

АНАБИОЗ: ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И СОПРОВОЖДАЮЩИЕ ЕГО ПРОЦЕССЫ
(ОБЗОР)

Приведён краткий обзор терминологии и литературных данных о процессах происходящих в клетке при переходе в состояние ангидробиоза и реактивации, т.е. выходе из него. Рассматриваются основные закономерности анабиоза. Приводится расчет численности популяции после восстановления повреждений при обезвоживании.

Понятие «анабиоза». Термин «анабиоз» для обозначения латентного состояния организмов был предложен Прейером [7, 32]. П. Ю. Шмидт считал, что это название не особенно удачно, так как оно означает «оживание», «воскрешение», а не «безжизненное» состояние. Поэтому он предложил такое состояние называть «анабиозом» или «абиотическим» (внежизненным) состоянием [33]. Однако этот термин не утвердился в литературе. По мнению Кейлина, это связано с тем, что он близок по звучанию с термином «абиогенез», который имеет совсем другой смысл [60]. Кейлин предложил называть такое состояние термином «криптобиоз», или скрытая жизнь, дав ему следующее определение: «Криптобиоз – это состояние организма, когда он не проявляет заметных признаков жизни и когда его метаболическая активность становится трудноизмеримой или обратимо приостановленной». Этот термин укоренился в англо-американской литературе. Хинтон [56] ограничивает применение данного термина, считая, что в этом случае имеет место обратимая приостановка метаболизма.

В отечественной литературе и в источниках ряда европейских стран по-прежнему используется термин «анабиоз».

В зависимости от способа перехода в абиотическое состояние Кейлин, а вслед за ним и другие учёные [44] предлагают использовать следующую терминологию:

- 1) ангидробиоз – состояние, вызванное значительными потерями воды путём испарения, этот термин был предложен Джиардом ещё в 1894 г. [7, 32];
- 2) осмобиоз – состояние, возникающее после удаления воды из организма с помощью раствора, имеющего высокое осмотическое давление;
- 3) криобиоз имеет место при замораживании живых организмов;
- 4) аноксибиоз возникает путем снижения концентрации кислорода в атмосфере ниже уровня, необходимого для поддержания окислительного метаболизма.

Организмы, способные к ангидробиозу, подразделяются на две различные группы. К одной из них относятся виды, которые способны переносить такое состояние лишь на ранних онтогенетических стадиях. Это семена растений [80], бактериальные и грибные споры [77], яйца некоторых ракообразных [41] и личинки ряда насекомых [56, 63]. Ко второй группе принадлежат организмы, способные переносить ангидробиоз на любой стадии жизни. Это некоторые виды простейших, коловратки, тихоходки, нематоды и микроорганизмы [33, 42, 54].

С учетом современных биологических представлений об анабиозе [6, 21, 33] может быть дано определение анабиоза как обратимого состояния биологических систем, когда метаболизм предельно заторможен или приостановлен и живые системы ведут себя как закрытые. При этом не достигается термодинамическое равновесие и сохраняется энергия, достаточная для осуществления последующей жизнедеятельности. Взаимосвязь анабиоза и жизни показана на рис. 1.

В различных исследованиях, проводившихся как в XIX в., так и в последнее время, отмечалось, наличие корреляции между временем, необходимым для полного восстановления нормальной жизнедеятельности анабиотических организмов при реактивации, и длительностью периода, в течение которого эти организмы находятся в состоянии анабиоза [38].

Все эти наблюдения, очевидно, свидетельствуют о наличии каких-то физиологических и биохимических изменений, которым подвергаются организмы в анабиотическом состоянии. Для объяснения природы этих изменений в последнее время выдвинуты различные гипотезы, заслуживающие внимания [4, 6, 24], а некоторые из них уже экспериментально подтверждены.

Среди этих предположений следует упомянуть следующее:

1. Во время обезвоживания живых существ могут быть повреждены или разрушены структуры и макромолекулы клетки. В этом случае, естественно, необходимо время на их репарацию или восстановление.

2. Промежуточные метаболиты могут утилизироваться, и необходим их синтез, прежде чем может быть восстановлена нормальная жизнедеятельность организмов.

3. Можно допустить, что при переходе в анабиотическое состояние образуются определённые метаболические ингибиторы. Тогда при реактивации они, прежде всего, должны либо инактивироваться, либо выделяться из организма.

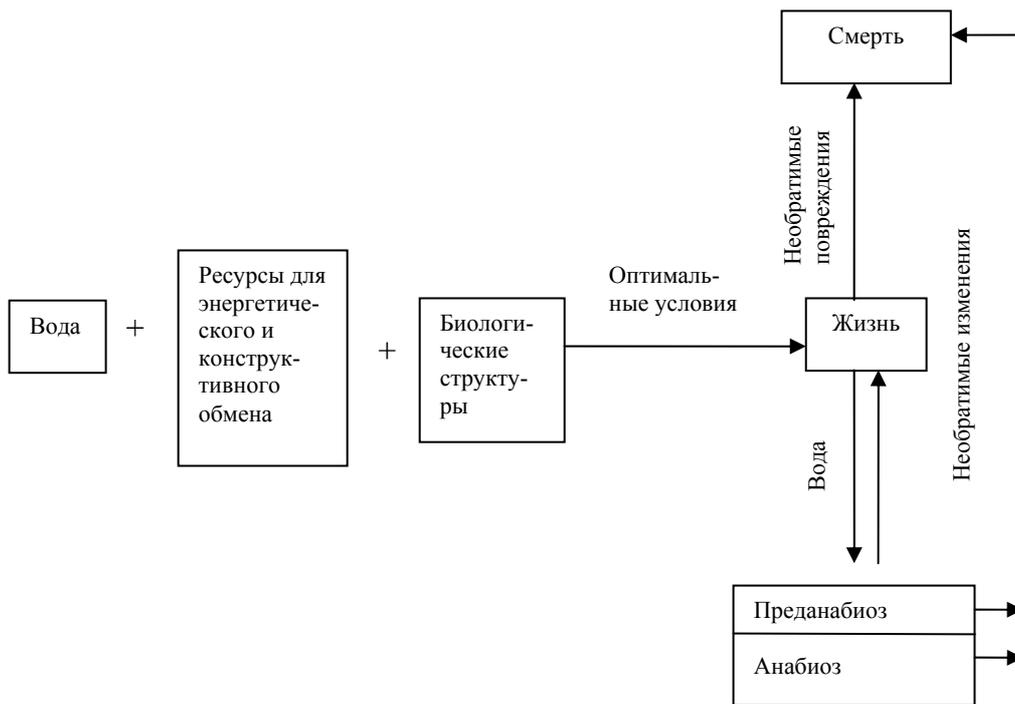


Рисунок 1. Схема взаимосвязи жизни, анабиоза и смерти [7]

Figure 1. The circuit of interrelation of a life, anabiosis and death [7]

Основные закономерности анабиоза. Под анабиозом обычно понимают способность биологических объектов обратимо приостанавливать или предельно затормаживать процессы их жизнедеятельности. Ряд авторов выделяют следующие основные признаки анабиотического состояния [8]:

- отсутствие или предельное затормаживание метаболизма;

- сохранение структуры в течение продолжительного времени;
- отсутствие в жидкой фазе заметных количеств свободной воды как непрерывной среды;
- повышенная устойчивость к экстремальным факторам;
- способность восстанавливать процессы жизнедеятельности.

Многие авторы рассматривают анабиоз как фактор, имевший большое значение в эволюции органических соединений и развитии жизни на нашей планете [16, 21, 22]. Действительно, биоорганические молекулы и протобионты эволюционировали в водной среде. В существовавших тогда на Земле экстремальных условиях возникшие биологические структуры часто подвергались дегидратации – регидратации и сохранялись лишь те образования, которые обладали необходимой устойчивостью.

Анабиоз широко распространен в природе. В этом состоянии могут находиться: микроорганизмы, покоящиеся стадии растений, простейшие, некоторые наземные беспозвоночные, отдельные насекомые, изолированные клетки, органы и эмбрионы позвоночных животных [5, 7, 16, 18, 21, 22].

