

УДК 574.4.579.26

ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В НАУЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИХАИЛА ВИКТОРОВИЧА ГУСЕВА

Т.Г. Корженевская, О.И. Баулина, Е.С. Лобакова, О.А. Горелова

(кафедра физиологии микроорганизмов)

В своих воспоминаниях о нашем учителе Михаиле Викторовиче Гусеве, выдающемся ученом-микробиологе, мы хотели бы отразить становление и развитие тех направлений его научной деятельности, в которых принимали непосредственное участие.

Вся научная и связанная с ней педагогическая деятельность Михаила Викторовича с молодых лет была основана на реализации идеи физиологического подхода в экспериментальных исследованиях. В конце 60-х—начале 70-х гг. XX в., когда бурно развивались биохимия и молекулярная биология, он являлся одним из немногих, изучающих физиологические функции микроорганизмов как целостных систем, и в этом он был последователем идей своего учителя — академика В.Н. Шапошникова. Физиологический подход к изучению микроорганизмов, базирующийся на предпочтительном применении в эксперименте методов, обеспечивающих исследование интактного организма в конкретных условиях существования с учетом временного фактора, явился ведущей концепцией при становлении научной школы М.В. Гусева, которая начала складываться уже в этот период. Он пропагандировал физиологические принципы в изучении микроорганизмов, читая лекции по отдельным разделам микробиологии для студентов разных кафедр. Среди них был курс общей микробиологии, основанный в свое время академиком В.Н. Шапошниковым. Тем, кому посчастливилось слушать тогда лекции М.В. Гусева, особенно памятно его вдохновение, увлеченность, неординарный стиль изложения материала, который всегда иллюстрировался необычайно яркими примерами. Будучи еще молодым доцентом кафедры микробиологии, Михаил Викторович разработал и читал оригинальный курс лекций “Взаимодействие микроорганизмов с молекулярным кислородом” и один из первых на факультете курсов по экологии микроорганизмов. Впоследствии (в 1995 г.) он создал первый общефакультетский курс лекций для студентов 1-го года обучения “В мире микробов”. Это компенсировало дисбаланс в преподавании базовых биологических дисциплин на биологическом факультете МГУ, которые в силу традиции до того времени были представлены для первокурсников только ботаникой и зоологией. Учебник по микробиологии, на-

писанный им в 1978 г. совместно с Л.А. Минеевой, его однокурсницей и единомышленником, до сих пор не имеет аналогов среди отечественных учебников и переиздавался 4 раза (Гусев, Минеева, 1985; 1992; 2003; 2004). Идеи изучения жизнедеятельности клеток и популяций микроорганизмов без нарушения их структурно-функциональной целостности (или с обязательной экстраполяцией результатов молекулярно-генетических и биохимических исследований на уровень интактного организма) были главными для Михаила Викторовича и при создании спецкурсов “Клеточная физиология” (совместно с О.И. Баулиной) и в последние годы жизни, “Физиология микроорганизмов”.

Михаил Викторович являлся ученым с мировым именем, прежде всего как специалист по изучению физиологии цианобактерий — одной из наиболее древних групп фототрофных микроорганизмов. Проведенный им сравнительно-физиологический анализ взаимодействия разных прокариотных фототрофов с молекулярным кислородом, а также изучение процессов отмирания и деградации облигатно фототрофных цианобактерий в темноте позволили сформулировать представления об этих микроорганизмах как первых выделяющих кислород прокариотах, у которых в ходе эволюции возникло многообразие физиологически различных механизмов его поглощения. Именно Михаил Викторович ввел в те годы еще очень мало изученные цианобактерии в качестве перспективных объектов в практику лабораторных научных исследований в стране и в стенах МГУ. Основные итоги работы того периода были изложены в первых отечественных изданиях на эту тему — обзоре “Сравнительная физиология синезеленых водорослей” (Гусев, 1966) и монографии “Биология синезеленых водорослей” (Гусев, 1968), ставшими бесценными источниками информации для специалистов, изучающих физиологию этих микроорганизмов.

