологии. L-трансформация бактерий с образованием L-форм затрудняет обнаружение патогенов и служит причиной многочисленных ложноотрицательных заключений по результатам биопроб, так как L-формы находятся в некультивируемом состоянии. Процесс L-трансформации при воздействии абиотического (тетрациклин) и биотического (биологически активные вещества *Bacillus subtilis* segovar *typhimurium* методами просвечивающей и сканирующей электронной (ПЭМ и СЭМ), а также лазерной модуляционной интерференционной (МИМ) микроскопии. Выявлены закономерные морфологические признаки L-форм, способных реверсировать в исходное состояние. С появлением методов оптической микроскопии, обладающих сверхразрешением, стало доступно изучение процесса L-трансформации в режиме реального времени на живых бактериях (без фиксации и окрашивания). Полученные на лазерном интерференционном микроскопе МИМ-321 (Россия) трехмерные фазовые портреты позволили не только однозначно идентифицировать L-формы бактерий, но и с высокой точностью определить их основные морфологические параметры (диаметр, периметр, высота, площадь, объем). С применением современных алгоритмов обработки этих данных внутри нестабильных L-форм зарегистрированы кольцевые структуры, идентифицированные нами как ДНК. Гетероморфизм со всеми проявлениями L-трансформации характерен для патогенных и условно патогенных бактерии (как в норме, так и при действии любых абиотических и биотических факторов), что способствует выживанию вида. Изучение биологических особенностей L-трансформации имеет важное значение для понимания процессов существования потенциальных резервуаров возбудителей в природе, а также в патогенезе рецидивов хронических заболеваний.

Ключевые слова: L-трансформация, гетероморфизм, биологическая изменчивость, абиотические и биотические факторы, биологически активные вещества, популяции патогенных бактерий, стабильные и нестабильные L-формы, реверсия, просвечивающая и сканирующая электронная микроскопия, лазерная интерференционная микроскопия.

Изучение теоретических аспектов биологической изменчивости патогенных микроорганизмов и их выживаемости при воздействии L-трансформирующих агентов до сих пор остается актуальным. Как известно, под влиянием неблагоприятных факторов популяции патогенных бактерий способны переходить в состояние гетероморфизма с различными проявлениями L-трансформации, включая образование клеток сферопластного или протопластного типа разного размера и конфигурации, а также мелких L-форм, лишенных клеточных стенок (1-4).

Нестабильные L-формы представляют собой клетки, изменившие морфологические, физиологические и биохимические характеристики и утратившие типичный бактериальный характер, но сохранившие геном и при благоприятных условиях (питательный субстрат, температура, pH) способные к реверсии за счет саморегулирующейся системы, необходимой для построения новой клеточной стенки. Стабильные L-формы — это клетки, потерявшие способность к реверсии в исходное состояние. До настоящего времени нет единого мнения об их роли в биологических процессах как в окружающей среде, так и в организме хозяина.

Целью настоящей работы было изыскание новых способов выявления L-форм, а также объективной оценки их стабильности, поскольку до недавнего времени реверсия оставалась основным критерием при идентификации нестабильных L-форм.

Методика. В качестве модельного объекта использовали *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* (штамм 1951 из коллекции музея Всероссийского НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии).

Для изучения ультраструктуры сальмонелл препараты фиксировали 4 % глутаровым альдегидом в фосфатном буфере (рН 6,9-7,0), образцы обезжизняли и заливали в эпоксидные смолы. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и изучали с использованием просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) со сканирующей приставкой Hitachi-800 (Япония).

При исследовании популяций в колониях и микроколониях с сохранением естественной архитектоники был использован метод, основанный на способности биологически активных веществ (БАВ), продуцируемых *Bacillus subtilis*, диффундировать через поры мембранных фильтров в плотную питательную среду. Культуру бактерий-антагонистов *B. subtilis* (ГНП-3, получен из коллекции музея Якутского НИИ сельского хозяйства) (50 мкл, плотность суспензии 10^9 кл/мл) наносили в виде капли в центр мембранного фильтра Владипор (ООО «Владипор», Россия) с диаметром пор 0,22 мкм, помещенного на поверхность плотной питательной среды МПА, и культивировали при 37 °С. Через 48 ч выявлялся обильный рост колоний. Такие фильтры удаляли и вместо них помещали новые, на поверхность которых наносили взвесь исследуемых сальмонелл (10^5 кл/мл). Контролем служили варианты, в которых сальмонеллы росли без воздействия БАВ *B. subtilis*. Для установления стабильности L-форм и выявления процесса реверсии клеток в исходную форму часть фильтров с отсутствием видимого роста бактерий помещали для подращивания на поверхность свежей питательной среды (МПА) и культивировали в течение 5 сут при 37 °С. Выросшие на поверхности мембранных фильтров колонии фиксировали парами 25 % глутарового альдегида, 2-кратно обезжизняли парами пропиленоксида, монтировали на медные подложки и напыляли золотом на установке Hitachi-E-102 (Япония). Морфологию популяций сальмонелл исследовали на электронном микроскопе Hitachi-800 со сканирующей приставкой Hitachi-8010 (Япония) при ускоряющем напряжении 75 кВ и инструментальном увеличении от $\times 1$ до $\times 30\,000$.