Проблема анабиоза фактически редуцируется до изучения взаимоотношений биологических структур и воды. При таком подходе учение об анабиозе помогает понять саму сущность жизни и, безусловно, имеет большое общебиологическое значение.

Вода, как известно, является основным количественным компонентом любого биологического объекта. Вода, заключённая в клетках, является не только средой для протекания ферментативных реакций, но и структурным элементом мембран и биополимеров. Она является мембранообразующим фактором, поскольку биомолекулярный слой фосфолипидов возникает в водной среде. В клетках находится до 25 % связанной воды.

В многочисленных исследованиях показано, что в биологических объектах вода присутствует в различных формах, в том числе в структурированной, как это было установлено относительно растворов и контактирующих поверхностей. По мнению Дж. Бернала [10], жидкое кристаллическое состояние, в котором находится структурированная вода, имеет большое значение в биологических процессах.

Большое значение в биологических системах имеют гели [2, 46], однако роль структурной воды в формировании гелей изучена недостаточно. Можно полагать, что и в процессе обезвоживания на определённых участках клетки возникают гелеобразные состояния [13].

Значение структурированной воды для функционирования биологических систем впервые отметил Сент-Дьердь [7]. Он подчеркнул такие свойства воды, как способность легко, при небольших затратах энергии, образовывать связи и упорядочивать структуру и также легко разрывать эти связи и изменять структуру. Это очень важно для осуществления основных жизненных процессов, как в норме, так и в патологии.

Структура воды у поверхностей и, очевидно, в клетках непрерывно изменяется. Многообразие клеточных структур с различными поверхностями обуславливает разную степень структурирования воды при контакте с различными ионами, мономерами, макромолекулами и биомембранами, т.е. можно определённо говорить о том, что клеточные структуры оказывают влияние на структуру воды. С другой стороны, структура воды существенно воздействует на макромолекулы и мембраны. Структурные изменения в воде кооперативно влияют на субклеточные структуры и биополимеры по принципу «всё или ничего». Такая кооперативность действия структурных переходов воды на биологические системы очень наглядно проявляется при изменении температуры среды (оптимальные температуры роста, денатурация белка, действия ферментов и др.).

При детальном рассмотрении взаимодействия воды и внутриклеточных компонентов необходимо, прежде всего, отметить высокую концентрацию растворов в клетке (содержание сухих веществ составляет 15 – 25 %, а концентрация электролитов ~ 0,1 моль/л). При этом 20 % сухой массы растворённых веществ составляют протеины. Под-

считано, что на каждую молекулу белков в цитоплазме приходится около 18000 молекул воды [2].

В цитоплазме клетки растворены биополимеры – нуклеиновых кислот и белки, имеющие полифункциональный характер. Это определяет наличие в их молекулах как гидрофильных, так и гидрофобных группировок.

После классических работ Уотсона, Крика и Уилкинса признано, что изменение влажности может оказывать весьма существенное влияние на структуру генетического материала. На основании кристаллографических исследований постулировались две различные конфигурации ДНК – А и Б для двух различных величин влажности [7]. В последующих работах было подтверждено, что вода, окружающая молекулы ДНК, способствует поддержанию стабильной макромолекулы [53] и что условия, связанные с процессами дегидратации, могут повлечь за собой «коллапс» структуры макромолекулы [39].

Молекулы ДНК имеют нормальные свойства при 75 % относительной влажности, когда на каждый нуклеотид присоединяются 3 молекулы воды: 2 молекулы – к сахарофосфатному остатку, 3-я – к азотистому основанию [30].

Особенно важна роль воды в биомембранах. По современным представлениям, возникновение мембранных структур – биомолекулярного липидного слоя со строго ориентированными молекулами фосфолипидов – возможно только в водной среде благодаря гидрофобным взаимодействиям молекул. Мембрану представляют также как вязкую гетерогенную двумерную жидкость [51]. При этом биомембрана очень динамична – наблюдаются различные формы движений (латеральные, ротации, трансмембранные переходы и др.) как у липидов, так и у белков [9]. Так на пример, микробные мембраны имеют различный состав, содержание в них липидов и белков непостоянное, что зависит от типа биомембраны. Вода в мембранах составляет 30 – 50 %, до 25 – 30 % мембранной воды находится в прочносвязанной форме [23, 70]. Это подтверждено в исследованиях, проведённых различными методами.

В биологической литературе давно фигурирует термин «связанная вода». Обычно под связанной водой понимают ту часть воды в биологических объектах, которая с трудом удаляется при сушке. В криобиологии связанной называют воду, которая не замерзает.

В биомассе микроорганизмов содержится 15 – 20 % связанной воды, так например, в прессованных дрожжах – 20 %, в биомембранах, которые составляют 8 – 15 % сухого вещества клетки, – около 25 % [23]. Если принять, что в среднем в биомассе микроорганизмов содержится 50 % белков, то при способности белков связывать 0,2 – 0,6 г воды на 1 г массы (в среднем 0,4 г) можно получить 20 % связанной воды от сухой массы. Фосфолипиды связывают несколько меньше воды (0,3 г/г) поэтому за счет полярных головок фосфолипидов мембран образуется 1 – 2 % от сухого вещества клетки связанной воды. Большую часть связанной воды мембран, таким образом, дают белки (до 9 % от сухих веществ клетки), определённое количество – нуклеиновые кислоты, углеводы – глюкоза, сахароза (0,3 г/г) – и различно заряженные ионы.

Итак, можно утверждать, что если свободная вода определяет главным образом протекание биохимических реакций, то связанная вода – физические свойства клеточных компонентов структур. При обезвоживании сначала удаляется свободная вода, при этом концентрация внутриклеточных компонентов возрастает во много раз (в 2 – 5 раз), а это изменяет скорость биохимических реакций. Поэтому не удивительно, что длительное (24 ч) пребывание микроорганизмов в условиях оптимальной температуры при влажности 20 – 24 % приводит к гибели значительной части микробной популяции [7].

Изменения в клетках при обезвоживании – дегидратации. Процесс обезвоживания – дегидратации микроорганизмов всегда связан с определёнными изменениями в рассматриваемой системе [5, 7, 37, 58]. На популяционном уровне наблюдается уменьшение числа жизнеспособных клеток; на клеточном уровне чётко видны измене-

ния на поверхности клетки, в ядре и, особенно, в мембранных структурах [12, 24, 36, 49]; на молекулярном уровне после пребывания клеток в анабиотическом состоянии можно констатировать определённые изменения молекул биополимеров, особенно их функций [57, 61].

Обнаружены защитно-приспособительные реакции у различных систематических групп зелёных водорослей [13]. При высыхании мелких водоёмов вошерия (*Vaucheria*) образует не подвижные зооспоры, а неподвижные апланоспоры, которые приспособлены хорошо выносить обезвоживание. Образовавшиеся летом апланоспоры легко прорастают, а осенью впадают в криптобиоз (анабиоз) и прорастить их не удаётся. Действие повышенной температуры (40°C и выше) приводит к сравнительно быстрой реакции у водорослей из семейства *Zygnemataceae* спирогиры и мужоции, в результате чего образуются не зигоспоры, а партеноспоры без конъюгации. У мужоции партеноспоры вместо зигоспоры образуются и при снижении температуры воздуха примерно до 3°C и несколько ниже. Очевидно, при образовании покоящихся стадий (апланоспор, партеноспор) происходит процесс гелефикации протопласта, позволяющий им переходить в состояние криптобиоза (анабиоза).