Цикл экспериментальных исследований, выполненных Михаилом Викторовичем с первыми учениками (К.А. Никитина, Т.Г. Корженевская, О.Ю. Сенцова и др., 1967—1971), был посвящен изучению взаимодействия облигатно фототрофных цианобактерий с кислородом. У этих организмов, которые впервые среди прокариот в ходе эволюции приоб-

рели оксигенный фотосинтез, были выявлены многообразие и неоднозначность реакций поглощения молекулярного кислорода. Результаты этого цикла работ были обобщены и защищены М.В. Гусевым в докторской диссертации "Сравнительно-физиологический анализ взаимодействия прокариотных фототрофов с молекулярным кислородом" (1971). Главным итогом этих исследований явились представления о цианобактериях как реликтах, сохраняющих следы эволюции проб в мире прокариот в формировании механизмов поглощения O_2 от вариантов защиты клеток от этого агента до использования его в процессе дыхания. Такой вывод согласуется с независимо проводимыми исследованиями по расшифровке и классификации молекулярных механизмов поглощения кислорода живыми организмами (Скулачев, 1969). Несколько лет спустя была издана книга Михаила Викторовича совместно с Г.Б. Гохлернер "Свободный кислород и эволюция клетки" (Гусев, Гохлернер, 1980) и другие труды на эту тему. Совместно с К.А. Никитиной была также издана книга "Цианобактерии" (Гусев, Никитина, 1979), обобщающая известные на тот период сведения о цианобактериях и вклад экспериментальных работ под руководством М.В. Гусева в систему знаний об этих организмах.

Среди работ 1970—1980 гг. следует отметить те, в которых с участием Т.Г. Корженевской, К.А. Никитиной, О.Ю. Сенцовой, О.И. Баулиной, Л.А. Минеевой, Л.Р. Ермаковой и других были изучены процессы выживания и деградации облигатно фототрофных цианобактерий в темноте и при различной интенсивности освещения. Особое значение для углубления знаний о физиологии цианобактерий, об их метаболической и ультраструктурной пластичности имеет обнаружение феномена выживания (до 1,5—2 месяцев) облигатно фототрофных цианобактерий в темноте без экзогенного источника углерода. Изучены жизнеспособность цианобактерий в этих условиях, последовательные стадии изменения их физиологического состояния и биохимического состава, модификации структурной организации и деградации клеток. Установлено, что длительное выживание цианобактерий поддерживается в темноте при участии O_2 в эндогенном метаболизме запасных веществ, в частности гликогена. В этих работах было также показано, что гибель популяции клеток в периодической культуре наступала после того, как в клетках происходил процесс необратимого набухания тилакоидов, т.е. расхождения мембран, образующих эти структуры. Продemonстрировано, что этот процесс, происходящий в темноте, является обратимым при перенесении культуры на свет до определенного периода пребывания клеток в условиях темноты, что связано с сохранением жизнеспособности клеток. Однако продление периода темновой инку-

бации приводит к истощению эндогенного источника углерода и энергии (гликогена) и к необратимому набуханию тилакоидов, что сопряжено с потерей жизнеспособности клеток и фотоокислительной деградацией мембран в условиях последующего освещения. Причем при длительном пребывании на свету преинкубированной в темноте популяции в ней выявлены единичные устойчивые к деградации и жизнеспособные клетки. Условия темноты многие цианобактерии переживают в определенных климатических зонах в течение длительных периодов времени, возможно, используя O_2 в процессах эндогенного метаболизма запасных веществ. Таким образом, экспериментальные исследования по этой теме представляют практический интерес для понимания механизмов длительного сохранения популяций этих микроорганизмов в неблагоприятных условиях в природе. Кроме того, полученные данные о последовательной деградации структур и химических компонентов клеток при относительной устойчивости липидов и клеточных мембран цианобактерий к деградации имеют важное значение в современных дискуссиях по проблеме накопления органического вещества в древних породах и об источниках образования ранних залежей нефти, в качестве которых могли выступать цианобактериальные маты.

