
**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
**ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ СИСТЕМ
УПРАВЛЕНИЯ И РАДИОЭЛЕКТРОНИКИ**
(ТУСУР)

Кафедра радиоэлектронных технологий и экологического мониторинга
(РЭТЭМ)

ЭКОЛОГИЯ ОРГАНИЗМОВ

Методические указания к практическим и семинарским занятиям
по дисциплине «Экология организмов»

для подготовки бакалавров по направлениям
05.03.06 - «Экология и природопользование»

Разработчик:

доцент кафедры РЭТЭМ, канд. биол. наук

Е.Г.Незнамова

Томск 2018

СОДЕРЖАНИЕ:

Практическая работа 1. Влияние экологических факторов на организмы	3
Практическая работа 2. Особенности растительных, животных организмов	4
Семинар «Жизненные формы организмов»	7
Практическая работа 3. Отношения видов в сообществах	8
Практическая работа 4. Демэкология животных	12
Практическая работа 5. Особенности почвенной микробиоты	13
Практическая работа 6. Методы изучения сообществ организмов	18
Список использованных источников	24

Практическая работа 1. Влияние экологических факторов на организмы

Задание: 1. Вспомните основные законы воздействия фактора на организм (Ю. Либиха, В. Шелфорда). Выполните графическое изображение.

2. Рассмотрите особенности воздействия комплекса факторов на организмы (синэргизм, аддитивность, антагонизм). Приведите примеры.

3. Рассмотрите классификации факторов, заполнив таблицы.

4. Какие факторы определяют ареалы растений и животных? Какие факторы могут определять наличие или отсутствие видов в сообществах (биоценозах) в пределах его ареала?

5. Выполните задание:

Существуют три основных способа приспособления организмов к неблагоприятным условиям среды: подчинение, сопротивление и избегание этих условий. К какому способу можно отнести:

- а) осенние перелеты птиц с северных мест гнездования в южные районы зимовок;
- б) зимнюю спячку бурых медведей;
- в) активную жизнь полярных сов зимой при температуре - 40 °С;
- г) переход бактерий в состояние спор при понижении температуры;
- д) нагревание тела верблюда днем с +37 °С до +41°С и остывание его к утру до +35 °С;
- е) нахождение человека в бане при температуре в +100 °С, при этом его внутренняя температура остается прежней +36,6 °С;
- ж) переживание кактусами в пустыне жары в +80 °С;

Температура тела песка остается постоянной (+38,6 °С) при колебаниях температуры окружающей среды в диапазоне от –80 °С до +50 °С. Перечислите приспособления, которые помогают песцу удерживать постоянную температуру тела.

Практическая работа 2. Особенности растительных, животных организмов.

Задание:

- 1. Прочитайте текст. Соотнесите понятия «унитарность» и «модульность». Какое из них относится к животным, какое к растительным организмам. В чем особенности каждой из категорий?*
- 2. Выполните тест.*

Понятие особи. Особенности идентификации особей в различных группах организмов

Особь является самой дробной, но очень важной экологической единицей т.к. именно особи взаимодействуют с окружающей средой, живут или умирают оставляют или не оставляют потомство.

Известно, что все живые организмы подразделяются по особенностям их строения и развития на унитарные и модулярные .

Строение унитарных организмов predetermined генетически. На стадии зародыша формируются все или почти все детали строения. После рождения изменяются лишь размеры. Примерами являются человек, большинство животных.

У модулярных организмов из зиготы развивается определенная единица строения – модуль. С возрастом увеличивается число модулей и общее строение организма сильно усложняется. На строение этих организмов, наряду с генетической predeterminedностью, большое влияние оказывают условия среды. Примером таких организмов служат растения.

В случае унитарного организма процесс определения особи не представляет

затруднения. У модулярных организмов определение особи, напротив, затруднено и выделение счетных единиц представляет определенную трудность. При этом приходится учитывать единство происхождения модулей, наличие физической и физиологической связи между ними, степень компактности расположения модулей, характер связи системы модулей. Понятие особи у таких организмов означает термин «генета» или «генетический индивидуум».