Для сравнения морфологии выявленных стабильных и нестабильных L-форм бактерий использовали модуляционный интерференционный микроскоп (МИМ, модель МИМ-321) производства ООО «Лаборатории АМФОР» (Россия). Препараты готовили следующим образом: на зеркальную подложку, предварительно покрытую тонким слоем парафина, наносили 10 мкл культуры сальмонелл (10^5 кл/мл), которую, как при приготовлении мазка крови, с помощью специального стекла равномерно тонким слоем распределяли по поверхности. Для исследования процесса L-трансформации на поверхность бактерий помещали каплю глицерина с растворенным в нем тетрациклином (25 мкг).

Данные обрабатывали статистически с использованием программных пакетов MIM-Visualizer производства ООО «Лаборатории АМФОР» (Россия) и Microcal ORIGIN

Результаты. Ультраструктурный анализ (ПЭМ) выявил у сальмонелл характерное для грамотрицательных бактерий строение клеточной стенки. Она состояла из наружного липопротеидного и внутреннего мукопептидного (пептидогликан) слоя в виде одноконтурной структуры, определяющей ригидность клеточной стенки. За ней располагался жизненно важный органоид — цитоплазматическая мембрана, представленная характерной трехслойной липопротеидной структурой (мембрана Робертсона).

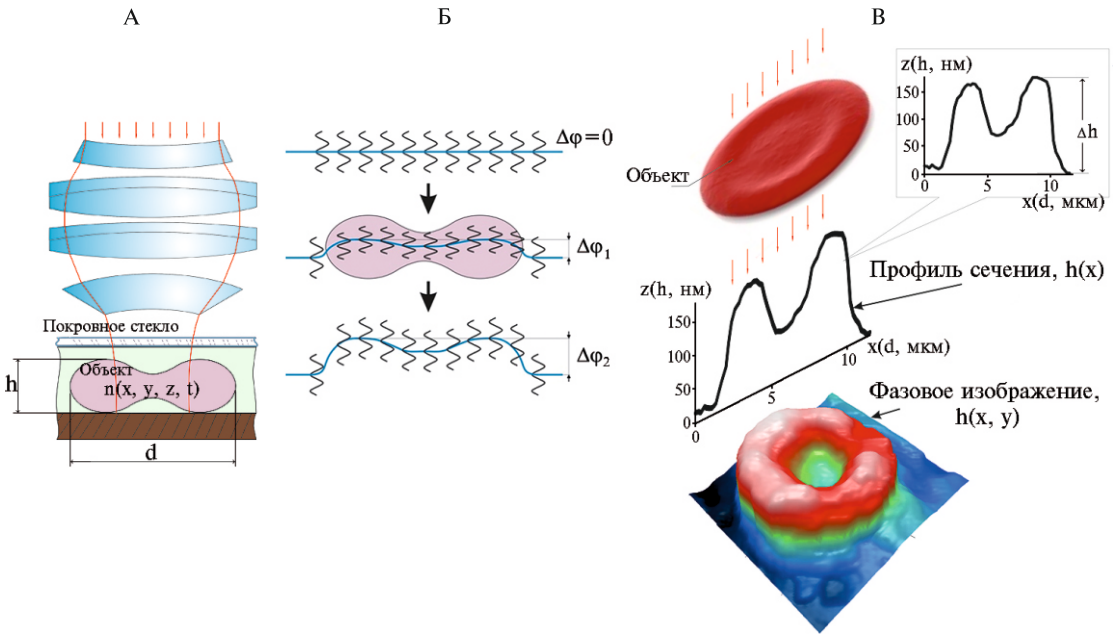


Рис. 1. Схематические изображения положения просматриваемого объекта (эритроцит человека) (А), прохождения через него волнового фронта (Б) и получение фазового портрета объекта (В) методом лазерной модуляционной интерференционной микроскопии (МИМ): h и d – соответственно толщина и диаметр эритроцита, x, y, z – координаты точки в пространстве, t – время, $n(x, y, z, t)$ – распределение показателя преломления для объекта, $\Delta\varphi, \Delta\varphi_1$ и $\Delta\varphi_2$ – задержки фазы волнового фронта при прохождении излучения лазера сквозь модельный объект. Микроскоп МИМ-321 (производство ООО «Лаборатории АМФОРА», Россия).