У некоторых бурых морских водорослей, живущих обычно в черте прилива, имеются приспособления, позволяющие им переходить к наземному образу жизни. А.Г.Генкель описал у *Pelvetia canaliculata* особую имбибициозную ткань, связывающую воду, что и способствует перенесению ею обезвоживания во время отлива. Большинство вегетирующих в воде водорослей неспособно выносить обезвоживание, но у них образуются соответствующие защитные приспособления в виде зигот, апланоспор, аникет и партеноспор, которые обеспечивают им перенесение неблагоприятных условий существования. Основные процессы приспособления к обезвоживанию происходят у них в протоплазме, а оболочка и пальмеллевидные состояния предохраняют их в основном от нападения бактерий [13].

Уже внешний вид организмов при переходе их к анабиозу путём высыхания показывает на значительные изменения клеток тканей. Так у коловраток и тихоходок заметно уменьшение размеров (съёживание) и уплотнение, черепашья пиявка (*Ozobranchus jantseanus*) превращается в пуговкообразную твёрдую, как дерево, чёрную сухую пластинку, не похожую на червя [14, 15, 33, 59]. Электронно-микроскопическое исследование обезвоженных высушиванием дрожжевых организмов и бактериальных клеток показало, характерное заметное уменьшение объёма и изменение формы клеток. В этих условиях наблюдается частичный плазмолиз – отхождение цитоплазматической мембраны от клеточной стенки. Цитоплазматическая мембрана сухих дрожжей обладает характерной фестончатой складчатостью, возникающей, очевидно, за счёт сжатия клетки при обезвоживании [12 26].

Имеются указания на загустевание, уплотнение протоплазмы клеток коловраток, других животных и растений при переходе к анабиозу вследствие высыхания. При этом не было обнаружено изменения клеточного содержимого, в частности какого-либо перемещения алейроновых или крахмальных зерен, что объясняется огромной вязкостью протоплазмы. На основании исследований многих авторов [14, 15, 20] установлено, что протоплазма сухих семян и микроорганизмов обладает свойствами твердого геля. Некоторые авторы говорят о явлениях кристаллизации в протоплазме при высыхании. Однако речь может идти лишь о кристаллизации тех или иных запасных веществ при повышении их концентрации в высыхающих клетках; тонкая гелевая структура самой протоплазмы не нарушается, на что указывает её возвращение к нормальному состоянию при простом набухании и переходе к жизнедеятельности.

Органеллы клеток при высыхании, по-видимому, также приобретают твёрдое состояние и претерпевают некоторые изменения. При обезвоживании происходит изменение формы ядер, которые становятся несколько угловатыми и удлиняются, иногда обнаруживается их фрагментация (после лиофилизации). Нарушаются и их сорбционные

свойства, о чём свидетельствует диффузное светло-зелёное свечение кариоплазмы, в норме светится только кариосома, кариоплазма не люминесцирует [24]. При медленном обезвоживании клеток в них происходит конденсация хроматина, и в ядрах отчётливо выявляются спирализованные хромосомы, которые обычно становятся заметными лишь в стадии митоза. Все они, как правило, характеризуются компактной упаковкой. В то же время несколько более быстрая дегидратация организмов приводит к тому, что конденсированный хроматин обнаруживается в виде светлых концентрических участков в ядре, что, очевидно, может свидетельствовать о меньшей в данном случае степени конденсации хроматина в ядрах. Различная степень конденсации хроматина была выявлена при обезвоживании дрожжевых клеток [7].

Вакуоли в клетках растений при высыхании превращаются в твердые тела. К высохшим и затвердевшим вакуолям относятся и алейроновые зерна семян [14, 26]. Структура и форма митохондрий практически не изменяются, не было также обнаружено какого-либо разрушения мембранных элементов, повреждения крист или изменения состояния матрикса митохондрий на электронограммах. Тем не менее, установлено, что в процессе дегидратаций клетки в светлой зоне («нуклеоиде» митохондрий) становится более отчётливо видимой митохондриальная ДНК [7, 11]. Показано [28], что митохондрии являются органеллами, функциональная активность которых восстанавливается уже на самых ранних этапах реактивации клеток из состояния анабиоза и которые уже в ходе процесса реактивации неоднократно размножаются делением. По-видимому, сохранение структурной целостности и ранее восстановление функциональной активности митохондрий является весьма существенным для сохранения жизнеспособности клеток, поскольку многие другие процессы репарации внутриклеточных повреждений требуют определённых затрат энергии, генерация которых связана с митохондриями.

Биомембраны различных структур в условиях утраты всей свободной и части связанной воды получают повреждения, от которых страдают основные их функции – барьерная, транспортная, энергогенерирующая [4, 5, 7, 8, 29]. При изучении влияния обезвоживания на структурные и функциональные характеристики цитоплазматической мембраны эукариотических клеток, было установлено, что серьёзные перестановки ее молекулярной организации, обнаруживающиеся при повышении свойств проходимости произошли, когда диапазон остаточной влажности достиг 20 – 30 %. Эти изменения были связаны с началом потери небольшого количества связанной воды клетками. Эти перестройки поправимы. Нормальная мембранная структура может быть восстановлена в процессе медленной и постепенной регидратации обезвоженных клеток в водных парах. [71, 72].

Бекером М. Е. с соавторами ещё в 1977 г [4, 5] была предложена гипотетическая модель участка дегидратированной биомембраны (рис. 2). Они допускали, что в местах отсутствия свободной и части связанной воды в результате ослабления гидрофобных взаимодействий биомембрана меняет ориентацию молекул фосфолипидов. Вместо бимолекулярного слоя (ламеллярная структура) появляются гексагональные скопления фосфолипидов. При этом возможно исключение отдельных молекул мембранных белков из единой системы. Изменения в липидном окружении белка могут привести к функциональным сдвигам в активности этих белков [31].

Существует много доказательств нарушения барьерной функции цитоплазматической мембраны после ангидробиоза [5, 7, 8, 27]. Наглядно факт нарушения барьерной функции цитоплазматической мембраны во время увлажнения сухой клетки можно наблюдать под микроскопом.

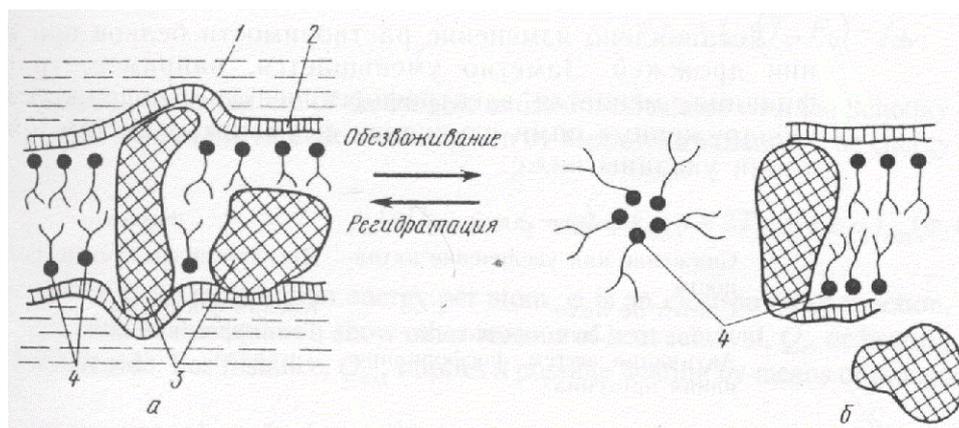


Рисунок 2. Модель участка влажной (а) и высушенной (б) биомембраны: 1 – свободная вода, 2 – связанная вода, 3 – мембранные белки, 4 – Фосфолипиды [8]

Figure 2. Model of a site damp (а) and dried up (б) biomembranes: 1 - free water, 2 - the connected water, 3 - membranes proteins, 4 - phospholipids [8]

После специальной окраски видны скопления полифосфатов и других соединений фосфора в строго определённых местах цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. Так, например, происходящее после реактивации сухих дрожжей перераспределение полифосфатов и трегалозы свидетельствует и о нарушении барьерной функции вакуолей [7, 17].

Если при обезвоживании или регидратации нарушается барьерная функция лизосом, может происходить лизис клеток. Увеличивается проницаемость лизосомных мембран после сушки для ионов калия и магния. Возможно, это и является одной из причин инактивации части членов популяции [5].