Наблюдение неоднородности популяций цианобактерий в неблагоприятных условиях существования явилось основополагающим для дальнейшего, более пристального изучения клеточной гетерогенности как фактора развития популяций фототрофных микроорганизмов. В связи с этим следует отметить еще один цикл исследований, которые проводились под руководством Михаила Викторовича. В них участвовали как его коллеги и ученики (Л.А. Минеева, Л.Р. Семенова, О.И. Баулина, О.А. Горелова, Е.С. Лобакова), так и специалисты из Института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи (в том числе Л.Н. Кац). Имеется в виду работы, в которых впервые была показана способность цианобактерий к L-трансформации при развитии популяций в различных условиях в чистых культурах, а также при взаимодействии с растительными партнерами в модельных ассоциациях и природных симбиозах. Это направление до настоящего времени является приоритетным. Оно заслужило международное признание в связи с изучением физиологии цианобактерий в симбиозах, на чем более подробно мы остановимся ниже.

Особое значение в развитии концепции физиологических исследований М.В. Гусева имели установленные факты неоднозначности критериев живого, основанных на разных методах определения, что было обнаружено в ходе выполнения работ с цианобактериями, а также позже, при изучении

старения изолированных растительных клеток в периодической культуре. Это послужило обоснованием для обязательного сопоставления адекватности методов выявления живых клеток с их жизнеспособностью (способностью к размножению в оптимальных условиях).

С конца 70-х гг. XX в. одним из ведущих направлений работы научной школы М.В. Гусева стали исследования по участию цианобактерий в симбиозах — синцианозах. К этому периоду, в основном благодаря работам Линн Маргелис, изменились взгляды на симбиоз как на уникальное явление, была установлена повсеместность его распространения в природе, возрождена теория эндосимбиогенеза в происхождении эукариотной клетки, в том числе при участии цианобактерий. В то же время получение симбиоза экспериментальным путем считалось невозможным (Маргелис, 1983). Михаил Викторович организовал рабочую группу под руководством Т.Г. Корженевской, в состав которой вошли О.И. Баулина, М.Н. Агафодорова, И.Б. Запольнова (Ягодина), Е.С. Лобакова, О.А. Горелова, Л.В. Пивоварова, А.Ю. Скрипников. Он поставил задачу по получению искусственных симбиотических ассоциаций цианобактерий с растениями, не формирующими природные симбиозы с этими микроорганизмами. Для сотрудничества Михаил Викторович пригласил чл.-корр. РАН Р.Г. Бутенко, возглавлявшую в тот период в стране быстро развивающееся и перспективное для биотехнологии направление работ по культивированию растительных клеток и тканей. Раиса Георгиевна приняла непосредственное участие во введении методологии культивирования растительных клеток и тканей в практику научных исследований в стенах МГУ. Плодотворное слияние научного потенциала специалистов в области микробиологии и физиологии растений привело к формированию нового направления — изучению фундаментальных основ симбиогенеза природных и искусственных растительных синцианозов. В результате была разработана методология подбора и селекции совместимых сочетаний партнеров с использованием растительных объектов на разном уровне их организации — изолированных протопластов, культивируемых клеток, тканей, целых растений. В рамках данной проблематики в одном из направлений работы при индукции морфогенеза в смешанных каллусных культурах растений с цианобактериями оказалось возможным регенерировать растения, сохраняющие в своих тканях цианобактерии. Азотфиксирующие цианобактерии в искусственных ассоциациях с растениями обеспечивали рост последних на среде без связанного азота, на чем основано функционирование и природных растительных синцианозов. Эти работы были выполнены на основе подходов клеточной инженерии в период, когда активно проводились экспери-

менты по решению проблемы “биологического азота” методами генетической инженерии. Они явились новым этапом в приложении физиологических принципов М.В. Гусева к конструированию искусственных и в дальнейшем — в изучении природных симбиозов. Были выявлены общие закономерности в формировании и функционировании искусственных и природных симбиозов. Несимбиотрофные цианобактерии в стабильных искусственных ассоциациях обнаружили сходство физиологических, биохимических и структурных особенностей с таковыми цианобионтов в природных синцианозах.