Прежде чем перейти к рассмотрению особенностей типов растительных индивидов, необходимо остановиться на понятии «фитогенного поля растения», или эдафосферы, которые можно определить как пространство, образованное растением, в пределах которого среда приобретает новые свойства, возникшие под влиянием этого растения. Такие поля образуются под воздействием:

- особого микроклимата (измененная влажность, температура, состав атмосферного воздуха, обусловленный выделениями растения и др.) и в воздушном пространстве носят название филлосферы;
- видоизмененного состояния почвенного и травянистого покрова (измененный световой режим, наличие свежего и разлагающегося листового опада), носящего название некроподиума;
- видоизмененного состояния верхних почвенных горизонтов (концентрация микро- и макроорганизмов возле корневых систем, выделения корневых систем) – ризосфера.

Таким образом, филлосфера, некроподиум, ризосфера являются составными частями фитогенного поля.

В зависимости от сложности строения «разветвленности системы» у растений различают 4 типа особей (генет): 1. Простой индивид, обладающий моноцентрическим фитогенным полем (дерево, кустарник, луковичное растение); 2. Сложный индивид – система физически и физиологически связанных побеговых модулей, образующих несколько центров сосредоточения побегов и имеющих единое но полицентрическое фитогенное

поле (длиннокорневищные травы – пырей);

3. Колония - система физически и физиологически связанных центров побеговых модулей, состоящих из нескольких удаленных друг от друга центров сосредоточения модулей. Каждый из центров представляет относительно автономную часть особи и имеет собственное фитогенное поле;

4. Клон – система физически и физиологически обособленных частей генеты – рамет, каждая из которых, фактически, является отдельной особью.

По мере развития особь может пройти все четыре стадии состояния, отличающихся степенью обособления.

Выполните тест:

1. Автотрофное питание может быть свойственно:

- А) растениям
- Б) микроорганизмам
- В) животным
- Г) грибам

2. Аноксигенный фотосинтез может быть свойственен:

- А) растениям
- Б) микроорганизмам
- В) животным
- Г) грибам

3. Оксигенный фотосинтез идет с выделением

- А) кислорода
- Б) кислорода и воды
- В) углекислого газа

3. Фаготрофия характерна для:

- А) для простейших
- Б) для животных
- В) для грибов

4. Осмотротрофными являются

- А) животные
- Б) растения
- В) грибы

5. Открытый незавершенный рост, это:

- А) рост в течение всей жизни

- Б) рост на определенной стадии жизненного цикла
- В) рост определенных органов

6. Метамерия, это:

- А) проявление радиальной симметрии организмов
- Б) повторяемость определенных групп органов
- В) нарастание одних частей над другими

7. Унитарность свойственна:

- А) одноклеточным
- Б) растениям
- В) животным
- Г) грибам

8. Голозойное питание это процесс:

- А) заглатывания
- Б) адсорбции
- В) осмотический

9. Лишайники:

- А) относятся к грибам
- Б) растениям
- В) простейшим

10. Надцарство прокариота включает

- А) простейших
- Б) сине-зеленые водоросли
- В) архебактерии

Семинар «Жизненные формы организмов»

Вопросы к семинару:

- 1. Классификации жизненных форм у растений (по Серебрякову, по Раункиеру)*
- 2. Классификации жизненных форм у животных (по Формозову, Кашкарову, Наумову, Шварцу)*
- 3. Понятия: викарирующие виды, конвергенция, дивергенция;
причины появления жизненных форм организмов*

Для подготовки Вы можете воспользоваться Интернет-ресурсом, используя сайты из списка использованных источников.

Практическая работа 3. Отношения видов в сообществах

Задание: *Выполните предложенные преподавателем задания*

1. **Соотнесите понятия**, обозначающие различные способы добывания пищи с их определением:

1. Организм, который активно разыскивает и убивает относительно крупные жертвы, способные убежать, прятаться или сопротивляться;

2. Организм (имеющий, как правило, небольшие размеры), который использует живые ткани или клетки другого организма в качестве источника питания и среды обитания;

3. Организм, который поглощает многочисленные объекты, как правило, растительного происхождения, на поиск которых он не тратит много сил;

4. Водяное животное, процеживающее через себя воду с многочисленными мелкими организмами, которые служат ему пищей;

5. Организм, который разыскивает и поедает относительно мелкие, неспособные убежать и сопротивляться пищевые объекты.