Очевидно, описанные выше изменения в структуре ядра и митохондрий являются естественной приспособительной реакцией организма к неблагоприятным условиям. Физиологической реакцией на обезвоживание является также образование «складчатости» цитоплазматической мембраны, возникающей из-за значительного уменьшения размеров клетки при дегидратации.

Электронно-микроскопические исследования показали, что погибшие в процессе обезвоживания клетки отличаются от находящихся в анабиотическом состоянии значительным плазмолизом, наличием разрывов в цитоплазматической и ядерной мембранах, сильным уменьшением размеров ядра и другими необратимыми повреждениями [7, 12].

Биохимические изменения в клетке при обезвоживании. Процесс перехода к анабиозу характеризуется снижением интенсивности биохимических процессов. Отмечается прекращение синтеза запасных веществ и снижение содержания воды; при этом резко падает интенсивность дыхания.

В природных условиях при повышенной влажности воздуха переход к полному анабиозу не завершается, организм задерживается в состоянии не полного анабиоза. В этом случае в отсутствие свободной воды, по-видимому, нет характерного для жизнедеятельности настоящего дыхания. Например, в сухих покоящихся семенах биоэлектрический потенциал, который связан с дыханием, оказывается равным нулю. Однако какие-то разрушительные процессы всё же происходят. Внешне это выражается в незначительном газообмене – поглощении кислорода и выделении углекислоты, рассматриваемом как дыхание. Интенсивность этого газообмена при неполном анабиозе ничтожна по сравнению с настоящим дыханием организмов при жизнедеятельности [14].

Во время обезвоживания организмы подвергаются воздействию повышенной температуры, меняющегося осмотического давления, голоданию. При действии этих факторов происходит перестройка метаболизма клеток, в них протекают адаптивные

реакции [3, 7]. Эти процессы требуют затраты энергии, которая, при отсутствии внеклеточных питательных веществ, генерируется за счёт внутриклеточных химических соединений. Покоящиеся клетки нуждаются в определённом количестве энергии для осмотической регуляции, для поддержания внутриклеточного рН, для синтеза распадающегося белка и рибонуклеиновых кислот.

Изменения нуклеиновых кислот. В литературе мало данных о влиянии процесса обезвоживания и регидратации на нуклеиновые кислоты, хотя общеизвестно, что клетки с высоким содержанием азота и нуклеиновых кислот гораздо хуже переносят обезвоживание, чем клетки с низким содержанием этих веществ. Содержание дезоксирибонуклеиновых кислот в клетках, за исключением периода деления, весьма постоянно, а рибонуклеиновых кислот изменяется в зависимости от фазы роста, интенсивности биосинтетических процессов клетки и т. д. Например, установлено [68], что при хранении свежей биомассы дрожжей наблюдаются изменения в нуклеиновых кислотах. Так, в дрожжах хранившихся при 35°C, в первые 6 – 8 дней отмечен прирост общего количества нуклеиновых кислот в клетках, причем рибосомальная РНК достигает максимума на 5-й день хранения, ДНК – на 7-й день. За это время наблюдалось незначительное (2 – 5 %) отмирание клеток. Наиболее чувствительной оказалась информационная РНК. Отмечено [55], что лиофилизация и сушка хлебопекарских дрожжей вызывают генетические изменения определённого локуса, причём авторы наблюдали, что данные изменения протекают именно во время обезвоживания, так как длительное хранение в аналогичных условиях сухого препарата не вызывает подобных изменений.

Повреждение ДНК при лиофилизации отмечено у *E. coli*. Было установлено [65], что лиофилизация данного микроорганизма вызывает расщепление ДНК. Эти повреждения репарируются во время реактивации при 37°C в 0,9 %-ном растворе NaCl, но только у штаммов, обладающих резистентностью к облучению.

Под влиянием повышенной температуры происходит ферментативное расщепление РНК. Предполагают, что при этом активизируется рибонуклеаза или термически денатурируется её ингибитор.

Многими исследователями было обнаружено [7, 24], что при обезвоживании дрожжей происходит уменьшение содержания нуклеиновых кислот и увеличивается количество нуклеотидов по сравнению с исходной биомассой. Причём степень деградации РНК в значительной мере зависит от условий культивирования клеток. В основном деградация РНК происходит на первых процессах сушки, когда остаточная влажность клеток снижается приблизительно до 20 %. В этот период, очевидно, из клетки удаляется вся свободная вода и начинается удаление связанной воды. Это даёт основание предполагать, что разрушение РНК может быть связано и с ферментативными процессами. В результате фракционирования РНК из интактных и обезвоженных клеток было обнаружено, что при дегидратации разрушаются в основном высокомолекулярные РНК. Очень важно, что степень дегидратации РНК не коррелирует с жизнеспособностью высушенных клеток. В проведённых ранее исследованиях было установлено, что сразу же после начала реактивации дегидрированных клеток в них могут происходить синтезы РНК и белка [24]. Это свидетельствует о том, что в обезвоженных организмах сохраняется достаточное количество всех видов РНК для инициации белковых синтезов [25].

Интересные данные были получены при изучении активности щелочной и кислой фосфатазы при обезвоживании. Активность щелочной фосфатазы при обезвоживании способом лиофилизации или медленной сушке при 37°C 24 ч практически не изменялась. Активность кислой фосфатазы при медленном обезвоживании возрастала примерно в 2 – 3 раза по сравнению с исходной биомассой.

Изменения белковых веществ. Сухая биомасса микроорганизмов содержит от 30 до 80 % белка. Чем меньше в клетках микроорганизмов жира, гликогена или других запасных веществ, тем относительно выше содержание белка [6].

Работами ряда авторов доказано, что выживаемость клеток микроорганизмов во время сушки в большей степени зависит от содержания в них азотистых веществ; чем выше содержание азота, тем большее число мёртвых клеток и ниже их активность [6, 7].

Белки, являются высокомолекулярными веществами, состоят из большого количества аминокислот. Даже самые низкомолекулярные белки содержат более 100 аминокислотных остатков, а высокомолекулярные – десятки тысяч.

Простые белки – протеины в клетках чаще всего являются запасными отложениями и не играют активной физиологической роли. По современным представлениям, физиологически активными чаще всего бывают сложные белки – протеиды, которые помимо белковой содержат также небелковую часть. Из протеидов особенно важные функции в жизни клетки играют нуклеопротеиды, липопротеиды и ферменты. Как протеины, так и протеиды относятся к наиболее лабильным и термочувствительным компонентам клетки. Все факторы, которые вызывают денатурацию белка, ведут к инактивации клеток микроорганизмов.

Все химические процессы в живом организме направляются ферментами, которые, будучи специфическим белками, играют роль биологических катализаторов. Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные процессы, обычно принадлежат к числу сложных белков – протеидов. Эти ферменты, кроме белковой части, содержат термостабильные соединения – нуклеотиды, витамины, а также атомы железа, меди и т. д.

Во время сушки микроорганизмов азотистые соединения сильно изменяются. В результате действия протеолитических ферментов клетки имеют место распад белка, о чём свидетельствует нарастание аминного азота. В связи с этим влияние температуры на активность ферментов и ферментативные реакции должно рассматриваться в двух аспектах [6]. Во-первых, скорость ферментативных реакций увеличивается при нагревании, часто удваиваясь при повышении температуры на 10°C; и, наоборот, путём охлаждения представляется возможным уменьшить скорость ферментативных процессов, т. е. уменьшить активность ферментов. Во-вторых, нагревание выше определённой температуры приводит к полной инактивации ферментов. Обычно ферменты инактивируются за 5 мин при температуре около 75°C. Но существуют значительные отклонения: некоторые ферменты инактивируются при более низкой температуре, даже при 40°C, в то время как другие не разрушаются и при 100°C. Степень инактивации ферментов зависит от экспозиции, т. е. продолжительности воздействия температуры на данный фермент.