На основе многолетних лабораторных исследований и теоретических разработок в докторской диссертации Т.Г. Корженевской (1990) обоснована и сформулирована концепция экспериментальной симбиологии как методологии изучения природного симбиоза, его реконструирования и получения искусственных ассоциаций.

Данный цикл работ, основанный на направленном подборе условий на всех последовательных стадиях получения искусственного симбиоза, имеет большое научное значение, во-первых, для моделирования процесса симбиогенеза с целью выявления закономерностей формирования симбиоза в природе и, во-вторых, для получения биотехнологически ценных симбиотических систем физиологическими методами. В этих работах отразилось дальнейшее развитие физиологического подхода в изучении не только чистых культур микроорганизмов, но и их ассоциаций с растительными партнерами.

В последующие годы изучались различные группы природных симбиозов цианобактерий с высшими растениями, занимающими разное эволюционное положение: мхами, папоротниками, саговниками, а также цианолищайниками. В нативных объектах исследовали структуру симбиотических тканей и органов, особенности ультраструктурной организации клеток партнеров, локализацию фенольных соединений и кислых полисахаридов, значимых для формирования симбиоза, топографию, клеточную гетерогенность и L-трансформацию микросимбионтов. Разработаны новые модельные системы, в том числе с использованием изолированных из природных объектов комплексов микросимбионтов, включающих цианобактерии и ассоциативные микроорганизмы, а также модели, позволяющие изучать физиологический статус цианобактерий без нарушения функциональных связей партнеров. В настоящее время продолжается изучение проблемы специфичности взаимодействия партнеров, эффекта паранодуляции несимбиотрофных растений, регуляции растительным партнером процессов азотного метаболизма, морфологических и ультраструктурных модификаций цианобактерий вплоть до образования L-форм.

В последние годы получены существенные результаты в изучении пространственной и метаболической интеграции партнеров в симбиозе. Исследовано влияние метаболитов растительного происхождения на дифференциацию и таксис подвижных трихомов — гормогониев и на формирование специализированных азотфиксирующих клеток цианобактерий — гетероцист. Изучается возможное участие бора в этих процессах.

Исследования в области симбиологии нашли признание среди российских и зарубежных коллег, о чем свидетельствует регулярное участие Михаила Викторовича и его сотрудников в отечественных и международных встречах, а также специальные приглашения от ведущих международных издательств написать коллективные монографии по симбиотическим цианобактериям. Из них уже вышли: "Handbook of symbiotic cyanobacteria" (Gusev, Korzhenevskaya, 1990) и "Cyanobacteria in symbiosis" (Gusev et al., 2002).

Экспериментальные и теоретические исследования в области симбиологии, обобщенные в виде докторских диссертаций учеников Михаила Викторовича в последние годы его жизни, способствовали существенному развитию этого научного направления и позволили выдвинуть целый ряд принципиально новых положений. Предложено новое направление исследований — ассоциативная симбиология, выявляющая многокомпонентность состава участвующих в формировании симбиоза микроорганизмов с различными функциями. В симбиозе участвует комплекс традиционно известного доминантного партнера, от которого зависит успех симбиоза на метаболическом уровне, и сопутствующих минорных компонентов, выполняющих функции, обеспечивающие устойчивое развитие симбиоза в целом. Разрабатывается гипотеза о регуляторном действии бора и фенольных соединений в структурно-морфологическом и физиолого-биохимическом взаимодействии партнеров в растительных синцианозах (Лобакова, 2004). Сформулирована концепция о синцианозах как инте-

рированной форме жизни, в которой происходит формирование не только устойчивых пищевых связей партнеров, но и объединение сенсорно-сигнальных систем, управляющих жизнедеятельностью симбиоза в целом (Горелова, 2005). В этой же работе продемонстрировано, что ключевое условие образования эффективного диазотрофного симбиоза — формирование интегрированной системы азотного гомеостаза. В результате анализа структурно-функциональных особенностей цианобактерий в различных условиях существования, в том числе в модельных ассоциациях и природных симбиозах с растениями, создано новое направление цитологии микроорганизмов (Баулина, 2005). Оно представляет собой изучение ультраструктурной пластичности цианобактерий как комплексное исследование на субклеточном, клеточном и популяционном уровнях.