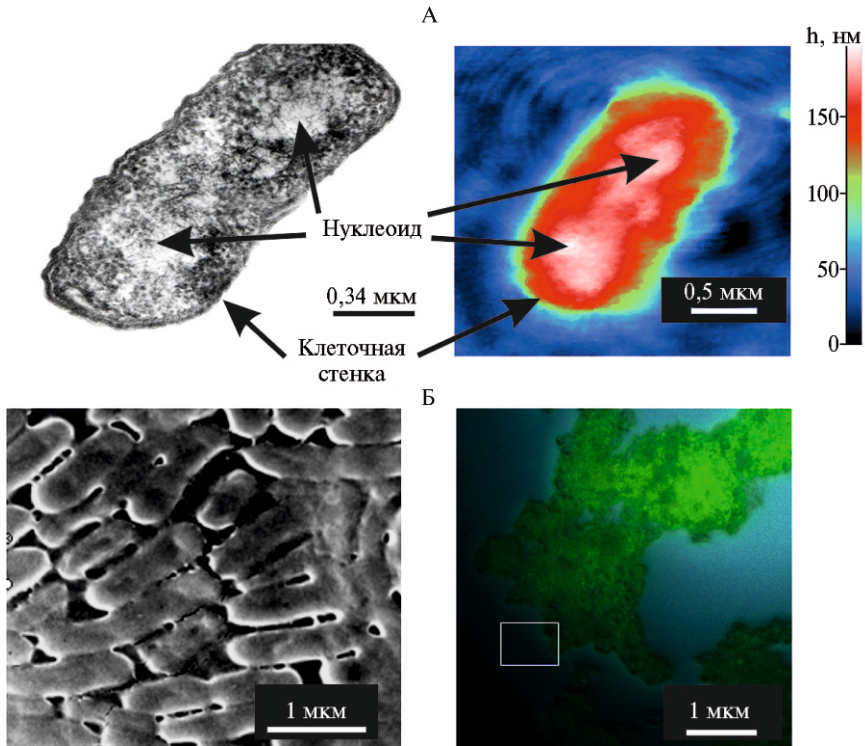


Рис. 2. Изображения клетки (А) и популяции (Б) *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* в норме, полученные с помощью просвечивающей (выявление ультраструктуры) и сканирующей электронной микроскопии (ПЭМ) (соответственно А и Б, слева), а также лазерной модуляционной интерференционной микроскопии (МИМ) (А и Б, справа). Электронный микроскоп Hitachi-800 (Япония) с соответствующими приставками Hitachi, лазерный интерференционный микроскоп МИМ-321 (ООО «Лаборатории АМФОРА», Россия).

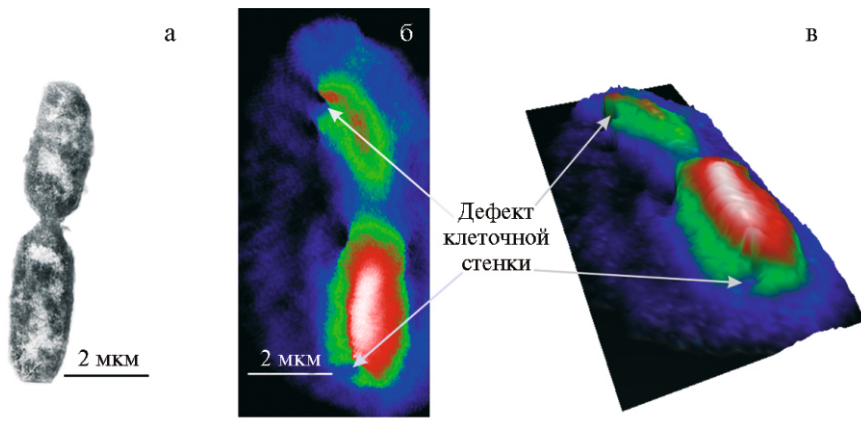


Рис. 3. Изображения делящейся *Salmonella enterica serovar typhimurium*, полученные с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (а) и лазерной модуляционной интерференционной микроскопии (МИМ) (б – фазовый портрет, в – 3D отображение фазового портрета). Электронный микроскоп Hitachi-800 (Япония) с соответствующими приставками Hitachi, лазерный интерференционный микроскоп МИМ-321 (ООО «Лаборатории АМФОР», Россия).