При воздействии повышенных температур скорость движения атомов в белковой молекуле возрастает и может достичь такой величины, при которой разрывается водородная связь или сульфгидрильная (SH) связь и белок при этом денатурируется.

Так, например, распад белков во время сушки дрожжей отражается на общем количестве белков в клетке. Большая часть дрожжевых белков представлена белками ферментов, поэтому количественные и качественные их изменения отражаются на метаболизме клеток. Одновременно с распадом белков и уменьшением их количества наблюдаются термическая денатурация белка и значительное снижение его растворимости, причём при повышении температуры сушки растворимость дрожжевых белков снижается [28].

Изменение углеводного и липидного состава при обезвоживании. Углеводы и липиды в клетках микроорганизмов обычно играют роль запасных или защитных веществ, а иногда являются и промежуточными продуктами обмена веществ. К числу запасных веществ можно отнести жировые отложения, гликоген, гранулезу, к числу защитных – полисахариды, входящие в состав клеточной оболочки, а также капсулы, окружающие клетку. Содержание углеводов в клетках микроорганизмов в большой степени определяет их устойчивость при обезвоживании. Как правило, клетки с высоким содержанием углеводов хорошо сохраняют жизнеспособность при сушке [6, 48].

Многочисленные организмы способны пережить более или менее полное обезвоживание. Общая особенность в их биохимии – то, что они накапливают большие количества дисахарида, наиболее общими из которых являются сахароза и трегалоза. Эти сахара стабилизируют мембраны и белки в сухом состоянии [43, 50, 75, 78, 79, 81].

Некоторые устойчивые к сушке клетки цианобактерий накапливают большие количества или одного или двух дисахаридов трегалозу и сахарозу [45, 48]. Такие наблюдения заставили прийти к заключению, что дисахариды являются эффективными при защите ферментов в течение высушивания замораживанием и высыхания на воздухе.

Рядом авторов установлено, что при сушке микроорганизмов гликоген переходит в трегалозу, а наличие последней в клетках благоприятно сказывается на сохранении жизнеспособности клеток [34, 52]. Наблюдения, полученные при лиофильной сушке *Aerobacter aerogenes*, показали, что выживаемость при сушке этих бактерий повышалась, если в среде, в которой выращивались бактерии, лимитирующим компонентом был азот, а не углерод. При этом в клетках бактерий накапливался гликоген. Благоприятное влияние трегалозы в клетках при обезвоживании объясняется тем, что трегалоза при реактивации служит источником энергии [6, 45, 64, 78]. Накопление в клетках различных организмов гликогена и трегалозы наблюдается при наступлении неблагоприятных условий. И. Клегг сообщает, что некоторые микроорганизмы, например *Dictyostecium mucroides*, накапливают в спорах до 7 % трегалозы, которая при прорастании их исчезает [41]. Упомянутый организм в вегетативных формах не содержит трегалозы. По мнению И. Клегг, трегалоза имеет определённое значение в процессе возобновления жизнедеятельности клеток, т. е. это вещество требуется для перехода из состояния анабиоза в активную форму жизни.

Близкий по составу к крахмалу полисахарид гранулеза, накапливается в протоплазме анаэробных бацилл перед спорообразованием [6]. Этот и ранее упомянутые факты свидетельствуют о том, что углеводы обладают защитными свойствами для клетки в неблагоприятных условиях. Сказанное подтверждает также широко известный факт, что многие микроорганизмы образуют вокруг клетки капсулы (или цисты), в состав которых входят полисахариды. Так, бактерии *Leuconostoc* образуют вокруг клеток студнеобразные капсулы огромных размеров. В состав этих внеклеточных выделений входят декстраны, левулань. Известно также, что на средах, богатых углеводами, капсулы образуют азотобактер. Исследования показали, что азотобактер в форме цист значительно устойчивее при высушивании.

Механическую прочность клеткам многих микроорганизмов придают полисахариды типа гемицеллюлозы, маннан находящиеся в оболочке.

Входящие в клеточный состав липиды - самые эффективные источники сохранения энергии и играют важную роль как структурные элементы большинства клеточных мембран. Часть липидов (около 1 % от сухого вещества) образует сложные соединения с белком – липопротеины, которые являются основным структурным элементом клетки [6]. Они также играют жизненно важную роль в устойчивости к разным физиологическим стрессам у разнообразных организмов, включая цианобактерии. Механизм устойчивости к сушке полагается на двойной фосфолипидный слой, который стабилизируется в течение водного стресса сахаром, особенно трегалозой [35]. Ненасыщенные жирные кислоты также противодействуют стрессам [76].

Во время сушки и хранения биомассы с липидами происходит ряд изменений. Липиды в присутствии кислорода подвергаются окислению, прогорканию [6, 69], что изменяет натуральный химический состав.

Изменение липидного состава мембран организма важный ответ на экологический стресс. [66, 73]. Поддержание мембранной целостности в ангидробиотических организмах представляет центральный механизм в устойчивости к высушиванию [40, 47].

Роль липидного состава и мембран в выживании бактерий в экстремальных температурах, солености и высыхании были сообщены [67, 74].

Реактивация. Как уже было отмечено, во время обезвоживания микроорганизмов до остаточной влажности 1 – 10 % происходит повреждение различных структур и макромолекул клетки. В результате локальных и тотальных необратимых повреждений часть членов популяции погибает, выживаемость различных культур микроорганизмов по ряду причин колеблется в очень широких пределах – от 09 – 99 % до тысячных долей процента [6, 7]. При восстановлении популяций из анабиотического состояния (при вышеуказанной остаточной влажности некоторые процессы в клетках ещё протекают, поэтому в данном случае лучше говорить о преданабиозе) различают три процесса:

- увлажнение препарата (регидратацию),
- ликвидацию повреждений клеточных структур (реактивацию),
- восстановление на прежнем уровне численности популяции путём размножения оставшихся жизнеспособных клеток (рост и размножение клеток).

Регидратация (увлажнение) – чисто физиологический процесс, когда происходит насыщение клеток водой. Хотя кинетика увлажнения сухих культур микроорганизмов ещё мало изучена, однако известно, что продолжительность возвращения воды в клетки небольшая [7]. Можно полагать, что в процессе регидратации часть обратимо поврежденных элементов клетки приобретает первоначальный нативный вид (например, восстанавливаются связи «вода – белок», «вода – нуклеиновые кислоты», «вода – фосфолипиды» и д. р.).

Процесс регидратации заканчивается обычно в течение нескольких минут, если размер микроорганизма не превышает 1,0 – 1,5 мм. Согласно литературным данным, сразу после увлажнения электропроводность высокая, что объясняется наличием сплошного внеклеточного водного слоя, содержащего клеточные электролиты. В течение 1 – 2 мин эта внеклеточная вода поглощается клетками (проходит через клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану), но внутри клеток, непрерывно заполненное водой пространство восстанавливается в течение 8 – 10 мин. В течение этого периода электропроводность увеличивается и достигает первоначального уровня. О скорости регидратации можно судить и по продолжительности выхода из высушенных клеток компонентов. Так, при регидратации сушеной биомассы эпифитных бактерий максимум экстракционных веществ в регидратационной жидкости обнаруживался через 5 – 15 мин. Хорошо диспергированные отдельные сухие клетки увлажняются в течение нескольких секунд.

Регидратацию сушёных клеток рекомендуется начинать постепенно парами воды. Большое значение имеет и температура среды. Потери клеточных компонентов снижаются, если регидратацию осуществлять при повышенных температурах. Такое влияние температуры связывают с уровнем остаточной влаги в биомассе [7].

Лидер [62] считает, что при низких температурах происходит кристаллизация мембранных липидов и в мембранах возникают каналы. Температура фазового перехода в мембранах зависит от степени гидратации липидов, а при сушке удаляется часть связанной воды, т. е. уменьшается степень гидратации биополимеров и мембранных липидов. Имеются также данные, что при пониженных температурах восстановления окислительных – SH групп не происходит, в результате не наблюдается и реактивации белков.