Назовите тип пищевых отношений (паразитизм, фильтрация, хищничество, собирательство, пастьба), который соответствует следующим парам взаимодействующих организмов:

- заяц – клевер;
- дятел – короеды;
- лиса – заяц;
- человек – аскарида;
- медведь – лось;
- медведь – личинки пчел;
- синий кит – планктон;
- корова – тимофеевка;
- гриб трутовик – береза;
- карп – мотыль;
- стрекоза – муха;
- моллюск беззубка – простейшие;
- тля – щавель;
- гусеница сибирского шелкопряда – пихта;
- кузнечик – злак мятлик;

- губка – простейшие;
- вирус гриппа – человек;
- коала – эвкалипт;
- холерный вибрион – человек;
- жук божья коровка – тля;
- муравьед – термиты
- термиты – древесина
- бабочка березовая пяденица – лист березы
- отмершие водоросли – рачки-бокоплавцы
- ногохвостка – отмершее растение

Распределите этих животных по группам: зоофаги, фитофаги, детритофаги

2. Выберите правильное утверждение:

Результат пищевых отношений между особью лисицы и особью зайца будет:

- положительный для обеих особей;
- отрицательный для обеих особей;
- для одной особи положительный, для другой - отрицательный

Выберите правильный ответ. Результаты пищевых отношений между популяциями лисиц и зайцев станут:

- уменьшение численности обеих популяций;
- регуляция численности обеих популяций;
- увеличение численности обеих популяций.

Выберите правильное утверждение. Наиболее обычным эволюционным результатом пищевых отношений между видами (например, между лисицами обыкновенными и зайцами-беляками) будет:

- прогрессивная эволюция взаимодействующих видов;
- вымирание одного из взаимодействующих видов;
- вымирание обоих взаимодействующих видов;
- формирование из одного взаимодействующего вида нескольких новых;
- смена пищевых потребностей обоих взаимодействующих видов.

3. Объясните следующие факты: а) при массовом отстреле хищных птиц (ястребов, филинов), питающихся куропатками и тетеревами, численность последних сначала увеличивается, а затем падает; б) при

истреблении волков со временем снижается и численность оленей на тех же территориях.

4. Прочитайте список организмов и укажите, к каким из перечисленных групп они относятся. Составьте таблицу.

Группы:

- фитофаги;
- зоофаги;
- паразиты;
- симбионты;
- детритофаги.

Список организмов:

- 1) росянка;
- 2) иксодовый клещ;
- 3) слон;
- 4) бычий цепень;
- 5) дафния;
- 6) кролик;
- 7) рак;
- 8) рысь;
- 9) гриб трутовик;
- 10) овца;
- 11) подберезовик;
- 12) палочка Коха;
- 13) щука;
- 14) самка комара;
- 15) дождевой червь;
- 16) личинка навозного жука;
- 17) колорадский жук;
- 18) карп;
- 19) клубеньковые бактерии;
- 20) жук-скарабей;
- 21) бобр;
- 22) волк.

5. Сойки осенью питаются желудями дуба. Множество желудей они закапывают в землю в качестве запаса на зиму и раннюю весну. В чем состоит взаимная выгода отношений данных видов.

6. В середине лета, после пожара, на участке гари возник очаг размножения короедов: все живые деревья, тронутые пожаром, оказались поврежденными вредителями. Объясните почему.
7. Как можно использовать явление хищничества и паразитизма в сельском хозяйстве?
8. Известно, что на соснах кормится множество насекомых – пилильщиков, долгоносиков, короедов, усачей и др. Почему вредители в основном обитают на больных деревьях и обходят стороной здоровые, молодые сосны?
9. Один и тот же организм может быть по отношению к разновозрастным особям другого вида то хищником, то жертвой. Приведите примеры.
10. Способы защиты организмов от хищников условно можно разделить на три группы (таблица 1). Заполните таблицу, вписывая номера предлагаемых ниже вариантов защиты напротив каждой из этих групп.

Таблица 1.

Способы защиты организмов от хищников	Номера предлагаемых вариантов защиты
А. Избегание жертвой встречи с хищником	
Б. Избегание жертвой контакта с хищником после ее обнаружения	
В. Способы, действенные при непосредственном контакте.	

Варианты защиты:

1. Сооружение убежищ или использование естественных укрытий;
2. Несъедобность, ядовитость «при опробовании»;
3. Покровительственная форма и окраска;
4. Жертва обладает крупными размерами тела;
5. Миграции из мест, обильных хищниками;
6. Обладание панцирем, раковиной, шипами, иглами;
7. Выбрасывание защитных веществ;
8. Оповещение других особей о приближении хищника;
9. Предупреждающая окраска, запах, звук, мимикрия;
10. Затаивание;
11. Самокалечение (автотомия);
12. Бегство;
13. Активная защита, когда жертва борется с хищником.