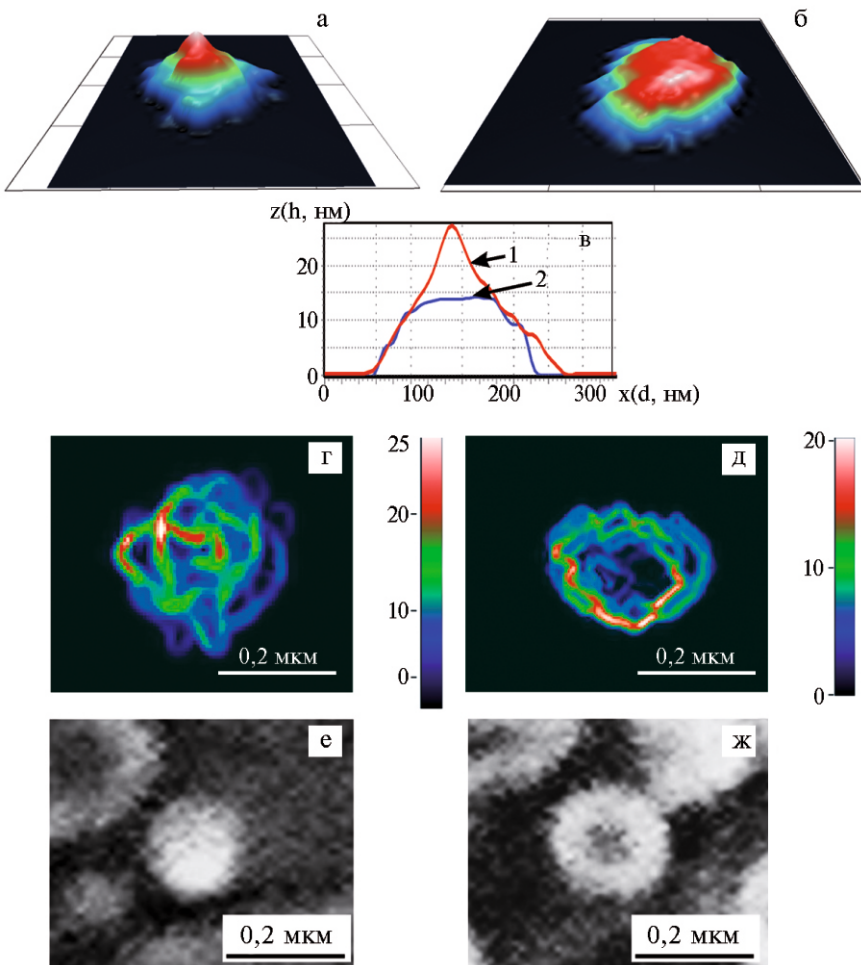


Рис. 5. Изображения нестабильных и стабильных L-форм *Salmonella enterica serovar typhimurium*, полученные методами лазерной модуляционной интерференционной (МИМ) (а-д) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) (е, ж): а, б – 3D фазовые портреты соответственно нестабильной и стабильной L-формы, в – профили поперечного сечения фазовых портретов нестабильной (1) и стабильной (2) L-формы, г, д – градиентные (обработанные с целью выделения внутренней структуры) фазовые портреты соответственно нестабильной и стабильной L-формы; е, ж – электронная микрофотография соответственно нестабильной и стабильной L-формы; h и d – соответственно толщина и диаметр объекта, x, y, z – координаты точки в пространстве. Электронный микроскоп Hitachi-800 (Япония) со сканирующей приставкой Hitachi-8010, лазерный интерференционный микроскоп МИМ-321 (ООО «Лаборатории АМФОР», Россия).

Основной генетический компонент бактерии — молекула ДНК (нуклеоид, не имеющий оболочки) была свободно распределена среди рибосом и полирибосом цитоплазмы (5).

В то время как ультраструктурный анализ (ПЭМ) позволяет выявлять только статическое состояние органоидов, МИМ дает возможность без трудоемкой предварительной пробоподготовки изучать в режиме реального времени нативную структуру бактериальной клетки и естественное состояние ее органоидов.

Принцип действия использованного нами микроскопа МИМ основан на измерении разности фаз $\Delta\varphi$ при прохождении лазерного излучения через микрообъект (6, 7). На рисунке 1 (цветная вклейка после стр. 56) схематично показано возникновение локальных задержек фазы в случае модельного объекта — эритроцита человека. Для нахождения искомой функции $\Delta\varphi$ объект освещают плоским волновым фронтом. При прохождении через объект фронт приобретает локальные задержки фазы, которые зависят от плотности и геометрии объекта. Для определения величины задержки используется интерферометр, в котором световая волна, прошедшая через объект, складывается с плоской опорной волной. Возникающая таким образом интерференционная картина позволяет вычислить искомую задержку фазы $\Delta\varphi$.

Трехмерное представление функции $\Delta\varphi(x, y, z)$ называется фазовым портретом, который относят к классу функциональных изображений, где информация представлена в виде распределения количественного параметра — разности фаз $\Delta\varphi(x, y)$ световой волны, связанной с оптической плотностью исследуемого микрообъекта. Для простоты восприятия и интерпретации фазовых портретов разность фаз, измеряемая в градусах, может быть выражена в нанометрах. Для визуализации внутренних структур клетки использовался метод градиентной фильтрации изображения, который позволяет визуализировать области с максимальной крутизной рельефа. У МИМ-321 разрешение превосходит таковое у классических оптических микроскопов и достигает от 150 до 15 нм в зависимости от оптических свойств измеряемого объекта и техники исследования.

На изображениях сальмонелл в контроле, полученных методами ПЭМ (рис. 2, А, см. цветную вклейку после стр. 56) и МИМ (см. рис. 2, Б), видна многослойная клеточная стенка, цитоплазма и нуклеоид. Разница в размерах сальмонелл была обусловлена неодинаковыми способами пробоподготовки: для изучения ультраструктуры проводили фиксацию, обезвоживание и заливку в эпоксидные смолы, что уменьшает объем и размеры структурных элементов бактериальной клетки, в то время как прижизненное исследование на МИМ-321 дает реальный фазовый портрет поверхностных и внутренних структур.

Поскольку при сканирующей электронной микроскопии применялись щадящие методы фиксации и обезвоживания, не нарушающие естественную архитектуру в микробном сообществе, удалось получить объективную информацию о нативном состоянии бактерий в популяциях (8-10). Было установлено, что бактерии формируют колонии и микроколонию, где тесно связаны между собой благодаря наличию экзопродуктов различной природы, продуцируемых клеточной стенкой и образующих межклеточный матрикс, от степени развития которого зависит образование покровов — биопленок (см. рис. 2, Б, слева).

Как известно, неблагоприятное воздействие на бактерии приводит к нарушению нормального бинарного деления. Использование МИМ-321 позволило на ранних стадиях в реальном времени регистрировать влияние L-

трансформирующего фактора. Так, при воздействии тетрациклина зафиксировали нарушения целостности клеточной стенки, что свидетельствует о начальной стадии проявления гетероморфизма (рис. 3, б, в; см. цветную вклейку после стр. 56).