Одним из наиболее характерных критериев повреждения цитоплазматической мембраны при действии любых повреждающих факторов является изменение проницаемости. Изменение проницаемости при регидратации сухих препаратов удобно оценивать по общему количеству в среде сухих веществ, нуклеотидов, калия и изменению рН среды [4, 7, 9, 51, 23, 31].

После возвращения в клеточную массу воды, при наличии ресурсов энергетического и конструктивного обмена и комплекса оптимальных условий для данного организма, популяция вступает в лаг-фазу развития. Если во время обезвоживания данной

культуры в клетках имели место определённые повреждения, то при наличии тотального неповреждённого генетического аппарата может происходить биохимическое восстановление специфических белков (ферментов), структурных образований и даже репарация частично поврежденного генетического материала. Продолжительность периода реактивации (τ_2) зависит от характера и степени повреждений [7]. Скорость (ν) ферментативных реакций, которые протекают во время реактивации поврежденных клеток, очевидно, можно охарактеризовать известным уравнением Михаэлиса – Ментена:

$$\nu = \frac{V[S]}{K_m + [S]}.$$

Как видно скорость химических реакций, следовательно, и реактивации, зависит от концентрации субстрата (S), константы Михаэлиса (K_m) и максимальной скорости реакции (V). Таким образом, реактивационная среда должна быть полноценной, что на практике не всегда учитывается.

Можно полагать, что при различных экстремальных воздействиях на живые клетки (в том числе при их обезвоживании) в них может протекать ряд общих реакций.

По мнению В. Я. Александрова [1, 7], после воздействия на живые системы внешнего повреждающего фактора имеют место следующие явления:

- возникновение первичных повреждений структур и клеточных компонентов от непосредственного действия повреждающего фактора;
- деструктивное последствие, т. е. вторичные нарушения в клетках, которые прямо или косвенно определяются первичными повреждениями;
- адаптивное повышение стабильности клетки как ответная реакция;
- репарация полученных повреждений, которая может осуществляться как после воздействия экстремальных факторов, так и во время него;

Очевидно, эти явления наблюдаются при обезвоживании - регидратации. По мнению В. И. Корогодина [19], в ходе реактивации могут протекать следующие процессы:

- биосинтез новых молекул (в том числе) в место поврежденных;
- компенсация функций повреждённых структур резервными механизмами;
- разрушение и изоляция частично повреждённых структур;
- репарация повреждённых структур.

Обезвоживание клеток, их пребывание в высушенном состоянии и регидратация приводят к обратимым и необратимым изменениям почти во всех биополимерах, в ядре и других мембранных структурах [58]. В результате этих повреждений лаг-фаза удлиняется, а потери клеточных компонентов увеличиваются. Во время реактивации часть обратимо повреждённых при обезвоживании клеток восстанавливает жизнедеятельность по свойственному данной культуре типу обмена. Может случиться, что путём реактивации все члены популяции восстановят свои функции, и тогда общая продолжительность восстановления популяции (τ) сложится из продолжительности регидратации (τ_1) и реактивации (τ_2).

При обезвоживании часть клеток необратимо инактивируется и после реактивации требуется определённое время (τ_3) для размножения оставшихся жизнеспособными особей и восстановления численности популяции. Для этого необходимы полноценная питательная среда и оптимальные режимы культивирования. После реактивации, что в данном случае совпадает с удлинённой лаг-фазой, начинается экспоненциальный рост, и прирост биомассы можно охарактеризовать известным уравнением

$$X = X_0 e^{\mu(t_1 - t_0)},$$

где X – первоначальная жизнеспособность биомассы до обезвоживания; X_0 – жизнеспособная клеточная биомасса после обезвоживания, хранения, регидратации и реактивации; e – база натурального логарифма (2, 718, ...); μ – удельная скорость роста данной культуры, ч⁻¹; $t_1 - t_0$ – продолжительность культивирования, ч.

В данном случае $t_1 - t_0 = \tau_3$. Чтобы определить время размножения, прологифмируем уравнение и получим

$$\tau_3 = \frac{\lg X - \lg X_0}{0,43\mu}.$$

Если после реактивации определить выживаемость (I_s) популяции, то можно получить

$$I_s = \frac{X_0}{X} \text{ и } X_0 = I_s X.$$

Подставив значения X_0 в данное уравнение, запишем

$$\tau_3 = \frac{\lg X - \lg X_0}{0,43\mu} = \frac{\lg X - \lg I_s - \lg X}{0,43\mu},$$

$$\text{т. е. } \tau_3 = - \frac{\lg I_s}{0,43\mu}.$$

Как видно, время размножения пропорционально выживаемости и обратно пропорционально удельной скорости роста. Как известно, μ определяется уравнением Моно:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{S + K_m},$$

где S и K_m известны из уравнения Михаэлиса – Ментена; μ_{\max} – максимальная удельная скорость, когда S не является лимитирующим фактором.

Итак, если принять, что во время реактивации S постоянная величина, то

$$\tau_3 = - \frac{\lg I_s}{0,43 \left(\frac{\mu_{\max} S}{S + K_m} \right)} = - \frac{S + K_m \lg I_s}{0,43 \mu_{\max} S},$$

следовательно, время восстановления численности популяции зависит от выживаемости, удельной скорости роста, концентрации субстрата и константы Михаэлиса. Знак минус означает, что выживаемость всегда меньше единицы. Общее время восстановления (τ) повреждённой при обезвоживании популяции микроорганизмов состоит:

$$\tau = \tau_1 + \tau_2 + \tau_3.$$

Таким образом, в высушенных культурах после регидратации осуществляется ряд сложнейших биохимических процессов, благодаря которым полностью восстанавливается первоначальное физиологическое состояние популяции. Такое восстановление возможно, если нет необратимых повреждений генетической и белоксинтезирующей системы [7].

Заключение. Проблема анабиоза интересовала учёных с давних времён, однако на современном этапе развития биологических наук пока ещё трудно объяснить механизмы всех реакций, протекающих в клетках при обезвоживании и регидратации. Изучение явления анабиоза должно быть комплексным. Исследования на клеточном уровне дают богатую информацию о структурно-функциональных изменениях всего комплекса клеточных элементов, о путях репарации и реактивации различных обратимых перестроек и повреждений в клетках. На молекулярном уровне изучение анабиоза особенно интересно в отношении структурно функциональных перестроек молекул нуклеиновых кислот и белков в результате их значительного обезвоживания. На популяционном уровне отношение отдельных индивидов к анабиозу как фактору определяющем сохранение данного вида в неблагоприятных условиях.