Назовите организмы, которые защищаются от хищников этими

способами.

11. Для каждой пары конкурирующих организмов подберите ресурс, за который они могут с наибольшей вероятностью конкурировать.

Пары организмов:

Ландыш – сосна, полевая мышь – обыкновенная полевка, волк – лисица, окунь – щука, канюк – сова-неясыть, барсук – лисица, рожь – василек, саксаул – верблюжья колючка, шмель – пчела.

Ресурсы:

нора, нектар, семена пшеницы, вода, зайцы, свет, мелкая плотва, ионы калия, мелкие грызуны.

Практическая работа 4. Демэкология животных

Задание: *Выполните задания. Оформите работу.*

Постройте возрастные пирамиды трех популяций лисиц обыкновенных на конец сезона размножения. Первая популяция обитает в лесопарке крупного города. Десять процентов ее численности составляют лисы, родившиеся летом этого года, 30% — двухлетки, 50% — трехлетки и 10% — старше четырех лет. Другая популяция обитает в заповеднике. Сеголетки составляют в ней 30% от численности, двухлетние лисы — 25%, трехлетние — 30%, старше четырех лет — 15%. Третья популяция обитает на территории охотничьего хозяйства, где регулярно проводится отстрел лис. Сеголетки в ней составляют 50% от численности, двухлетние — 30%, трехлетние — 15%, и 5% составляет доля лис, которым более четырех лет. Рассмотрите построенные возрастные пирамиды. Какую из популяций вы бы назвали растущей, какую — стабильной, а какую — сокращающейся?

Начертите возрастную пирамиду популяции большой синицы, если весной, до вылупления птенцов, 60% популяции составляют птицы прошлого года рождения, участвующие в размножении первый раз, на двухлетних приходится 20%, трехлетних — 8%, четырехлетних — 5%, пятилетних — 4%, 3% составляет доля особей в возрасте от 6 до 10 лет. Как изменится возрастная пирамида популяции большой синицы после вылета птенцов из гнезда, если численность до гнездования составляла 10 000 особей, а кладка в среднем состоит из 8 яиц при соотношении полов 1:1? Условно считайте, что все особи на этом этапе выжили.

Из приведенного списка факторов выберите те, которые способствуют росту численности популяций: обилие пищи, болезни, обилие паразитов,

отсутствие хищников, обилие конкурентов, низкая плотность населения, высокая плотность населения, нехватка территории, неблагоприятные климатические условия, избыток территории, благоприятные условия жизни.

При росте плотности популяции любого вида наступает время, когда дальнейший прирост замедляется, а затем практически останавливается. Укажите основные факторы, обуславливающие это явление.

Выберите правильное утверждение. Численность популяции может расти экспоненциально в случае:

- а) когда пищевые ресурсы являются единственным ограничивающим фактором;
- б) когда организмы впервые попадают в подходящую незанятую среду;
- в) только при отсутствии хищников;
- г) только в лабораторных условиях.

Практическая работа 5. Особенности почвенной микробиоты

Задание: Прочитайте текст, выполните краткий конспект, ответьте на вопросы, размещенные в начале разделов текста

Микробное население почвы

Вопрос: *Сколько и каких микроорганизмов может обитать в почве?*

Пестрая микрозональная картина среды обитания предполагает высокое разнообразие почвенных микроорганизмов, что подтверждается разными методами.

По показателям обилия учитываемых посевом конкретных видовых популяций рассчитано общее число видов грибов 30—40 видов в 1 г почвы. Таким образом, и для более крупных и существенно более однородных в функциональном отношении по сравнению с бактериями обитателей почвы характерно высокое биоразнообразие.

Масса биоты, включая бактерии, грибы, водоросли, по данным прямых методов микроскопии, может достигать нескольких тонн на гектар почв. В первом приближении по биомассе в поверхностных почвенных образцах

(особенно в таежно-лесной зоне) доминируют грибы. Биомасса бактерий сопоставима по порядку величин с биомассой грибов, а остальные компоненты, включая представителей почвенной фауны, составляют второй план. Вместе с тем, сами по себе показатели биомассы, к тому же рассчитанные на основе тотальных количественных учетов (без дифференциации «активной» и «неактивной и мертвой» биомассы), не дают представления о функциональной роли отдельных представителей почвенной биоты.