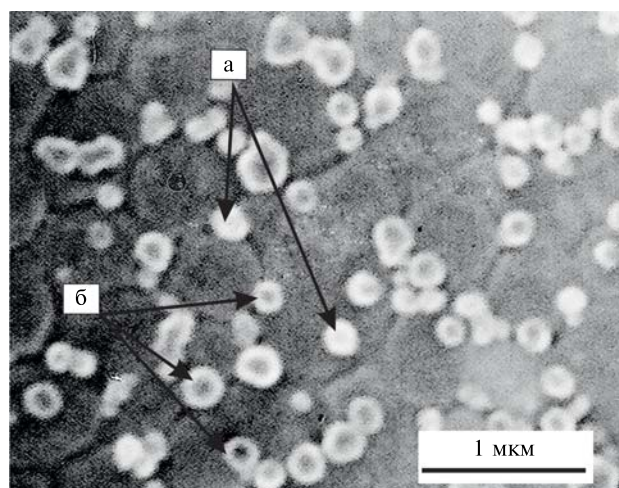


Рис. 4. Нестабильные (а) и стабильные (б) L-формы *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* после воздействия биологически активных веществ, продуцируемых *Bacillus subtilis*. Электронный микроскоп Hitachi-800 (Япония) со сканирующей приставкой Hitachi-8010.

При исследовании L-трансформирующего действия БАВ, продуцируемых *B. subtilis*, на популяции сальмонелл с использованием СЭМ мы наблюдали образование мелких L-форм разного размера (0,2-0,5 мкм) (рис. 4).

Было установлено, что по морфологическим критериям L-формы различались между собой. Часть мелких клеток имели вид выпуклого однородного шара (см. рис. 4, а; рис. 5, е), в то время как другие представляли собой уплощенную сферу с выраженным темным центром (см.

рис. 4, б; 5, ж).

Для изучения закономерностей процессов L-трансформации исследовали воздействие биотических (биологически активные вещества, продуцируемые *B. subtilis*) и абиотических (антибиотик тетрациклин) факторов на популяции сальмонелл.

На фазовых портретах содержащей и лишенной ДНК L-формы (см. рис. 5, цветная вклейка после стр. 56) четко видно, что нестабильные L-формы (см. рис. 5, а, г, е), в которых присутствует ДНК, представляли собой сферу с выпуклой вершиной, в то время как стабильные L-формы (см. рис. 5, б, д, ж) были уплощенными, с пустым центром, что отражено на профилях фазовых портретов (см. рис. 5, в).

При сравнении градиентных фазовых портретов, полученных на МИМ-321, у части L-форм в центре выявлялись плотные кольцевидные структуры, предположительно идентифицированные нами как ДНК (см. рис. 5, г), которые, однако, обнаруживались не всегда (см. рис. 5, д).

После воздействия тетрациклина число нестабильных L-форм, содержащих ДНК и потенциально способных к реверсии, в популяциях не превышало 25 % исследуемых клеток. Полученное нами в результате статистической обработки процентное соотношение стабильных и нестабильных L-форм — величина непостоянная, которая зависела в первую очередь от L-трансформирующего агента, а также от ряда других факторов, требующих дальнейшего изучения.

Следует отметить, что процесс реверсии клеток в исходное состояние занимал больше времени, чем нормальное развитие бактериальной популяции (5 сут). После подращивания на мембранных фильтрах наблюдался трудноразличимый неконтрастный рост культуры в виде уплощенных мелких колоний (рис. 6, а).

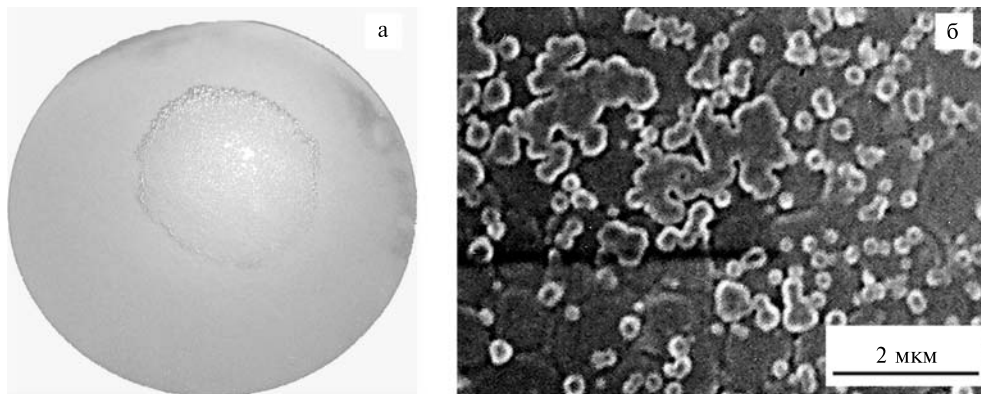


Рис. 6. Реверсия нестабильных L-форм в популяции *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*: а — рост на мембранных фильтрах Владипор (ООО «Владипор», Россия) на МПА, б — изображение микроколонии, полученное методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Электронный микроскоп Hitachi-800 (Япония) со сканирующей приставкой Hitachi-8010.

Исследование методом СЭМ продемонстрировало, что в центральной части популяции имеются клетки, способные к реверсии в исходное состояние, на что указывало формирование на поверхностях покровов, которые могут образовываться только при полной репарации клеточных стенок. Процесс реверсии свидетельствовал о том, что эти нестабильные L-формы содержали полноценный геном и полностью сохраняли морфологические, биохимические и патогенные свойства. В то же время по периферии колонии обнаруживались единичные разрозненные уплощенные клетки с темным центром — стабильные L-формы (см. рис. 6, б), не способные к реверсии вследствие неполноценности ДНК, что позволяет рассматривать их как морфологических мутантов, фенотип которых генетически детерминирован (3).