В заключение мы хотим подчеркнуть, что Михаил Викторович, получив образование на кафедре микробиологии Московского университета, сохранял верность этой науке, видя в ней огромные перспективы. В то же время он обладал необычайно широким научным кругозором, интересами, далеко выходящими за пределы его базовой специализации в качестве микробиолога, парадоксальностью в постановке научных проблем, блестящим ораторским искусством, неординарными личностными качествами, внимательным и уважительным отношением к студентам. Его личность привлекала к себе молодежь — студентов, аспирантов, стажеров, а также молодых и более зрелых сотрудников, присоединявшихся к проводимым им исследованиям в ходе их развития. При постановке научных задач, при обсуждении экспериментов и теоретических вопросов со своими учениками и коллегами он мыслил глубоко и нетрадиционно. Это и является залогом ценности, приоритетности и признания научных трудов самого Михаила Викторовича и коллектива, который он возглавлял.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баулина О. И. 2005. Ультраструктурная пластичность цианобактерий: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.

Горелова О. А. 2005. Растительные синцианозы: изучение роли макропартнера на модельных системах: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.

Гусев М. В. 1966. Сравнительная физиология синезеленых водорослей // Усп. микробиол. 3. 74—103.

Гусев М. В. 1968. Биология синезеленых водорослей. М.

Гусев М. В. 1971. Сравнительно-физиологический анализ взаимодействия прокариотных фототрофов с молекулярным кислородом: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.

Гусев М. В., Гохлернер Г. Б. 1980. Свободный кислород и эволюция клетки. М.

Гусев М. В., Минеева Л. А. 1978. Микробиология. М.

Гусев М. В., Минеева Л. А. 1985. Микробиология: Учеб. 2-е изд. М.

Гусев М. В., Минеева Л. А. 1992. Микробиология: Учеб. 3-е изд. М.

Гусев М. В., Минеева Л. А. 2003. Микробиология: Учеб. для студентов биол. специальностей вузов. 4-е изд. М.

Гусев М. В., Минеева Л. А. 2004. Микробиология: Учеб. для студентов биологических специальностей вузов. 5-е изд. М.

Гусев М.В., Никитина К.А. 1979. Цианобактерии. М.

Корженевская Т.Г. 1990. Экспериментальная симбиология (на примере синцианозов растений): Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.

Лобак ова Е.С. 2004. Ассоциативные микроорганизмы растительных симбиозов: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.

Маргелис Л. 1983. Роль симбиоза в эволюции клетки. М.

Скулачёв В.П. 1969. Аккумуляция энергии в клетке. М.

Gusev M.V., Baulina O.I., Gorelova O.A., Lobakova E.S., Korzhenevskaya T.G. 2002. Artificial cyanobacterium-plant symbiosis // *Cyanobacteria in symbiosis* / Eds. A.N. Rai, B. Bergman, U. Rasmussen. Dordrecht. P. 253—312.

Gusev M.V., Korzhenevskaya T.G. 1990. Artificial associations // *Handbook of Symbiotic Cyanobacteria* / Ed. A.N. Rai. Boca Raton, Florida. P. 173—230.

MICROBIAL PHYSIOLOGY IN SCIENTIFIC ACTIVITY OF M.V. GUSEV

T.G. Korzhenevskaya, O.I. Baulina, E.S. Lobakova, O.A. Gorelova

The article is concerned with the reminiscences of Prof. M.V. Gusev's disciples. It deals with the development and promotion of the physiological approach as the methodology to study the life-sustaining activities of microorganisms. The paper emphasizes that microbial physiology was one of the focal points of Prof. M.V. Gusev's scientific activity.