Функциональная роль микроорганизмов почвы

Вопрос: Назовите важнейшие элементарные почвенно-микробиологические процессы

Почвенные микроорганизмы не просто обитают в естественной гетерогенной среде, но сами являются ключевым фактором почвообразования и участвуют в процессах преобразования горной породы в почву с характерным строением. Оценивая роль микроорганизмов, Т.В.Аристовская выделила пять важнейших элементарных почвенно-микробиологических процессов: разложение растительного опада, образование гумуса, разложение гумуса, деструкция минералов почвообразующей породы и новообразование минералов. Указанные и другие функции почвенных микроорганизмов составляют фундамент наземных экосистем. Относительно более подробно исследован процесс разложения органического вещества в почве.

Вопрос: Что такое гуминовые вещества?

Ежегодно при фотосинтезе связывается примерно $5 \cdot 10^{10}$ т атмосферного углерода, а в виде опада в почву поступает приблизительно $4 \cdot 10^{10}$ т. Основную часть опада почвенные микроорганизмы минерализуют до углекислого газа и воды. Вместе с тем существенная часть опада превращается в гуминовые вещества (от 0,6 до $2,5 \cdot 10^9$ т) — особый класс природных соединений, для которых до сих пор нет точных молекулярных

формул и выделение которых задается операционально (процедурой). Гуминовые вещества фракцию гуминовых и гиматомелановых кислот. В растворе остаются фульвокислоты и неспецифические вещества. Нерастворимую часть называют *гумином*.

Все гуминовые вещества содержат большой набор функциональных групп. При их гидролизе в раствор переходят до 22 аминокислот (их массовая доля достигает 10 %), разнообразные моносахариды (до 25 %) и другие соединения. Продуктами окисления являются в основном бензолполикарбонные кислоты. Источниками аминокислот и сахаров в гуминовых веществах могут быть белки и углеводы растений и микроорганизмов, а исходным материалом для бензоидных циклов служат лигнин и флавоноиды. Некоторое представление о содержании гумуса дает окраска почвы. В сухом состоянии малогумусные почвы (не более 1,5 % гумуса) имеют светло-серый цвет. Черный или буро-черный цвет (5 — 6 % гумуса и более) сухих образцов характерен для почв с высоким уровнем плодородия (чернозем). Несмотря на то, что до сих пор дискуссионными остаются многие вопросы по строению, механизмам образования и разложения гуминовых веществ, эти соединения играют исключительную роль в поддержании плодородия и других почвенных характеристик. Согласно одной из гипотез образования гумуса (П. А. Костычев, Т. Г. Мирчинк, Д. Г. Звягинцев и др.), ядра молекул гумуса представлены микробными меланинами.

Процессы разложения растительного опада.

Процессы разложения растительного опада (продукты фотосинтеза как основной ресурс почвенных микроорганизмов) в первом приближении удовлетворительно описывает кинетическое уравнение первого порядка:

$$A_t = A_0 * e^{-kt},$$

где A_t и A_0 — концентрация ресурса в момент (A_t) и в начальный момент (A_0); k — константа с размерностью обратного времени (например,

1/час).

Формально применимость такой простейшей модели предполагает, что обильный микробный потенциал не лимитирует процесс. Лабораторные и полевые эксперименты показывают, что k чаще всего не зависит от количества поступившего в почву органического вещества при условии, что нагрузка по углероду не превышает 1,5 % от массы сухой почвы (в противном случае могут существенно измениться почвенные характеристики).

Поступивший в почву органический материал содержит, как правило, разные компоненты. Определенное представление о диапазонах скоростей разложения органики в почве могут дать значения k для разных ресурсов в условиях лабораторного эксперимента: от 0,02—0,03 — для соломы, гемицеллюлозы и мертвой грибной биомассы до 0,003 сут⁻¹ для лигнина.

Процесс разложения органики в почве существенно **зависит от** процентного содержания в растительном опаде углеводов (U) и лигнина (L), а также от соотношения C/N .

Примером может служить эмпирическое уравнение для индекса дыхания почвы:

$$CO_2 = ((U)^{1/2} / ((C/N) * L)).$$

Отношение C/N для почвенных бактерий варьирует обычно в диапазоне от 3 : 1 до 8: 1. Для биомассы почвенных грибов максимальное значение отношения C/N выше и достигает 16. В этом отношении грибы более конкурентоспособны при разложении соединений с низким содержанием азота (например, лигнина). К тому же мицелиальная организация позволяет осуществлять перенос соединений азота по гифе как трубе (транслокация лимитирующего ресурса). Не исключено, что мицелий грибов поставляет азот в подстилку (здесь значение C/N очень высокое: 40— 100) из нижележащего почвенного горизонта.