Таким образом, исследование процесса L-трансформации в популяции *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* методами сканирующей, просвечивающей электронной (СЭМ, ПЭМ) и лазерной модуляционной интерференционной микроскопии (МИМ) дало возможность выявить закономерные морфологические признаки L-форм, способных реверсировать в исходное состояние. С появлением методов оптической микроскопии, обладающих сверхразрешением, стало доступно изучение L-трансформации в режиме реального времени на живых бактериях (без фиксации и окрашивания). Полученные с помощью МИМ трехмерные фазовые портреты позволили не только однозначно идентифицировать L-формы бактерий, но и с высокой точностью определить основные морфологические параметры клеток (диаметр, периметр, высота, площадь, объем). С применением современных алгоритмов обработки этих данных внутри нестабильных L-форм зарегистрированы кольцевые структуры (предположительно ДНК). Следует отметить, что гетероморфизм со всеми проявлениями L-трансформации характерен для популяций патогенных и условно патогенных бактерий и способствует выживанию вида как в норме, так и при воздействии любых абиотических и биотических факторов. Изучение биологических особенностей L-трансформации имеет важное значение для понимания процессов существования потенциальных резервуаров возбудителей в природе, а также в патогенезе рецидивов хронических заболеваний.

ИГНУ Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии,
гигиены и экологии Россельхозакадемии,
123022 Россия, г. Москва, Звенигородское ш., 5,
e-mail: aarsenuk@gmail.com;

Поступила в редакцию
24 апреля 2013 года

EXAMINATION OF L-TRANSFORMATION IN *Salmonella* BY ELECTRON AND LASER INTERFERENCE MICROSCOPY

A.Yu. Arsenyuk¹, I.B. Pavlova¹, P.S. Ignat'ev²

¹All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology, Russian Academy of Agricultural Sciences, 5, Zvenigorodskoe sh., Moscow, 123022 Russia, e-mail aarsenyuk@gmail.com;

²AMFORA Laboratories, office 18, ul. 5-ya Magistralnaya, Moscow, 123007 Russia, e-mail ips@amphoralabs.ru
Received April 24, 2013 doi: 10.15389/agrobiol.2013.6.55eng

Abstract

The existence of bacteria without a cell wall was found to be a quite specific and wide-spread phenomenon, which could not be explained in terms of classical microbiology. The L-transformation of bacteria makes difficult determining the atrogens and leads to the false-negative conclusions of biological assays because of L-forms are in uncultivated state. The L-transformation caused by abiotic (tetracycline) and biotic (*Bacillus subtilis*) factors as well as reversion of L-forms were studied in *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* population using transmission electron and laser interference microscopy. The morphological parameters of L-forms, which are able to reverse in an initial state, were revealed. Development of super-resolution optical microscopy methods makes possible conducting real-time studies of L-transformation with the living non-modified bacteria. The 3D phase portraits obtained using laser interference microscope MIM-321 make it possible to identify L-forms clearly as well as to determine its basic morphological parameters (diameter, perimeter, height, surface, volume). The ring shaped structures (supposedly identified as DNA) were detected using the modern algorithms of signal processing. It is important to note that heteromorphism including all stages of L-transformation is inherent for all pathogenic and conditionally pathogenic bacteria (both in normal conditions and under biotic and abiotic factors treatment) to provide population survival. The study of L-transformation is extremely important for understanding of potentially infectious agent's reservoirs as well as chronic disease relapses in vivo.

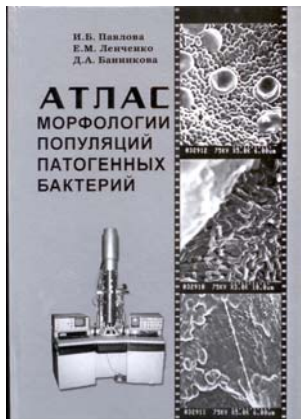
Keywords: L-transformation, heteromorphism, biological variability, abiotic and biotic agents, BAS, pathogenic bacteria populations, stable and unstable L-forms, reversion, electron microscopy, interference microscopy.