1. Александров В. Я. Клетки, макромолекул и температура. - Л.: Наука, 1975. - 329 с.
2. Алов И. А., Брауде А. И., Аспиз М. Е. Основы функциональной морфологии клетки. - М.: Медицина, 1969. - 344 с.
3. Аркадьева З. А. Факторы влияющие на жизнеспособность и свойства микроорганизмов при различных методах хранения // Биол. науки. - 1983. - 4. - С. 93 - 105.
4. Бекер М. Е. К вопросу о модели биомембран в связи с проблемой анабиоза. // Микробиологический синтез аминокислот. - Рига: Зинатне, 1977. - С. 49 - 53.
5. Бекер М. Е. Современные представления об анабиозе микроорганизмов // Торможение жизнедеятельности клеток. - Рига: Знатнее, 1987. - С. 9 - 19.
6. Бекер М. Е. Обезвоживание микробной биомассы и экстрацеллюлярных метаболитов. - Рига: Зинатне, 1967. - С. 74 - 77.
7. Беккер М. Е., Дамберг Б. Э., Рапопорт А. И. Анабиоз микроорганизмов. - Рига: Зинатне, 1981. - 252 с.
8. Бекер М. Е., Райтулис Е. П. Живая клетка и ее жизнедеятельность // Биотехнология. - М.: ВО «Агропромиздат», 1990. - С. 7 - 41.
9. Бергельсон Л. Д. Биологические мембраны. - М.: Наука, 1975. - 182 с.
10. Бернал Дж. Возникновение жизни. - М.: Мир, 1969. - 356 с.
11. Бирюзова В. И., Рапопорт А. И. Криофрактографическое исследование структуры дрожжевых клеток, находящихся в анабиотическом состоянии // Микробиология. - 1978. - XLVII, вып. 2. - С. 300 - 306.
12. Вентья Э. Ю., Саулите Л. А., Рапопорт А. И., Беккер М. Е. Электронно-микроскопическое изучение дрожжей, находящихся в состоянии анабиоза и реактивирующихся из этого состояния // Микробиология. 1984. - 53, вып. 4. - С. 658 - 664.
13. Генкель П. А., Левина В. В. Защитные реакции некоторых водорослей на действие неблагоприятных условий окружающей среды // Журнал общей биологии. 1975. - XXXVI, вып. 1. - С. 82 - 89.
14. Голдовский А. М. Основы учения о состоянии организмов. - Л.: Наука, 1977. - С. 10 - 70.
15. Голдовский А. М. Анабиоз. - Л.: Наука, 1981. - С. 18 - 50.
16. Дуда В. И. Анабиоз бактериальных спор // Эксперим. Анабиоз: Тез. док. II Всесоюз. конф. по анабиозу. - Рига, 1984. - С. 14 - 15.
17. Зикманис П. Б., Лайвеникс М. Г., Аузиня Л. П., Кулаев И. С., Беккер М. Е. Взаимозависимость содержания высокомолекулярных полифосфатов, трегалозы и жизнеспособности популяций при обезвоживании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Микробиология - 1985 - 54, вып. 3. - С. 406 - 409.

18. *Калакуцкий Л. В., Сидякина Т. М.* Сохранение жизнеспособности микроорганизмами в природе и основные подходы к консервации лабораторных культур // Торможение жизнедеятельности клеток / Под ред. М. Е. Бекера – Рига: Зинатне, 1987. - С. 19 – 31.
19. *Корогодин В. И.* Проблемы пострадиационного восстановления. - М.: Атомиздат, 1966. – 390с.
20. *Кузьмина Р. И.* Исследование анабиоза у водорослей // Альгология. – 1992. – 3, вып. 4. – С. 15 – 21.
21. *Лозина-Лозинский Л. К.* Анабиоз как явление жизни. // Анабиоз и преданабиоз микроорганизмов. - Рига, Зинатне, 1973. - С. 5 - 11.
22. *Лозина-Лозинский Л. К.* Действие охлаждения на клетки и организмы как мультифакторный процесс // Цитология. – 1982. – 24, вып. 4. – С. 371 – 390.
23. *Островский Д. Н.* Молекулярная организация биологических мембран. // Биомембраны. Структура, функции, методы исследования. - Рига, Зинатне, 1977, С. 7 – 27.
24. *Рапопорт А. И.* Анабиоз и восстановление жизнедеятельности дрожжевых организмов (ультраструктура и цитобиохимические исследования): автореферат дис. на соиск. учён. степ. канд. биол. наук. – Рига: АН ЛССР отд. Хим. и биол. Наук, 1974. - 31 с.
25. *Рапопорт А. И., Бекер М. Е.* О разрушении рибонуклеиновых кислот в дрожжевых клетках при их обезвоживании. // Микробиология – 1986. - 55. – вып. 5. – С. 855 – 857.
26. *Рапопорт А. И., Берестенникова Н. Д., Яновский К. А., Беккер М. Е.* Об изменениях формы и размеров дрожжевых клеток при их обезвоживании и последующей реактивации // Микробиология – 1986 - 5, вып. 5. - С. 881 – 882.
27. *Рапопорт А. И., Бирозова В. И., Беккер М. Е.* Влияние процесса обезвоживания на структуру поверхности клеточной стенки дрожжей // Микробиология – 1983 - 52, вып. 2. - С. 259 – 262.
28. *Рапопорт А. И., Вентыня Э. Ю.* Структурно-функциональные перестройки в клетках при обезвоживании - регидратации // Торможение жизнедеятельности клеток. - Рига: Знатнее, 1987, С. 85 – 119.
29. *Рапопорт А. И., Марковский А. Б., Беккер М. Е.* О повышении проницаемости внутриклеточных мембран при обезвоживании – регидратации дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Микробиология – 1982 - 51, вып. 6. - С. 901 – 904.
30. *Сухоруков Б. И., Козлова Л. А., Маевский Л. А.* Оптические свойства и молекулярное строение нуклеиновых кислот и их компонентов. // Биофизика, 1974. - 19, вып. 4. - С. 595 – 599.
31. *Тимошин А. А., Рапопорт А. И., Беккер М. Е.* Влияние высушивания на термоиндуцированные структурные перестройки цитоплазматической мембраны клеток дрожжей // Микробиология – 1989 - 58, вып. 4 - С. 679 – 680.
32. *Ушатинская Р. С.* Скрытая жизнь и анабиоз. - М.: Наука, 1990. - 181 с.
33. *Шмидт П. Ю.* Анабиоз. - М. – Л., Изд-во АН СССР, 1955. - 436 с.
34. *de-Araujo PS.* The role of trehalose in cell stress // Braz J Med Biol Res., - 1996, Jul, 29 (7), P, 873 - 875.
35. *Bar, E.; Rise, M.; Vishkautsan, M.; Arad, S. M.* Pigment and structural changes in *Chlorella zofingiensis* upon light and nitrogen stress // J.-Plant-Physiol. - 1995 - 146, N. 4, P. - 527-534.
36. *Beker M. J., Blumberg J. E., Ventina E. J., Rapoport A. J.* Characteristics of cellular membranes of rehydration of dehydrated yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1984. – 19. – P. 347 – 352.
37. *Beker M. J., Rapoport A. J., Zikmanis P. B., Damberga B., E.* Degidration as a yeast metabolism regulating factor // Environmental regulation of microbial metabolism / Ed. By I. S. Kulaev et al. – London etc.: Acad. Press. - 1985. – P. 105 – 111.
38. *Bhatt B. D., Rohde R. A.* The influence of environmental factors on the respiration of plant-parasitic nematodes. // J. Nematol., - 1970. - 2, N. 3, - P.277 – 285.
39. *Bradbury E. M., Price W. C., Wilrinson G. R.* Infrared studies of molecular configurations of DNA. // J. Mol. Biol., - 1961. - 3, N. 3, - P. 457 – 476.
40. *Carpenter J. F., Crowe J. H.* An infrared spectroscopic study of the interactions of carbohydrate with dried proteins // Biochemistry – 1989. – 28. - P. 3916-3922.
41. *Clegg G. S.* Metabolic studies of cryptobiosis in encysted embryos of *Artemia salina*. – Compar. Biochem. Physiol. – 1967. - 20, N. 3. - P. 801 – 809.
42. *Cooper A. F., Van Gundy S. D.* Senescence, quiescence and cryptobiosis. – In: Plant parasitic Nematodes (New York – London). – 1971. – 2. - P. 297 – 318.
43. *Crowe J. H., Carpenter JF, Crowe LM.* The role of vitrification in anhydrobiosis // Annu Rev Physiol., - 1998. – 60. - P. 73 - 103.