Обязательное условие обогащения почвы азотом:

Общее правило заключается в следующем. *Если C/N микробной массы больше C/N органического вещества, то в результате минерализации почва*

обогащается азотом. Это наблюдается, в частности, при разложении мертвой биомассы животных ($C/N = 10$) и фитомассы бобовых растений ($C/N = 18$). Если C/N микробной массы меньше C/N органического вещества, то в ходе иммобилизации начнется потребление минерального азота почвы. При этом общая скорость разложения может существенно снизиться, пока не погибнет часть микробной биомассы и (или) не появится дополнительный источник азота в ходе микробной атаки на почвенное органическое вещество. Указанные закономерности учитываются в классическом эмпирическом правиле внесения соломы: чтобы исключить нежелательный процесс иммобилизации ресурса в почве, к 100 кг соломы следует добавить 1 кг азота.

Роль почвенных организмов в изменении климата

На глобальном уровне запасы углерода в почвах, биомассе суши и в атмосфере составляют примерно $(1500, 600 \text{ и } 720) \cdot 10^{15}$ г соответственно. Изменение уровня почвенного углерода может существенно повлиять на уровень атмосферного углерода, который уступает почвенному.

Подобные расчеты подчеркивают значимость почвенного органического вещества и почвенного микробного блока как факторов, определяющих климат. Для глобальной оценки величины углерода почвенной микробной биомассы предлагались разные методы и схемы расчета, которые позволили очертить диапазон значений — $(2,5—10) \cdot 10^{15}$ г.

В относительно сбалансированных экосистемах («климакс») отношение углерода микробной биомассы к углероду почвенного органического вещества $C_{\text{микр}}/C_{\text{орг}}$ составляет примерно 2 %. Через это «игольное ушко» должно пройти органическое вещество, поступающее в почву. Отклонение $C_{\text{микр}}/C_{\text{орг}}$ от данного значения может указывать на нарушение режима системы по органическому веществу.

Практическая работа 6. Методы изучения сообществ организмов

Задание: *Выполните тест, изучив материал по методам изучения сообществ растительных, животных, микробных организмов по приведенному далее тексту и /или пособию:*

Литература: Е.Г. Незнамова Экология организмов: учебное пособие / Е.Г. Незнамова.- Томск: ТУСУР, 2007.-С. 69-81.

Методы изучения экологии микроорганизмов

Идентификация микроорганизмов химическими методами.

Фенотипическое обнаружение микроорганизмов.

Вырастив чистую культуру (колонию из одной клетки) начинают идентификацию колоний. Производят выделение участка ДНК и определяют последовательность варибельного участка генома, кодирующего ген 16S рРНК. Этого бывает достаточно, чтобы сравнивая с известными последовательностями из геномного банка, идентифицировать микроорганизмы до рода или даже до вида. Существует также спецтест (AP1-тест), по результатам которого возможно определение микроорганизма до рода.

Анализ микроорганизмов по их липидному составу. Липиды — обязательные компоненты мембран. Липидный состав различных микроорганизмов отличается друг от друга. Существует шесть классов липидов, которые обнаружены у микроорганизмов. Каждый микроорганизм имеет свой особенный липидный профиль (основной липид), и это свойство было положено в основу их химической идентификации. Следует сразу оговориться, что данный метод не идеален, поскольку любые микроорганизмы могут существенно менять профиль липидов в зависимости от возраста культуры и условий культивирования клеток.

Обнаружение отдельных генов и геномных последовательностей. С обнаружением отдельных генов или специфических геномных

последовательностей связаны прежде всего возможности анализа микробных сообществ **без выделения и идентификации отдельных его членов в чистых культурах**. Методы основаны на экстракции из почвенных, осадочных или водных образцов ДНК, ее очистки и анализа с помощью градиентных гель-электрофоретических ТССЕ/ВССЕ-методов. Основная трудность при экстракции тотальной ДНК связана с ее отделением очисткой от гуминовых веществ почвы, хотя методы, позволяющие проводить такую очистку, постоянно совершенствуются.