REFERENCES

1. Peshkov M.A. *Sravnitel'naya tsitologiya sinezelenykh vodoroslei, bakterii i aktinomitsetov* [Comparative cytology of blue-green algae, bacteria and actinomycetes]. Moscow, 1966.
2. Timakov V.D., Kagan G.Ya. *L-formy bakterii i semeistvo Mycoplasmataceae v patologii* [Bacterial L-forms and Mycoplasmataceae in pathology]. Moscow, 1973.
3. Prozorovskii S.V., Kats L.N., Kagan G.Ya. *L-formy bakterii (mekhanizm obrazovaniya, struktura, rol' v patologii)* [Bacterial L-forms: Formation, Structure, and the Role in Pathology]. Moscow, 1981.
4. Pavlova I.B., Kulikovskii A.V., Botvinko I.V. Elektronno-mikrosko-picheskoe issledovanie razvitiya bakterii v koloniyakh. Geteromorfnyi rost bakterii v protsesse estestvennogo razvitiya populyatsii. *ZHMEI*, 1990, 12: 12-15.
5. Avakyan A.A., Kats L.N., Pavlova I.B. *Atlas anatomii bakterii, patogennykh dlya cheloveka i zhivotnykh* [Anatomical atlas of bacteria pathogenic to humans and animals]. Moscow, 1972.
6. Loparev A.V., Ignat'ev P.S., Indukaev K.V., Osipov P.A., Mazalov I.N., Kozyrev A.V. Vysokoskorostnoi modulyatsionnyi interferentsionnyi mikroskop dlya mediko-biologicheskikh issledovaniy. *Izmeritel'naya tekhnika*, 2009, 11: 60-64.
7. Ignat'ev P.S., Indukaev K.V., Osipov P.A., Sergeev I.K. *Meditinskaya tekhnika*, 2013, 1: 277.
8. Pavlova I.B. *Zakonomernosti razvitiya populyatsii bakterii v okruzhayushchei srede (elektronno-mikroskopicheskoe issledovanie)*. *Doktorskaya dissertatsiya* [Patterns of development of bacterial populations in the environment (electron microscopic study). DSc Thesis]. Moscow, 1999.
9. Pavlova I.B., Lenchenko E.M., Bannikova D.A. *Atlas morfologii populyatsii patogennykh bakterii* [Atlas of population morphology of pathogenic bacteria]. Moscow, 2007.
10. Pavlova I.B., Bannikova D.A., Kononenko A.B. *Saprofitizm populyatsii patogennykh listerii* [Saprophytism in populations of pathogenic Listeria]. Moscow, 2013.

Вниманию читателей! Вышли в свет книги:

И.Б. Павлова, Е.М. Ленченко, Д.А. Банникова. *Атлас морфологии популяций патогенных бактерий*. М.: изд-во «Колос», 2007, 180 с. (одобрено и рекомендовано к изданию секцией «Ветеринарная санитария, гигиена и экология» Отделения ветеринарной медицины Российской академии сельскохозяйственных наук)



Книга, изданная в 2007 году и, к сожалению, более не переиздававшаяся, посвящена одной из актуальнейших проблем современной микробиологии — изучению развития и стратегии выживания популяций патогенных бактерий в среде обитания. Изложенный материал созвучен новому этапу в развитии биологии, медицины и ветеринарной науки, стремящихся проникнуть все глубже в архитектуру микромира. Электронная микроскопия благодаря усовершенствованию методов и техники исследования позволила создать новое научное направление — популяционную цитологию бактерий. Исследования в этой области в основном касались сапрофитных микроорганизмов. Тем больший интерес представляет предлагаемый читателям атлас, посвященный морфологии популяций патогенных бактерий и закономерностям их развития в среде, основную часть иллюстраций в котором составляют уникальные электроннограммы.

Концепция, согласно которой окружающая среда рассматривается в качестве резервуара инфекции, совершенно не признавалась в нашей стране на протяжении десятилетий. Напротив, долгие годы ее считали «кладбищем» патогенных бактерий. Развернувшееся в последние годы изучение экологии патогенных микроорганизмов позволило получить новые факты, обобщение которых привело к признанию возможности существования бактерий в окружающей среде, что коренным образом изменяет применяемые ранее методические и научные подходы к профилактике и лечению инфекционных заболеваний. Весомым вкладом в решение столь актуальной проблемы стал предлагаемый читателям атлас, авторы которого на протяжении последних 25 лет занимались вопросами ветеринарной микробиологии и получили огромный экспериментальный материал, который вошел в атлас, ставший итогом этих изысканий. Выдвинутые авторами положения уже на новом уровне подтверждают тот факт, что бактерии, патогенные для теплокровных животных и человека, могут, сохраняя жизнеспособность, находиться в окружающей среде при непрерывном взаимодействии с ее биотическими и абиотическими факторами.

Выполненные исследования позволили увидеть «невидимый мир» популяций патогенных бактерий, наблюдать их существование и развитие в среде обитания. Результаты этих исследований, несомненно, будут побуждать ученых к интересным и важным открытиям, не только изменяющим наши представления о фундаментальных процессах в мире микроорганизмов, но и имеющим крайне важное практическое значение для медицины, ветеринарной медицины, санитарной и экологической безопасности и т.д.

Атлас включает пять глав («Закономерности развития популяции патогенных бактерий», «Закономерности гетероморфизма популяций патогенных бактерий», «Адгезия и колонизация как факторы развития патогенных бактерий в среде обитания», «Влияние биотических факторов окружающей среды на популяции патогенных бактерий», «Влияние абиотических факторов на популяции патогенных бактерий»), содержащих 153 иллюстрации, а также заключение и список цитируемой литературы (132 ссылки).

Предисловие к изданию написано академиком РАСХН, профессором А.М. Смирновым.

Книга адресована преподавателям, студентам, аспирантам биологических, медицинских и ветеринарных вузов, а также специалистам в различных областях микробиологии, биотехнологии, ветеринарно-санитарной экспертизы, биологической промышленности, здравоохранения.

И.Б. Павлова, Д.А. Банникова, А.Б. Кононенко. Сапрофитизм популяций патогенных листерий (монография). М.: Книжная типография БУКИ ВЕДИ, 2013, 116 с.



Издание обобщает исследования, ставшие продолжением экспериментов в области экологии микроорганизмов, представленных в «Атласе морфологии популяций патогенных бактерий» (Павлова И.Б., Ленченко Е.М., Банникова Д.А., 2007).