44. Crowe J. H., Cooper A. F. Cryptobiosis. – Sci. Amer. – 1971. - **225**, N. 6. - P. 30 – 36.
45. Crowe L. M., Crowe J. H. Anhydrobiosis: a strategy for survival // Adv Space Res. – 1992. – **12**, N. 4. - P. 239 – 247.
46. Crowe J. H., Crowe L. M., Hoekstra F. A. Phase transitions and permeability changes in dry membranes during rehydration // J Bioenerg Biomembr. – 1989. – Feb. **21**, 1. - P. 77 - 91.
47. Crowe J. H., Crowe L. M. Membrane integrity in anhydrobiotic organisms: towards a mechanism for stabilizing dry cells. - In: Water and Life, (Eds. G. N. Somero, C. B. Osmond, C. L. Bolis). Springer, Berlin. - 1992a. - P. 87-103.
48. Crowe L. M., Crowe J. H. Stabilization of dry liposomes by carbohydrates // Dev Biol Stand. – 1992. – **74**. - P. 285 – 294.
49. Crowe J. H., Hoekstra F. A., Crowe L. M. Anhydrobiosis // Annu Rev Physiol. – 1992. – **54**. - P.579 - 599.
50. Crowe J. H., Spargo B. J., Crowe L. M. Preservation of dry liposomes does not require retention of residual water // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1987. – **84**. - P. 157-1540.
51. Culic-Krzywicki T. Structural studies of the associations between biological membrane components. – Biochim. biophys. acta, 1975. – **415**, N. 1. - P. 1 – 28.
52. Garcia De Castro A, Bredholt H, Strom A. R, Tunnaclyffe A. Anhydrobiotic engineering of gram-negative bacteria // Appl Environ Microbiol. – 2000. - Sep, **66**, N. 9. - P. 4142 - 4144.
53. Gordon D. E., Curnutte B., Lark K. G. Water structure and denaturation of DNA. – J. Molec. Biol., - 1965. – **13**, N 2. - P.571 – 585.
54. Gundy S. D. van. Factors in survival of nematodes. – Ann. Rev. Phytopathol. – 1965. – N. 3. - P. 43 – 68.
55. Heida K., Ito T. Induction of genetic changes in yeast by drying. – Bull. Inst. Int. froid, - 1973. – N. 5. - P.71 – 78.
56. Hinton H. E. Cryptobiosis in the larva of *Polypedilum vanderplanki* Hint. (Chironomidae) – J. Insect Physiol. – 1960. - **5**, N. 3 – 4. - P. 286 – 300.
57. Hoekstra F. A., Golovina EA, Buitink J. Mechanisms of plant desiccation tolerance // Trends Plant Sci. - 2001. - **6**, N. 9. - P. 431 - 438.
58. James S. Clegg. Cryptobiosis — a peculiar state of biological organization // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology – 2001. - **128**, N. 4. - P. 613 - 624.
59. Jonsson K. I., Rebecchi L. Experimentally induced anhydrobiosis in the tardigrade *Richtersius coronifer*: phenotypic factors affecting survival // J Exp Zool. – 2002. - Nov.1; **293**, N. 6. - P. 578 - 584.
60. Keilin D. The problem of anabiosis or latent life: History and current concept. The Leeuwenhoek lecture. – Proc. Roy. Soc. London. – 1959. - **150**, N. 939. - P. 149 – 191.
61. Krallish I. L., Danberga B. E., Beker M. J. The effect of yeast dehydration on the activity of a number of enzymes of cell energetic metabolism // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1986. – **23**. – P. 482 – 486.
62. Leder I. G. Interrelated effects of cold shock and osmotic pressure on the permeability of the *Escherichia coli* membrane to permease accumulated substrates // J. Bacteriol. – 1972. - **111**, N. 1. - P. 211 – 219.
63. Lees A. D. Insect diapause in relation to the environment. – In: Cryptobiotic stages in biological systems. Ed. By N. Grossowicz, S. Hestrin, A. Reynan. New York, Elsevier. – 1961. - P. 120 – 131.
64. Liu X. H, Mazur P. Effects of sugars on the kinetics of drying and on the survival of partially dehydrated larvae of *Anopheles* mosquitoes // J Insect Physiol. – 2003. - Jul, **49**, N. 7. - P. 685 - 695.
65. Ohnishi T., Tanaka Y., Von M., Takada V., Miwatana T. Deoxyribonucleic acid strand breaks during freeze-drying and their repair in *Escherichia coli*. // J. Bacteriol. – 1977. - **130**, N. 3. - P. 1393 – 1396.
66. Olie J. J., Potts M. Purification and biochemical analysis of the cytoplasmic membrane from the desiccation-tolerant cyanobacterium *Nostoc commune* UTEX 584 // Appl. Environ. Microbiol. – 1986. – **52**. - P. 706-710.
67. Oliver A. E., Crowe L. M., Crowe J. H. Methods for dehydration-tolerance: depression of the phase transition temperature in dry membranes and carbohydrate vitrification // Seed Sci. Res. – 1998. – **8**. - P. 211-221.
68. Parkkinen E., Oura E., Suomalainen H. Effect of storage on the nucleic acid composition of baker's yeast. // J. Inst. Brew. – 1974. - **80**, N. 3. - P. 271 – 277.
69. Perelman, A.; Matsukawa, Ritsuko et al. Natural antioxidant activity in some microalgal species // Israel-Journal-of-Plant-Sciences [Isr-J-Plant-Sci] – 1998. - **46**, N. 2. - P. 169-176.
70. Potts M. Desiccation tolerance of prokaryotes // Microbiol Rev. – 1994. - **58**, N. 4. - P. 755-805.

71. *Rapoport A. I., Khroustalyova G. M., Kuklina E. N.* Anhydrobiosis in yeast: activation effect // *Braz J Med Biol Res.* – 1997. - **30**, N. 1. - P. 9 – 13.
72. *Rapoport A. I., Khrustaleva G. M., Chamanis G.Ia, Beker M. E.* Yeast anhydrobiosis: permeability of the cytoplasmic membrane // *Mikrobiologia.* – 1995. – **64**, N. 2. - P. 275-278.
73. *Ritter D., Yopp J. H.* Plasma membrane lipid composition of the halophilic cyanobacterium *Aphanothece halophytica* // *Arch. Microbiol.* – 1993. – 159. - P. 435-439.
74. *Russell N. J., Fukunga N.* A comparison of thermal adaptation of membrane lipids in psychrophilic and thermophilic bacteria. *FEMS // Microbiol. Rev.* – 1990. – 75. - P. 171-182.
75. *Sun W. Q., Davidson P., Chan H. S.* Protein stability in the amorphous carbohydrate matrix: relevance to anhydrobiosis // *Biochim Biophys Acta.* – 1998. - Sep 16, **1425**, N. 1. - P. 245 - 254.
76. *Suresh C. Singh, Rajeshwar P. Sinha and Donat P. Hader.* Role of Lipids and Fatty Acids in Stress Tolerance in Cyanobacteria // *Acta Protozool.* – 2002. – 41. - P. 297 – 308.
77. *Sussman A. S., Halvorson H. O.* Spores: their dormancy and germination. New York – London, Harper and Row. – 1966. - 354 p.
78. *Tunnacliffe A, Garcia de Castro A, Manzanera M.* Anhydrobiotic engineering of bacterial and mammalian cells: is intracellular trehalose sufficient? // *Cryobiology.* – 2001. - Sep, **43**. N. 2. - P. 124 – 232.
79. *Tunnacliffe A, Lapinski J.* Resurrecting Van Leeuwenhoek's rotifers: a reappraisal of the role of disaccharides in anhydrobiosis // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* – 2003. - Oct 29. - **358**. N. 1438. - P. 1755 - 1771.
80. *Vekli Z., Salisbury N. J., Chapman D.* Physical studies of phospholipids. XII. Nuclear magnetic resonance studies of molecular motion in some pure lecithin-water systems/ -*Biochim. Biophys. Acta.* – 1969. - **183**, N. 3. - P. 434 – 446.
81. *Wolkers W. F., Tablin F., Crowe J. H.* From anhydrobiosis to freeze-drying of eukaryotic cells // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* – 2002. – Mar. – **131**, N. 3. - P. 535 – 543.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 11.11.2005

I. A. KHARCHUK

**ANABIOSIS, LAWS AND ACCOMPANYING ITS PROCESSES
(REVIEW OF LITERATURE)**

Summary

The brief review of terminology and the literary data on processes occurring in a cell at transition in a condition anhydrobiosis and reactivations, i.e. an output from it is resulted. The basic laws of anabiosis have been considered. Calculation of a population number after damages restoration is resulted at a dehydration.