После экстракции ДНК подвергают иммобилизации (фиксируют) на нитроцеллюлозном или нейлоновом фильтре, плавят и затем гибридизуют с известными последовательностями генов, ответственными за синтез тех или иных специфических ферментов. Так, наличие в пробе тотальной ДНК генов, гибридизуемых с геном, кодирующим фермент нитрогеназу, говорит о присутствии в анализируемом сообществе азотфиксаторов, генов метанмонооксигеназы — о присутствии метанотрофов. Генов, кодирующих ключевые реакции тех или иных процессов, расшифровано уже несколько десятков, и применение метода гибридизации дает возможность делать выводы о наличии определенных микроорганизмов в анализируемой пробе.

Для идентификации нужных микроорганизмов в сообществе используют **гены-репортеры**, которые легко обнаруживаются после проведения химических реакций или заявляют о себе в клетке испусканием света различной длины волны. Гены-репортеры используют обычно для обнаружения тех или иных видов активности в природных образцах при определении выживаемости введенных в них микроорганизмов, для изучения активности нужного гена/фермента. Генетическая конструкция в таком случае выглядит и работает следующим образом. Если нужный ген экспрессируется (активируется, усиливается) и фермент осуществляет свою функцию (например, расщепляет тот или иной ксенобиотик), то об этом можно судить на удалении по люминесценции гена-репортера (например, в толще почвы свет от места реакции трансмиссируется в таком случае с использованием

оптоволоконных световодов). По люминесценции в генно-инженерных штаммах кишечной палочки судят о степени токсичности пробы воды или почвы.

Определение численности микроорганизмов

При работе с чистыми культурами ответить на вопрос о численности микроорганизмов относительно просто. Другое дело, когда приходится определять число микроорганизмов в природных образцах, где ответ не столь прост и иногда даже не может быть в точности получен.

Микроорганизмы чрезвычайно разнообразны, поэтому единого метода для подсчета клеток всех групп не существует. Методы, применяемые для подсчета вирусов, бактерий, грибов, водорослей и простейших, различны. Методы подсчета микроорганизмов сводятся к двум: *прямой счет клеток под микроскопом и непрямой подсчет после подраживания на твердых средах* (учет живых клеток). Количество микроорганизмов чаще всего подсчитывают прямым счетом под микроскопом, при этом обычно не различая живые и мертвые клетки.

Люминесцентно-микроскопические методы исследований в микробной экологии

Метод подсчета микроорганизмов можно модифицировать с применением эпифлуоресцентного микроскопа и флуоресцирующих дифференциальных красителей для подсчета живых и мертвых клеток в препарате. Клетки микроорганизмов можно подсчитывать также в определенном объеме жидкой пробы под световым микроскопом (камеры Тома—Горяева, Петрова—Хаузера).

Методы флуоресцентной микроскопии применяют давно. Можно проводить обнаружение как бактерий, так и грибов. Методология проста. Клетку обрабатывают соответствующим химическим веществом. Происходит связывание этого вещества с клеточными структурами. Краситель начинает светиться, в результате клетка становится различимой для глаза или прибора, например проточного флуоцитометра. Для выявления и учета живых

(биохимически, физиологически) активных клеток бактерий используют флуоресцентные красители PVA и SPVA.

Флуоресцентно-микроскопические методы выявления и учета микромицетов в образцах естественных субстратов

Размеры гиф грибов существенно больше размеров бактериальных клеток. Поэтому грибы достаточно хорошо видны при более низком увеличении по сравнению с бактериями и даже без какого-либо окрашивания.

Световой микроскоп позволяет провести выявление и учет микромицетов достаточно легко без какого-либо окрашивания. Однако если численность грибов низка и приходится использовать низкое разведение почвенной суспензии, то для выявления мицелия в таких образцах нужно обладать хорошими практическими навыками. При отсутствии таких навыков длину мицелия микромицетов (а именно этот показатель применяют при определении биомассы грибов в водных или почвенных образцах) легче учесть, используя, как и в случае с бактериями, специальные флуоресцирующие красители.

При учете *живых* микроорганизмов после подращивания применяют в основном два метода: подсчет на чашках выросших колоний после разведений. Оба метода требуют разделения микроорганизмов перед посевом на индивидуальные клетки, которые затем дают потомство. Применение методов подсчета с посевами требует бережного обращения с пробами для сохранения жизнеспособных клеток. Следует учитывать, что для подсчета микроорганизмов различных групп необходимо применять разные среды. Разработано более тысячи таких сред для выявления бактерий, архей, грибов, водорослей, простейших, как аэробов, так и анаэробов.