В последнее время на разных моделях доказана возможность автономного существования и размножения многих бактерий, условно-патогенных и патогенных для человека и животных, в окружающей среде (водоемы, почва, растения, продукты питания и др.). При этом остается неясным, в какой форме существует и развивается бактериальная популяция и каковы механизмы ее адаптации к резко меняющимся условиям внешней среды.

На рубеже XX-XXI веков листериоз из зоонозов с весьма ограниченной территорией распространения в сельской местности превратился в одну из наиболее значимых пищевых инфекций в мире, которая выделяется среди других бактериальных инфекций этой группы особо тяжелым течением и высоким

процентом летальных исходов, однако недостаток сведений по вопросам популяционной экологии листерий очевиден. В этой связи поставленная авторами цель — изучение влияния абиотических и биотических факторов на выживаемость и морфологию популяции листерий в объектах окружающей среды — относится к наиболее актуальным в микробиологии и эпизоотологии.

Представляемая монография весьма важна в качестве работы, обобщающей сведения о взаимодействии листерий с объектами среды. Авторы широко применяли методы сканирующей электронной микроскопии, позволившие без нарушения естественной архитектуры колоний возбудителя на популяционном уровне изучить механизмы адаптации листерий к неблагоприятным факторам при различных температурах, при обитании в различных продуктах, тканях растений, в водной среде. С использованием оригинальных методик исследованы процессы адгезии и колонизации листериями кормов, антибактериальная активность растворов кластерного серебра при его использовании для снижения контаминации листериями разных объектов. Важно, что большая часть наблюдений проведена на модели как высокопатогенного для человека и животных вида *L. monocytogenes*, так и оппортунистического вида *L. innocua*. Впервые разработана методика исследования выживаемости и морфологии популяций *Listeria innocua* в тканях листовых пластинок растений с помощью сканирующей электронной микроскопии. Показана способность *L. innocua* проникать через корневую систему в листовые пластинки у овса — важной кормовой культуры.

Книга состоит из введения, семи глав («Ультраструктурная организация бактерий рода *Listeria*», «Морфология популяций листерий на питательных средах при различных режимах культивирования», «Морфология популяций и выживаемость листерий в водной среде», «Выживаемость и морфология популяций листерий в мясных продуктах», «Выживаемость и морфология популяций листерий в молочных продуктах», «Особенности существования популяций листерий в растениях», «Перспективы использования растворов кластерного серебра как экологически безопасного средства, снижающего контаминацию листериями объектов окружающей среды») и заключения. Список цитируемой литературы включает 91 ссылку, книга прекрасно иллюстрирована. Наибольшую ценность представляют главы 3-6. Впервые в отечественной и мировой литературе дается столь глубокий анализ морфологических особенностей и выживаемости листерий во всех исследованных объектах и средах. Полученные данные имеют существенное значение как для анализа фундаментальных основ популяционной адаптационной изменчивости, так и для практических аспектов профилактики пищевого листериоза.

В качестве выявленных авторами закономерностей адаптационных механизмов у листерий описан гетероморфизм с различными проявлениями L-трансформации; способность к формированию колоний по типу многоклеточного организма; сохранение целостности популяции за счет внутривидовых связей, отсутствующих у единичных клеток; способность популяции реагировать на воздействие окружающей среды. Проведенные авторами исследования в области популяционной цитологии позволяют вывести на новый качественный уровень наши представления об экологии листерий, взаимодействии патогенных листерий с биотическими и абиотическими факторами среды, расширить представления об их структурно-функциональных особенностях, позволяют по-новому подойти к решению многих проблем воздействия на возбудителя инфекции как в среде обитания, так и в макроорганизме, научно обосновывать подбор дезинфицирующих средств и лекарственных препаратов.

В книгу включены рецензии на монографию доктора биологических наук, профессора И.С. Тартаковского и доктора ветеринарных наук, профессора З.Н. Меньшиковой. Предисловие к книге написано академиком РАСХН, профессором А.М. Смирновым.

Книга адресована специалистам в различных областях микробиологии, ветеринарно-санитарной экспертизы, ветеринарии, здравоохранения, преподавателям, студентам, аспирантам ветеринарных, медицинских и биологических вузов.

Контакты и информация: aarsenuk@gmail.com, ips@amphoralabs.ru

Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т. Введение в геномную селекцию животных. М.: изд-во «Приятная компания», 2012, 258 с.

Представлена краткая сводка данных о критических проблемах внедрения в селекционную работу современных методов геномики и биотехнологий, рассмотрены причины необходимости особого внимания к генетическим структурам животных сельскохозяйственных видов, обусловленные ускоренным сокращением их биоразнообразия, вытеснением аутохтонных пород. Обсуждаются различные подходы к геномному сканированию для перехода к ландшафтной геномике животных сельскохозяйственных видов в целях оптимизации использования их генетического потенциала. Рассматриваются направления геномной селекции и причины ограничений их эффективности, обусловленные как генотипической, так и паратипической компонентой изменчивости. Глобализация аграрного сектора и конкурентные межгосударственные отношения обсуждаются как факторы, требующие специального внимания при принятии решений об использовании импортируемого скота. Издание адресовано широкому кругу специалистов в области агроботехнологий, а также студентам, аспирантам и преподавателям вузов биологического и сельскохозяйственного профиля.

Контакты и информация: vglazko@yahoo.com