Определение микробной биомассы

Измерение биомассы применяют для подсчета *урожая* микроорганизмов, понимая под биомассой сухую массу живого материала, выраженную в единицах веса (г/л). Измерение биомассы природных проб часто не приводит к желаемым точным результатам вследствие большого

количества побочных эффектов, связанных с отбором проб и их измерением. Поэтому для определения биомассы в природных образцах наиболее приемлемы методы, связанные с определением биохимических параметров клеток. Они предполагают, что количество измеряемого компонента одинаково для всех видов клеток, что, конечно же, идеализировано. Поэтому измерения биохимических параметров биомассы необходимо экстраполировать с осторожностью.

При измерении биомассы наиболее популярно измерение количества АТФ и общего содержания адениновых нуклеотидов с последующим пересчетом на содержание углерода клетки или веса сухой биомассы. Метод позволяет быстро и точно измерить содержание АТФ в образце. Количество АТФ строго соответствует биомассе живых клеток, так как после их отмирания пул АТФ в ней резко снижается или исчезает вовсе. Т. Е. признак живой клетки – наличие АТФ.

Другим способом является измерение содержания *компонентов клеточных стенок* — мурамовой кислоты (МК) или липополисахаридов. Установлено, что все грамположительные бактерии содержат одно и то же к-во МК в клетке, и для грамотрицательных клеток это соотношение массы клетки и массы МК тоже постоянно.

Для оценки *содержания грибной* биомассы используют определение концентрации хитина, но на точность метода влияет количество почвенных членистоногих и насекомых.

Физиологические подходы к определению биомассы основаны на измерении дыхания пробы после добавления субстрата или на измерении количества CO_2 , выделившегося после разложения микробной биомассы после стерилизации пробы при добавлении хлороформа. Оба метода требуют постановки многочисленных контролей.

Тестовое задание:

- 1. Относительный косвенный учет используют при изучении:**
1. отдельно взятого организма

2. сообществ растений
3. сообществ животных
4. популяции животных
5. популяции растений
- 2. Абсолютный метод учета наиболее приемлем при изучении:**
 1. микроорганизмов
 2. растений
 3. позвоночных
 4. крупных насекомых
- 3. Учет различного рода следов жизнедеятельности животных относят к методам:**
 1. относительного косвенного учета
 2. относительного прямого метода
 3. абсолютного метода
 4. метода прямой ординации
- 4. Маршрутные методы используются при изучении:**
 1. растительных организмов
 2. животных организмов
 3. микроорганизмов
- 5. Многолетние исследования одних и тех же биоценозов относят к:**
 1. полевым методам
 2. маршрутным методам
 3. стационарным методам
 4. методам моделирования
 5. экспериментальным методам
- 6. Геномные базы данных часто применяют при изучении:**
 1. грибов
 2. микроорганизмов
 3. растений
 4. животных
- 7. Подращивание применяется:**
 1. при изучении лишайников
 2. при изучении популяций животных
 3. при изучении растений
 4. микроорганизмов
- 8. Для определения микробной биомассы применяют:**
 1. измерение количества АТФ
 2. гены-репортеры
 3. иммобилизацию ДНК
 4. анализируют состав 16 S рРНК
- 9. Микроорганизмы идентифицируют по :**
 1. липидному составу
 2. анализируют состав 16 S рРНК
 3. используют гены-репортеры

4. используют флуоресцирующие красители

10. При изучении всех групп организмов возможно использование:

1. метода прямой ординации
2. методов многомерной статистики
3. экспериментальные методы
4. маршрутный учет

Список использованных источников:

1. Экология микроорганизмов: учеб. для студ. вузов/А.И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко и др., :Под ред. А.И. Нетрусова.- М. Издательский центр «Академия», 2004.- 272с.
2. Незнамова Е.Г. Экология организмов: учебное пособие/Е.Г. Незнамова.- Томск: Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники, 2007.-120с.
3. Жизненные формы как отражение условий среды и отношений в фитоценозе [Электронный ресурс].- Режим доступа: <http://botsad.ru/menu/activity/articles/moskalyuk-t/biogeocenologiya/lekcija-6/> (дата обращения: 31.05.2018)
4. Экологический портал. Жизненные формы животных фитоценозе [Электронный ресурс].- Режим доступа: <https://ecology-portal.ru/publ/4-1-0-591> (дата обращения: 31.05.2018)